

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ВОЛГОГРАДСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*На правах рукописи*

**Перфильев Максим Алексеевич**

**Искусственные нейронные сети в поиске веществ с анксиолитической  
активностью**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

1.5.8. Математическая биология, биоинформатика

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научный руководитель**  
**Васильев Павел Михайлович**  
доктор биологических наук, старший  
научный сотрудник ВАК (доцент)

**Научный руководитель**  
**Мальцев Дмитрий Васильевич**  
доктор биологических наук

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	16
1.1 Средства, влияющие на центральную нервную систему. Анксиолитики как одна из важных групп психотропных средств .....	16
1.1.1 Тревога и стресс .....	18
1.1.2 Сигнальные пути формирования анксиолитической активности .....	18
1.1.3 Биомишени, релевантные анксиолитической активности: локализация, структура, функции, терапевтический потенциал .....	24
1.2 Фармакологические свойства химических классов с анксиолитическим потенциалом.....	26
1.3 <i>In silico</i> методы поиска соединений с психотропной активностью .....	30
1.4 Основные подходы, используемые при создании искусственных нейронных сетей для прогноза психотропной активности .....	36
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b> .....	51
2.1 Дизайн исследования .....	51
2.2 Материалы исследования .....	54
2.2.1 Химические соединения .....	54
2.2.2 Биомишени, релевантные анксиолитической активности .....	65
2.2.3 Компьютерные программы .....	65
2.2.4 Экспериментальные животные .....	69
2.3 Методы исследования.....	70
2.3.1 Формирование баз данных известных соединений с анксиолитической активностью .....	70
2.3.2 Построение и оптимизация 3D-моделей лигандов .....	75
2.3.3 Выявление биомишеней, релевантных анксиолитической активности .....	79
2.3.4 Поиск и валидация 3D-моделей биомишеней, релевантных анксиолитической активности .....	81
2.3.5 Ансамблевый и множественный докинг .....	84

2.3.6	Дескрипторное описание изучаемых химических соединений .....	90
2.3.7	Обучение нейросетей различной архитектуры и тестирование их точности	92
2.3.8	Прогноз анксиолитической активности новых соединений, выявление перспективных структур.....	100
2.3.9	Экспериментальное тестирование перспективных по прогнозу соединений .....	103
2.3.10	Анализ <i>in silico</i> фармакологического механизма действия .....	106
2.3.11	Оценка <i>in silico</i> основных показателей ADMET соединения-лидера.....	107
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....		108
3.1	База данных известных соединений с анксиолитической активностью .....	108
3.2	Оптимизация 3D-моделей известных соединений с анксиолитической активностью и новых синтезированных соединений.....	110
3.3	Биомишени, релевантные анксиолитической активности, поиск и валидация их 3D-моделей.....	112
3.4	Простой и множественный ансамблевый докинг известных и новых соединений.....	125
3.5	Расчет энергий молекулярных орбиталей и фрагментных дескрипторов известных и новых соединений .....	127
3.6	Обучающие, тестовые и прогнозные выборки.....	129
3.7	Обучение искусственных нейронных сетей и оценка их точности .....	136
3.8	Виртуальный скрининг новых соединений на анксиолитическую активность .....	140
3.9	Экспериментальное тестирование соединений, перспективных по результатам виртуального скрининга .....	145
3.10	Анксиолитическая активность новых синтезированных соединений и поиск соединения-лидера .....	153
3.11	Анализ <i>in silico</i> фармакологического механизма действия соединения-лидера .....	159
3.12	Оценка <i>in silico</i> ADMET-характеристик соединения-лидера.....	163
<b>ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ</b> .....		166

<b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	179
<b>ВЫВОДЫ</b> .....	180
<b>ПОДДЕРЖКА РАБОТЫ</b> .....	182
<b>БЛАГОДАРНОСТИ</b> .....	183
<b>ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ СОКРАЩЕНИЯ И УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ</b>	185
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	187

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования**

Психические расстройства являются серьезной проблемой здравоохранения. Они характеризуются нарушениями когнитивных функций, эмоциональной регуляции и поведения [Salles, 2016]. Исследования показывают, что в 2019 году около 970 миллионов человек по всему миру страдали ментальными расстройствами [Lautman, 2022]. В 2020 году, на фоне пандемии COVID-19, число людей, страдающих тревожными и депрессивными расстройствами, значительно возросло [Santabárbara, 2021].

Психические заболевания стали серьезной проблемой в мире, приводя к годовым затратам свыше 1,6 трлн. долларов США. Косвенные издержки могут оцениваться в 5 трлн. долларов за 2019 год [Arias, 2022]. При этом по данным ВОЗ (по состоянию на 14 мая 2022 г.) каждый третий больной психической патологией страдает именно от тревожного расстройства [World Health Organization, 2022].

Тревожные расстройства, такие как генерализованное, паническое и социальное тревожное расстройство, представляют серьезную проблему для общества. Эти расстройства характеризуются сильным чувством страха и беспокойства, вызывающим значительный стресс и функциональные нарушения [Salles, 2016]. Тревожные расстройства часто не получают должного внимания и лечения, что приводит к серьезным последствиям для здоровья и качества жизни пациентов [Lautman, 2022].

Особенно важно обратить внимание на психические заболевания в странах, затронутых вооруженными конфликтами, где распространенность посттравматического стрессового расстройства (ПТСР) особенно высока [Charlson, 2019]. Несмотря на то, что ПТСР не входит в категорию тревожных расстройств, лица с этим состоянием испытывают повторные вспышки

травмирующих событий, что приводит к значительному стрессу, коморбидной тревоге и серьезным функциональным нарушениям [Park, 2017].

По данным Федеральной службы государственной статистики [Окладников, 2023], за последние пять лет в России зарегистрировано более 300 тысяч пациентов с диагностированным психическим расстройством. Всего число лиц, находящихся под диспансерным наблюдением и получающих консультативно-лечебную помощь, превышает 3,5 миллиона человек. Из них свыше миллиона человек страдает тревожными расстройствами.

Внедрение современных методов машинного обучения (Machine Learning – ML), включая технологии искусственных нейронных сетей (ИНС), позволяет улучшить эффективность процесса поиска анксиолитических препаратов, что является актуальной задачей и перспективным направлением для здравоохранения в России.

Традиционные методы создания противотревожных препаратов требуют значительных временных и финансовых затрат, а также не всегда обеспечивают желаемый терапевтический эффект у всех пациентов [Berdigaliyev, 2020]. В этом контексте методы ML представляют собой мощный инструмент для ускорения и оптимизации процесса поиска новых противотревожных средств [Ju, 2020; Salem, 2023]. С помощью ИНС исследователи способны анализировать большие объемы данных и выявлять сложные скрытые паттерны, которые могут быть связаны с биологической активностью соединений. Это позволяет более быстро и эффективно идентифицировать перспективные соединения-кандидаты для создания новых лекарственных препаратов, сокращая время и затраты на их разработку.

В Волгоградском государственном медицинском университете активно ведутся работы по разработке различных нейросетевых моделей по прогнозу фармакологической активности в зависимости от структуры химических соединений [Васильев, 2021 А; Maltsev, 2022]. Настоящее исследование фокусируется на создании новой методологии поиска фармакологически перспективных химических соединений с психотропными видами активности.

Работа посвящена созданию нейросетевой модели анксиолитической активности соединений на основе различных способов описания химической структуры.

### **Степень разработанности**

Подходы *in silico* широко применяются для поиска фармакологически активных соединений [Zhavoronkov, 2020; Vatansever, 2021]. Среди компьютерных подходов наибольшее распространение получили методы виртуального скрининга с помощью молекулярного моделирования, такие как, докинг или молекулярная динамика [Abdolmaleki, 2017; Castro, 2022; Dorahy, 2023]. Однако эти методы являются недостаточно точными в связи с тем, что структуры химических соединений при моделировании описываются упрощенно [Chen, 2015 A; Chuang, 2020]. Внедрение современных методов ML, в частности, различных технологий ИНС, позволяет использовать сколь угодно разнообразные дескрипторы химической структуры и значительно нивелировать недостатки отдельных компьютерных методов, таких как молекулярный докинг [Chuang, 2020; Gupta, 2021; Sahu, 2022]. С помощью полученных нейросетевых моделей можно быстро и достаточно точно найти соединения-лидеры из числа новых химических структур. При этом, если исходная обучающая выборка сложна и вариативна по разнообразию химических классов соединений, то и готовая модель будет универсальна и на ее основе возможно прогнозировать наличие активности среди структурно разнообразных химических рядов. Мировым научным сообществом ведутся работы по использованию технологии ИНС для поиска соединений с активностью в отношении центральной нервной системы (ЦНС) [Vatansever, 2021; Willems, 2023]. Однако в доступных литературных источниках, посвященных поиску веществ с анксиолитической активностью, данных об использовании для этого ИНС найти не удалось.

Таким образом, существует необходимость разработки новых подходов на основе искусственного интеллекта (ИИ) для прогноза психотропных видов фармакологической, в том числе анксиолитической, активности химических соединений разнообразной структуры.

**Цель исследования:** Разработка *in silico* методологии поиска химических соединений с анксиолитической активностью, основанной на сочетании технологии искусственных нейронных сетей различной архитектуры и мультитаргетного подхода на основе простого и множественного докинга, виртуальный скрининг с помощью построенных моделей анксиолитической активности новых химических соединений различной структуры, экспериментальное тестирование перспективных по прогнозу соединений.

Достижение данной цели обеспечивается решением следующих **научных задач**.

1. Сформировать верифицированную базу данных по химической структуре и уровню анксиолитической активности известных соединений.

2. Построить методами молекулярной механики и квантовой химии оптимизированные 3D-модели известных соединений с анксиолитической активностью и новых синтезированных соединений.

3. Определить релевантные анксиолитической активности биомишени, выполнить валидацию их 3D-моделей.

4. Выполнить простой и множественный ансамблевый молекулярный докинг известных и новых химических соединений в релевантные белки-мишени.

5. Провести дополнительное описание изучаемых химических соединений: рассчитать значения энергий граничных молекулярных орбиталей и сформировать описание из фрагментных дескрипторов известных и новых соединений.

6. Сформировать обучающие, тестовые и прогнозные выборки на основе матриц аффинности молекулярного докинга, а также дополнительных дескрипторов изучаемых химических структур.

7. Выполнить обучение нескольких ансамблей искусственных нейронных сетей различной архитектуры.

8. Провести тестирование и оценить прогностическую точность нейросетевых моделей.

9. Выполнить виртуальный скрининг новых структур перспективных химических рядов.

10. Провести экспериментальное *in vivo* тестирование веществ, отобранных по результатам *in silico* прогноза, с выявлением соединения-лидера.

11. Провести анализ *in silico* фармакологического механизма действия соединения-лидера.

12. Определить ADMET-характеристики соединения-лидера методами *in silico*.

### **Научная новизна исследования**

Настоящая работа посвящена созданию универсальной методологии поиска анксиолитических соединений различных классов с использованием технологии ИНС.

Впервые сформирована верифицированная база данных (БД) по химической структуре и уровню анксиолитической активности известных экспериментально изученных соединений. Впервые построены универсальные ансамблевые нейросетевые модели прогноза анксиолитической активности на основе различных подходов к описанию структур химических соединений. Выполнен консенсусный скрининг 107 новых синтезированных соединений 16 химических классов, включающих 26 рядов структурно-разнородных веществ. С помощью оригинальной системы Microcosm ADMET рассчитаны параметры LD<sub>50</sub> изучаемых соединений и, с применением специально построенной нейросетевой модели, установлена их проницаемость через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Результаты расчетов показали соответствие изучаемых соединений классам мало токсичных и безвредных веществ. В скрининговых базовых поведенческих тестах [Миронов, 2012] на самцах белых нелинейных мышей показано, что большинство соединений обладают психотропным потенциалом, при этом установлено, что перспективные вещества присутствуют во всех 12 рядах химических соединений, отобранных по результатам виртуального скрининга.

Определено одно соединение-лидер VM-418 – (S)-(5-(4-(2-(4-(2-карбокси-2-этоксиэтил)фенокси)этил)фенокси)пентил)амид дигидробетулоновой кислоты,

сопоставимое по уровню проявляемых эффектов в поведенческих тестах с препаратом сравнения диазепамом.

Впервые создана методология консенсусного прогноза анксиолитической активности химических соединений на основе технологии ИНС, мультитаргетного подхода и множественного докинга. С использованием обученных универсальных нейросетевых моделей показан анксиолитический потенциал соединения VM-418.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Впервые создана методология поиска химических соединений структурно-разнородных рядов с психотропной активностью на примере комплексного исследования по моделированию анксиолитической активности, включая: выбор релевантных биомишеней, валидацию их 3D-моделей; создание верифицированной базы данных известных по химической структуре и уровню анксиолитической активности соединений; разработку нескольких вариантов контекстно ориентированных архитектур нейронных сетей и их обучение. Впервые выполнен прогноз анксиолитической активности нескольких классов химических соединений с помощью технологии ИНС. Выполнены расчеты полулетальных доз соединений и их проницаемости через ГЭБ. Впервые, на основе подхода с использованием методов ИИ, было отобрано соединение-лидер VM-418 и, в ходе экспериментального изучения, доказано наличие у него анксиолитического потенциала.

### **Методология и методы исследования**

Методология исследования соответствовала цели и задачам научно-квалификационной работы и основывалась на технологической базе ФГБОУ ВО «Волгоградского государственного медицинского университета» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также научного центра инновационных лекарственных средств ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава РФ. Работа с информацией о структуре и активности химических соединений осуществлялась в программе ChemFinder. Ансамблевый мультитаргетный докинг проводился по оригинальной технологической схеме с помощью ПО

MarvinSketch, MOPAC, BestConf, PyRx, LigPlot+, MSites, PrepDock, AutoDock Vina, HyperChem. Нейросетевое моделирование выполнено с использованием компьютерной программы Statistica. Отобранные по виртуальному прогнозу соединения разных химических рядов тестировались *in vivo* в базовых поведенческих тестах «Темная/светлая камера» и «Открытое поле» на половозрелых нелинейных белых мышах-самцах (n=310, массой 20-30 г, ФГБУН НЦБМТ ФМБА России), а также было исследовано соединение-лидер на половозрелых нелинейных белых самцах крыс (n=18, массой 200-400 г, ФГБУН НЦБМТ ФМБА России) в тесте наказуемого поведения «Наказуемое взятие воды по Vogel». В качестве препарата сравнения использовался диазепам (раствор для внутривенного и внутримышечного введения в ампулах «Сибазон», 5 мг/мл, АО «Органика», Россия). При работе с животными были соблюдены требования Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1997), и Правила надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств от 3 ноября 2016 года N 81. Статистическая обработка и графическое представление данных проводились в компьютерных программах MS Excel, Statistica, GraphPad Prism с использованием критериев Манна-Уитни в парных сравнениях и Краскела-Уоллеса с постобработкой тестом Данна для анализа в группах по химическим рядам.

### **Личный вклад автора**

Соискатель Перфильев М.А. самостоятельно проводил исследования на всех этапах диссертационной работы. При работе над диссертацией Перфильевым М.А. изучено и проанализировано большое число литературных публикаций, посвящённых изучаемой проблеме. В составе коллектива соавторов соискатель впервые создал верифицированную базу данных соединений, известных по химической структуре и градированному уровню анксиолитической активности. Диссертант провел обучение около 300 тыс. ИНС и построил 15 высокоточных нейросетевых моделей для компьютерного прогноза анксиолитической активности соединений, в том числе, с использованием суперкомпьютерных

вычислений, провел виртуальный скрининг анксиолитической активности 107 новых химических соединений 16 химических классов, включающих 26 рядов структурно-разнородных веществ и самостоятельно провел экспериментальное тестирование *in vivo* 25 найденных *in silico* перспективных соединений, выявил вещество-лидер с высокой анксиолитической активностью.

Перфильев М.А. обобщил полученные данные и разработал концепцию новой методологии поиска анксиолитических соединений с помощью технологии ИНС на основе мультитаргетного подхода и различного дескрипторного описания структуры химических соединений.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Проведен ряд комплексных работ по *in silico* моделированию анксиолитической активности химических соединений. В соавторстве с другими учеными получено свидетельство о государственной регистрации базы данных «Соединения с анксиолитической активностью». Практическая значимость работы подтверждена в серии научных исследований, выполненных совместно с химиками из Южного федерального университета (Ростов-на-Дону), Волгоградского государственного медицинского университета, Волгоградского государственного технического университета, Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН.

Результаты представлены на 10 международных и всероссийских научных конференциях: XXII Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Сириус, 2024); XXX symposium "Bioinformatics and computer-aided drug discovery" (Moscow, 2024); 6-й Российской конференции по медицинской химии (Нижний Новгород, 2024); 82-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2024); XXIX symposium "Bioinformatics and computer-aided drug discovery" (Moscow, 2023); XXVIII Региональной конференции молодых ученых и исследователей Волгоградской области (Волгоград, 2023 г.); XXVIII symposium "Bioinformatics and computer-aided drug discovery" (Moscow, 2022); 80-й международной научно-практической

конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2022); VII Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 50-летию академической науки на Урале «Техническая химия. От теории к практике» (Пермь, 2022); 5-й Российской конференции по медицинской химии с международным участием (Волгоград, 2022).

Методы, применяемые в настоящей диссертационной работе, использовались при выполнении трех грантов и двух государственных заданий: грант РФФИ № 20-015-00164 «Создание с применением методов молекулярного моделирования и искусственных нейронных сетей системной мультитаргетной модели анксиолитической активности азотсодержащих гетероциклических соединений и поиск с ее использованием полифункциональных веществ с высокой анксиолитической активностью»; грант РФФИ № 18-015-00499 «Разработка системных полифункциональных мультитаргетных ингибиторов рецепторов конечных продуктов гликирования для лечения патий при сахарном диабете и болезни Альцгеймера»; грант Минобрнауки № 075-15-2020-777 «Медицинская химия в создании лекарств нового поколения для лечения социально-значимых заболеваний»; государственное задание Минздрава России № 121060700050-2 «Разработка методологии компьютерного поиска фармакологически активных соединений на основе множественного докинга и технологии искусственных нейронных сетей»; государственное задание Минздрава России № 23022400009-9 «Разработка методологии компьютерного поиска мультитаргетных фармакологически активных соединений на основе множественного докинга и технологии сверточных нейронных сетей различной архитектуры».

### **Внедрение результатов исследования**

Построенные модели прогноза анксиолитической активности, основанные на значениях энергии молекулярного докинга и дополнительном дескрипторном описании химических структур, используются для оптимизации поиска активных веществ в Новосибирском институте органической химии имени Н.Н. Ворожцова

СО РАН, Волгоградском государственном техническом университете, Южном федеральном университете (Ростов-на-Дону) и Волгоградском государственном медицинском университете. Разработанная методология *in silico* поиска новых соединений с анксиолитической активностью используется в лаборатории информационных технологий в фармакологии и компьютерного моделирования лекарств Научного центра инновационных лекарственных средств, а также на кафедре фармакологии и биоинформатики Волгоградского государственного медицинского университета. Результаты исследования были внедрены в учебные программы кафедры фармакологии и биоинформатики Волгоградского государственного медицинского университета.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Разработанная методология компьютерного моделирования анксиолитической активности химических соединений с помощью технологии искусственных нейронных сетей является перспективным способом поиска новых высокоэффективных соединений.

2. Полученные в рамках разработки методологии нейросетевые модели являются валидными инструментами для исследования зависимостей «структура–активность» в различных классах психотропных веществ и могут быть использованы в *in silico* скрининге анксиолитических веществ.

3. Соединение ВМ-418 (S)-(5-(4-(2-(4-(2-карбокси-2-этоксиэтил)фенокси)этил)фенокси)пентил)амид дигидробетулоновой кислоты демонстрирует высокую анксиолитическую активность, сопоставимую с препаратом сравнения диазепамом.

4. По результатам ADMET-анализа соединение-лидер ВМ-418 характеризуется отсутствием токсических эффектов и обладает фармакокинетическими параметрами, которые укладываются в диапазоны, характерные для используемых в клинике лекарственных препаратов.

### **Публикации**

По теме исследования опубликовано 29 работ, из них 12 в рекомендованных ВАК рецензируемых научных журналах, в том числе пять статей в журналах,

индексируемых в Web of Science и Scopus, из которых две в журналах первой четверти Q1.

Получено свидетельство о государственной регистрации базы данных «Соединения с анксиолитической активностью» №2022621744 от 15.07.2022.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 217 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 29 таблицами и 50 рисунками и содержит следующие разделы: введение; обзор литературы; материалы и методы исследования; результаты исследования; обсуждение результатов; заключение; выводы; поддержка работы; благодарности; использованные сокращения и условные обозначения; список литературы (включает 240 источников, из которых 206 – зарубежные); дополнительно электронное приложение на CD.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### **1.1 Средства, влияющие на центральную нервную систему. Анксиолитики как одна из важных групп психотропных средств**

Психофармакология – это междисциплинарная область наук, изучающая фармакодинамику и фармакокинетику психотропных препаратов, а также поиск и разработку потенциальных психотропных лекарственных препаратов [Жмуров, 2016]. Психофармакология является одной из актуальных ключевых областей научных фармакологических исследований, поскольку психические расстройства становятся все более распространенными и приводят к значительному ухудшению уровня общественного здоровья и благополучия.

Психические заболевания включают в себя широкий спектр состояний, которые обуславливают нежелательные изменения настроения, мышления и поведения. Эти расстройства могут возникнуть в результате сложного взаимодействия генетических, экологических, социальных и нейробиологических факторов. Среднегодовые затраты на одного пациента, страдающего психическим расстройством, колеблются от 1180 долларов США до 18313 долларов США, в зависимости от конкретного заболевания, что показано в систематическом обзоре [Christensen, 2020].

Тревожные расстройства являются одними из наиболее распространенных патологий психического здоровья, характеризующихся чрезмерным беспокойством, страхом и избегающим поведением, которые осложняют повседневную жизнь пациентов [Takagi, 2018].

Данные о почти 21% распространенности тревожных расстройств в европейской популяции [Wittchen, 2005] показывают актуальность изучаемой в настоящем исследовании медицинской проблемы по созданию систем прогноза фармакологической активности химических соединений, в частности, по компьютерному поиску анксиолитических препаратов. В более современных данных говорится о 7,3% глобальной распространенности тревожных расстройств

[Stein, 2017]. Однако авторы подчеркивают неопределенность указанных оценок, а также тот факт, что распространенность тех или иных видов тревожных расстройств сильно варьирует от страны к стране. В 2019 году более 970 миллионов человек во всем мире столкнулись с проблемами психического здоровья, среди которых тревога и депрессия стали основными, при этом до 70% пострадавших не получают адекватной психологической поддержки и не достигли полного выздоровления, в основном из-за ограниченной доступности медицинской помощи [Lautman, 2022]. Стоит заметить, что в период пандемии COVID-19 уровень тревожности людей по всему миру значительно вырос. Так, в исследовании [Santabárbara, 2021] показано увеличение распространенности заболеваемости тревожными расстройствами почти в три раза, с 7,3% до 25% в период пандемии. В России, по данным Росстата, насчитывается около 3,5 млн. человек, страдающих тревожными расстройствами [Окладников, 2023].

В соответствии с Международной классификацией болезней 10 пересмотра, под тревожными расстройствами понимают различные диагностические категории, включая генерализованное тревожное расстройство (ГТР), паническое расстройство, социальное тревожное расстройство (СТР) и специфические фобии [МКБ-10, 1990]. Тревожные расстройства представляют серьезную медицинскую проблему, затрагивающую миллионы людей по всему миру.

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, тревожные расстройства занимают одно из ведущих мест среди психических заболеваний по распространенности: каждый восьмой человек в мире страдает психическими заболеваниями, а в каждом третьем из этих случаев встречаются тревожные расстройства [World Health Organization, 2022]. Для многих пациентов всех возрастных групп и социальных категорий тревожные расстройства становятся причиной значительных страданий, ограничивающих их повседневную жизнь, социальную активность и профессиональные возможности [Jones, 2013; Olfson, 2014].

Особое внимание необходимо уделять пациентам с психическими заболеваниями в областях, где идут вооруженные конфликты, так как население

таких территорий подвергается существенно бóльшим по интенсивности стрессовым факторам. Данная проблема широко исследуется в нескольких проектах и, например, отражена в мета-анализе [Charlson, 2019], где говорится о 22,1% общей распространённости таких заболеваний, как депрессия, тревога, посттравматическое стрессовое расстройство, биполярное расстройство и шизофрения, среди населения территорий вооруженных конфликтов. Зачастую наблюдается коморбидность нескольких психических расстройств: в работе [Kessler, 2015] показано, что уровень коморбидности тревожных расстройств с другими психическими заболеваниями, в особенности с депрессивными расстройствами, составляет 41,6%. Стоит отметить, что ПТСР, которое зачастую возникает у пострадавших в условиях вооруженных конфликтов, отличают от тревоги. При этом в подавляющем числе случаев ПТСР коморбидно связано с тревогой [Park, 2017].

### **1.1.1 Тревога и стресс**

Одним из ключевых факторов, способствующих развитию и обострению тревожных расстройств, является стресс. Стресс, тревога и страх не представляют собой патологические реакции сами по себе, однако при поддержании этих состояний на протяжении длительного времени и без явного иницирующего фактора, приводят к патологии [Sylvers, 2011]. Пагубное влияние стрессовых факторов особенно велико на чувствительную область префронтальной коры, отвечающей за самую высшую когнитивную деятельность головного мозга [Arnsten, 2009]. Ключевым и решающим фактором во взаимосвязи стресса и тревоги является фактор ожидания опасности, который сопровождается соответствующей негативной эмоциональной реакцией [de Kloet, 2005; Koolhaas, 2011].

### **1.1.2 Сигнальные пути формирования анксиолитической активности**

Нейробиология тревожных расстройств состоит из знаний о сложных сигнальных путях и взаимодействиях между различными нейротрансмиттерами и рецепторами мозга, участвующими в регуляции эмоций и реакции на стресс [Stein, 2009; Chavanne, 2021]. Нарушения в системах нейромедиаторов, включая системы

серотонина, дофамина, норадреналина и  $\gamma$ -аминомасляной кислоты (ГАМК), играют важную роль в патофизиологии тревожных расстройств. Эти нейротрансмиттерные системы модулируют синаптическую передачу, возбудимость нейронов в областях мозга, участвующих в обработке эмоций, таких как миндалевидное тело, префронтальная кора и гиппокамп [Smith, 2006; Felix-Ortiz, 2013; Janak, 2015].

### **ГАМК-ергическая система**

Основной мишенью для множества современных анксиолитических препаратов служит ГАМК-ергическая система, представляющая собой главную тормозную нейромедиаторную систему в ЦНС, играющую ключевую роль в анксиолитическом действии [Atack, 2005]. Бензодиазепиновые анксиолитики изучаются с 50-х годов прошлого века. Первый препарат этого ряда, либриум (МНН – хлордiazепоксид), запатентован в 1958 году [Proctor, 1961]. Существует два основных вида ГАМК-рецепторов, А и В типа, иногда выделяется также третий тип С, представляющий собой подкласс ГАМК<sub>А</sub>-рецепторов [Sallard, 2021]. Традиционно основное внимание в исследованиях тревожных расстройств уделяется первому типу – ГАМК<sub>А</sub>-рецепторам [Olsen, 2009]. Однако в контексте ментальных расстройств проводятся также исследования ГАМК<sub>В</sub>-рецепторов [Pile, 2005], их роль и связь с тревожными расстройствами, острым и хроническим стрессом пока не ясна [Pizzo, 2018].

### **Серотонинергическая система**

Дисфункция серотонинергической системы связана со стрессовыми психическими расстройствами, ассоциирована с депрессией, тревожными расстройствами и ПТСР [Albert, 2013]. Изменения в нейротрансмиссии серотонина связаны с такими симптомами, как дисфория, раздражительность, эмоциональная нестабильность и снижение способности справляться со стрессом [Pourhamzeh, 2022].

Серотонин, ключевой нейромедиатор в регуляции настроения и тревоги, оказывает свое действие путем связывания со специфическими рецепторами, которые подразделяются на несколько подтипов (например, 5-НТ<sub>1</sub>, 5-НТ<sub>2</sub>, 5-НТ<sub>3</sub>)

[Pourhamzeh, 2022]. Эти рецепторы распределены в разных областях мозга и опосредуют различные физиологические реакции на серотонин. Имеется достаточно много публикаций, относящих 5-HT<sub>1A</sub> рецептор к числу наиболее важных мишеней в патогенезе тревоги [Raab, 2016; Abela, 2020; Ohmura, 2020].

Гетерорецепторы 5-HT<sub>1A</sub>, которые представляют собой рецепторы, связанные с G-белком (GPCR), при взаимодействии с эндогенным лигандом серотонином ингибируют активность аденилатциклазы, что приводит к снижению уровня цАМФ и последующим поведенческим эффектам, различающихся в зависимости от локализации нейронов. Активация 5-HT<sub>1A</sub>-рецепторов оказывает анксиолитическое действие путем модуляции активности нейронов в ядрах шва и в лимбической системе [Gross, 2002]. Первое соединение среди частичных агонистов 5-HT<sub>1A</sub> рецептора известно с 1983 года [Middlemiss, 1983; Schreiber, 1993]. Самым известным представителем этой группы является буспирон, частичный агонист 5-HT<sub>1A</sub>-рецепторов из класса азапиранов, который используется в клинической практике благодаря своим анксиолитическим свойствам [Yamashita, 2019]. Кокрейновский обзор показал, что буспирон более эффективен, чем плацебо, при ГТР, хотя величина его эффекта была меньше, чем у бензодиазепинов и антидепрессантов [Chessick, 2006].

При исследовании других 5-HT рецепторов установлено, что блокада 5-HT<sub>2R</sub>, 5-HT<sub>3R</sub> и 5-HT<sub>7R</sub> приводит к снижению уровня тревожноподобного состояния. Исследование таких веществ может являться потенциальным направлением в поиске препаратов для лечения тревожных расстройств [Griebel, 2013]. Связь других подтипов серотониновых рецепторов с тревожными расстройствами ещё не изучена полностью. Также важно учитывать характер экспрессии указанных выше рецепторов [Żmudzka, 2018].

Трициклические антидепрессанты, действующие как ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина, были одними из первых препаратов, применяемых для лечения тревожных расстройств [Bakker, 2002]. Однако ввиду выраженных побочных эффектов ранние поколения антидепрессантов постепенно были заменены более безопасными и эффективными препаратами нового

поколения [He, 2019]. FDA одобрило несколько селективных ингибиторов обратного захвата серотонина и норадреналина (СИОЗС, СИОЗСН) для лечения панического расстройства (ПР), ГТР и СТР. Следовательно, ауторецепторы серотонина остаются важными мишенями при лечении тревожных расстройств.

### **Дофаминергическая система**

Дофаминергическая система участвует в регуляции настроения, когнитивных функций и поведения [Zweifel, 2011]. Дофамин оказывает свое воздействие через пять подтипов рецепторов ( $D_1$ - $D_5$ ), которые подразделяются на  $D_1$ -подобные ( $D_1$  и  $D_5$ ) и  $D_2$ -подобные ( $D_2$ ,  $D_3$  и  $D_4$ ) рецепторы [Beaulieu, 2011; Xin, 2019]. Эти рецепторы распределены в различных областях мозга, связанных с тревогой, таких как префронтальная кора, миндалевидное тело и гиппокамп.

Считается, что с анксиолитическими эффектами связана в основном активация  $D_1$ -подобных рецепторов. Исследования показали, что нокдаун рецепторов  $D_1$  на дофаминовых нейронах в области вентральной покрышки значительно усиливает тревожное поведение на животных моделях [Tong, 2023].

В работе [DeGroot, 2020] установлено наличие двух типов нейронов в области вентрального межножкового ядра – А и В. Введение агонистов  $D_1$  рецепторов ведет к активации нейронов типа А и одновременно к снижению активности нейронов типа В, что в итоге выражается в снижении тревожного поведения.

$D_2$  рецепторы также участвуют в модуляции тревоги. Так, в исследовании [Ollmann, 2022] было обнаружено, что совместное действие отрицательных модуляторов рецепторов  $D_1$  и  $D_2$  способствует уменьшению тревожного поведения, при этом было установлено, что применение антагонистов как  $D_1$ , так и  $D_2$  рецепторов по отдельности, не приводило к значимому изменению в поведении.

## Глутаматергическая система

Глутамат является основным возбуждающим нейромедиатором в ЦНС и участвует в процессах синаптической пластичности, обучения и памяти [Zhou, 2014].

Глутамат оказывает свое действие через различные рецепторы, включая ионотропные (NMDA, AMPA и каинатные рецепторы) [Traynelis, 2010] и метаботропные глутаматные (Metabotropic glutamate receptor – mGluR) [Niswender, 2010]. Каждый подтип рецептора вносит специфический вклад в регуляцию тревоги.

NMDA-рецепторы широко задействованы в синаптической пластичности и когнитивных функциях. Их антагонисты, такие как кетамин, характеризуются быстрым антидепрессивным эффектом [Zarate, 2015]. Хотя сообщается, что в клинических испытаниях этот эффект не имеет достаточного подтверждения [Ng, 2021]. В контексте тревожных расстройств, имеются свидетельства об эффективности кетамина как противотревожного средства для СТР [Taylor, 2018].

Анксиолитическое действие химических соединений, в том числе, опосредуется усилением функции AMPA-рецепторов, приводящей к быстрой возбуждающей синаптической передаче. Однако, имеются предположения, что противотревожное и антидепрессивное действие обусловлено не активаторами AMPA-рецепторов, а косвенным повышением уровня нейротрофического фактора головного мозга (Brain Derived Neurotrophic Factor – BDNF) [Akinfiresoye, 2013]. В испытаниях на животных в работе [Mendez-David, 2017] положительный аллостерический модулятор AMPA-рецепторов S47445 показал достоверное снижение тревожно-подобного поведения. Также показано увеличение уровня BDNF, что может быть важным фактором анксиолитического эффекта.

Следует отметить работу [Fitzpatrick, 2016], в которой было обнаружено противоположное описанному ранее действие аллостерического модулятора AMPA-рецепторов соединения LY451646. При использовании вместе с СИОЗС циталопрамом это вещество значительно снижало анксиогенный эффект, но не проявляло такой активности при отдельном применении. Таким образом,

механизмы действия модуляторов АМРА-рецепторов нуждаются в дополнительных исследованиях.

Метаботропные глутаматные рецепторы (mGluR) представляют собой связанные с G-белком рецепторы, которые модулируют глутаматергическую нейротрансмиссию. Различные подтипы mGluR по-разному влияют на тревожность. Например, было обнаружено, что агонисты mGluR(2/3) [Dunayevich, 2008] и антагонисты mGluR<sub>5</sub> проявляют анксиолитический эффект за счет снижения активности глутамата в ключевых областях мозга, связанных с тревогой, таких как миндалевидное тело и префронтальная кора [Swanson, 2005].

Продолжающиеся исследования конкретных механизмов, с помощью которых глутаматергическая система влияет на тревогу, имеют важное значение для разработки и поиска препаратов для терапии тревожных расстройств.

### **Норадренергическая система**

Норадренергическая система в ЦНС включена в модуляцию возбуждения, реакций на стресс, внимания и памяти [Berridge, 2003]. Норадреналин и адреналин оказывают свое действие через адренергические рецепторы (АР), которые делятся на альфа ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ) и бета ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ ) подтипы.

В исследовании [Bektas, 2020] показано, что соединение перампанел уменьшало тревожное поведение на животных моделях и этот эффект исчезал при предварительном введении антагониста  $\alpha_2$ -АР.

С другой стороны, агонист  $\alpha_2$ -АР мафедин, в модели с использованием рыб *Danio rerio*, показал выраженный анксиогенный потенциал [Sysoev, 2019]. Также известен препарат миртазапин, который ингибирует центральные  $\alpha_2$ -АР и показывает выраженное анксиолитическое действие, благодаря чему довольно широко применяется не только по прямому назначению как антидепрессант, но и при ряде тревожных расстройств [Jilani, 2023].

Бета-адренергические рецепторы ( $\beta$ -АР) также участвуют в модуляции тревоги. Было показано, что блокада  $\beta$ -АР с помощью пропранолола оказывает анксиолитическое действие [Camp, 2015].

Анксиолитические эффекты норадренергической модуляции включают несколько основных механизмов. Это чрезмерно высокая активность нейронов области голубого пятна (Locus Coeruleus – LC) – основного норадренергического ядра головного мозга, которое играет решающую роль в возникновении тревоги и возбуждения. Снижение активности LC за счет стимуляции  $\alpha_2$ -АР или блокады  $\beta$ -АР может привести к снижению тревожности [McCall, 2015]. Известна роль гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси в реакциях на стресс, при этом схожие процессы активируют норадреналиновую систему в головном мозге [Valentino, 2008]. Нарушения в этих процессах создают дополнительный негативный фактор в патогенезе тревожных расстройств.

### **1.1.3 Биомишени, релевантные анксиолитической активности: локализация, структура, функции, терапевтический потенциал**

В формировании анксиолитической активности участвуют сложные сигнальные пути и взаимодействие многих нейромедиаторных систем. При моделировании анксиолитической активности важным аспектом становится выбор релевантных белков-мишеней. Определение биомишеней, имеющих отношение к конкретным фармакологическим эффектам, является одним из решающих по значению факторов в поиске лекарственных средств. Процесс выявления релевантных биомишеней включает экспериментальные и вычислительные методы для выяснения и уточнения молекулярных мишеней, таких как белки, которые опосредуют эффекты лекарственных средств. Предпочтительно выбирать белки-мишени на основе экспериментальных данных, но при работе с новыми структурами можно использовать вычислительные методы поиска.

#### **Анализ литературы и баз данных**

Базы данных являются важными ресурсами, аккумулирующими сведения из литературы, и эта информация используется для идентификации известных соединений с заданной фармакологической активностью и их молекулярных мишеней. К наиболее известным базам данных относятся: ChEMBL, которая предоставляет информацию о биоактивных малых молекулах [Zdravil, 2024];

DrugBank, объединяющий подробные данные о лекарственных препаратах с исчерпывающей информацией о лекарственных мишенях, на которые они действуют [Кнох, 2024]; а также PubChem, которая предлагает обширные данные о различных химических веществах и их биологической активности [Kim, 2023].

### **Экспериментальные и вычислительные методы**

К числу экспериментальных методов можно отнести анализ связывания радиолигандов. В этих исследованиях измеряют связывающую способность соединений, меченных радионуклидами, с определенными рецепторами, что позволяет понять механизм их действия [Hoyer, 1988; Schütz, 1991].

Полезными и наглядными являются модели нокаута и нокдауна генов. В этом случае используются животные с определенными нокаутированными генами для изучения изменений в соответствующем типе фармакологической активности. Модели *in vivo* помогают определить, какие гены имеют решающее значение для действия определенных препаратов [Daniloski, 2021].

Возможно также проводить идентификацию белков, взаимодействующих с конкретными малыми молекулами, например, с помощью тандемной масс-спектрометрии [Fedorov, 2022].

Производить поиск точек приложения лекарственных средств в биологических системах с внутренними сложными взаимодействиями позволяет комплексный подход сетевой фармакологии [Нюо, 2024]. В сочетании с подходом обратной фармакологии, позволяющим анализировать механизмы действия и состав сложных растительных экстрактов, сетевая фармакология дает возможность найти новые биомишени для лечения заболеваний, как показано в работе, направленной на выявление мишеней для лекарственных препаратов в лечении сосудистой деменции [Lagunin, 2020].

Хорошие результаты дает молекулярное моделирование, в частности, такие технологии как докинг, молекулярная динамика и их сочетание [Grauffel, 2015; Tolstova, 2022]. Детальное изложение принципов компьютерных методов будет приведено ниже.

## 1.2 Фармакологические свойства химических классов с анксиолитическим потенциалом

Основные и наиболее известные лекарственные препараты, используемые в терапии тревожных расстройств, относятся к химическому классу бензодиазепинов [Balon, 2020]. Структурная формула базового скаффолда, общего молекулярного фрагмента в заданном структурном ряду химических соединений бензодиазепинового класса, представлена на рисунке 1.1.

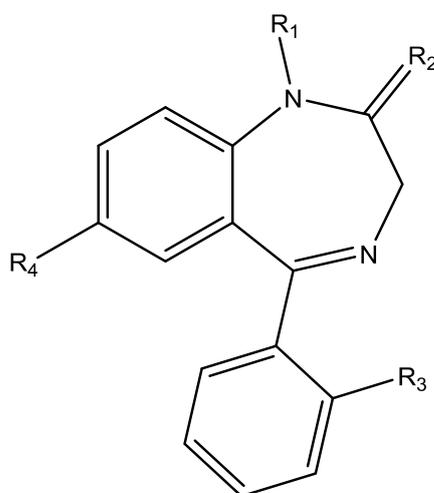


Рисунок 1.1 – Структурная формула базового скаффолда бензодиазепинового класса

Хотя бензодиазепины – это эффективные препараты для лечения ГТР, СТР, ПР, у них есть выраженные побочные эффекты [Hirschtritt, 2021]. Из-за тяжелых побочных эффектов, таких, как когнитивные нарушения, физическая и психическая зависимости при длительном приеме, важным является анализ клинических симптомов и определение точного диагноза у пациентов с тревожноподобной симптоматикой [Lembke, 2018]. Так, в случае неуточненного тревожного расстройства (НТР) экспертами рекомендуется отказаться от использования бензодиазепинов как препаратов первой линии [Sakurai, 2023]. Самым распространенным побочным эффектом от приема препаратов класса бензодиазепинов является седация. Наиболее выражен седативный и снотворный эффекты у таких лекарственных препаратов, как нитразепам и триазолам [Balon, 2020]. Несмотря на очевидные проблемы при использовании бензодиазепинов,

соединения этого класса клинически хорошо изучены, и они обладают понятным механизмом действия, что позволяет использовать их с высокой эффективностью, при условии индивидуального и аккуратного подбора доз [Dubovsky, 2022]. Лекарственные средства бензодиазепинового класса связываются с аллостерическим бензодиазепиновым сайтом на ГАМК<sub>A</sub>-рецепторе, благодаря чему усиливают действие ГАМК на рецептор и повышают частоту открывания канала ГАМК<sub>A</sub>-рецептора для ионов хлора, а также увеличивают длительность открытия канала и соответственно больший приток ионов внутрь клетки. Последнее явление вызывает деполяризацию клетки и подавление возбудимости нейрона.

Похожими свойствами с веществами класса бензодиазепинов обладают соединения класса хиназолинов. Известные препараты из класса хиназолинов действуют как бензодиазепины и также являются положительными аллостерическими модуляторами ГАМК<sub>A</sub>-рецептора [Hammer, 2015]. Формула хиназолинового скаффолда показана на рисунке 1.2.

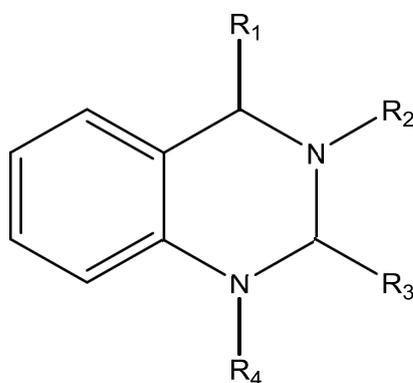


Рисунок 1.2 – Структурная формула базового скаффолда хиназолинового класса

Ранее производные хиназолина были популярным классом именно психотропных препаратов и использовались главным образом для лечения бессонницы и как противоэпилептические средства [Chaudhary, 2018]. Так, препараты меклоквалон и метаквалон использовались как седативные и анксиолитические средства [Soulairac, 1971]. Однако почти все эти препараты были сняты с продаж и больше не применяются из-за своих побочных эффектов. В настоящее время класс хиназолинов снова привлекает внимание ученых

благодаря своим противоопухолевым, противомикробным и другим эффектам [Ghoneim, 2024]. Класс хиначолинов активно изучается в ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, как показано в работах [Петров, 2014, А] и [Тюренков, 2015]. Ученые отмечают главным образом ноотропные, антидепрессантные и анксиолитические свойства новых производных хиначолина [Петров, 2014, Б].

Другим классом противотревожных препаратов являются азапирины, к которым принадлежит буспирон [Jann, 1988]. Структурная формула азапиринового скелета приведена на рисунке 1.3.

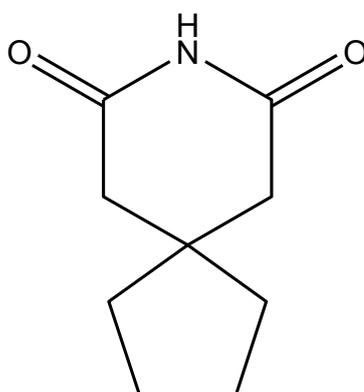


Рисунок 1.3 – Структурная формула базового скелета класса азапиринов

Буспирон используется при лечении ГТР, эффективен при терапии обсессивно-компульсивного расстройства (ОКР). Применяется для облегчения симптомов депрессии и социальных фобий [Loane, 2012]. Благодаря своему действию на пресинаптические 5-НТ<sub>1А</sub>-ауторецепторы, он лишен большинства побочных эффектов бензодиазепинов и хиначолинов [Howland, 2015]. Препарат не обладает противосудорожными и миорелаксирующими свойствами, а седация при его применении выражена минимально.

В НИОХ СО РАН и ИЦиГ СО РАН проводят исследования химических соединений из класса бензопентатиепинов [Толстикова, 2012]. Скеффолд класса приведен на рисунке 1.4.

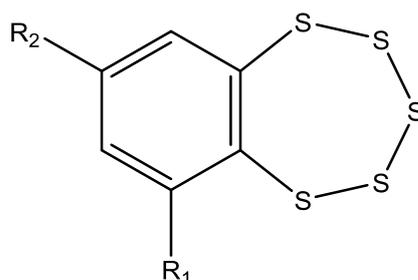


Рисунок 1.4 – Структурная формула базового скаффолда бензопентатиепинового класса

Показано, что производные пентатиепинов обладают противосудорожной и противотревожной активностью [Хоменко, 2007]. Более современные исследования посвящены изучению их антидепрессивных свойств. Так, в работе [Синякова, 2017] установлено, что исследуемое соединение, как и флуоксетин, анксиолитик из группы СИОЗС, достоверно увеличивает продолжительность пребывания рыб *Danio rerio* в верхней половине резервуара в тесте «новый резервуар». Полученный результат может свидетельствовать о вероятном потенциале производных пентатиепинов как соединений, обладающих анксиолитическим эффектом.

Достаточно широкое применение в медицинской химии показано у соединений класса адамантанов [Spasov, 2000]. Структурная формула скаффолда адамантана приведена на рисунке 1.5. Одним из самых известных препаратов этого класса является мемантин – блокатор действия глутамата на NMDA-рецептор (один из основных возбуждающих рецепторов ЦНС) и лекарственное средство для лечения болезни Альцгеймера [McShane, 2019].

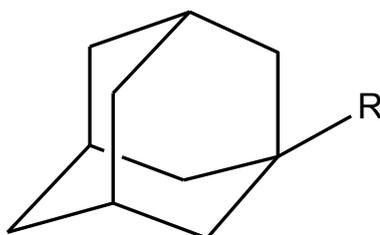


Рисунок 1.5 – Структурная формула базового скаффолда производных адамантана

Ряд научных публикаций показывают благоприятный эффект при использовании мемантина пациентами, страдающими ОКР [Haghighi, 2013] или

тревожными расстройствами [Schwartz, 2012]. Так, в работе [Schwartz, 2012] показано, что назначение мемантина дало клинически значимое снижение симптомов тревожности у пациентов при неэффективности других методов лечения. В то же время, вызывает интерес работа [Feusner, 2009], в которой изучались две группы пациентов с ОКР и ГТР на фоне приема мемантина. Результаты этого исследования подтверждают положительный эффект от приема мемантина у пациентов с ОКР, однако не показывают достоверного снижения тревоги при ГТР. Однако эти данные противоречат результатам более поздних современных исследований мемантина в качестве противотревожного соединения. Также в двойных слепых плацебо-контролируемых исследованиях показана неэффективность мемантина, или его эффект на уровне плацебо, при лечении депрессивных расстройств [Zarate, 2006; Smith, 2013]. Имеются работы, в которых изучались другие представители класса адамантанов. В работе [Халимов, 1997] показан эффект применения соединений бромантана и хлодантана в условиях иммобилизационного стресса при однократном и курсовом введении на протяжении 14 суток. Продемонстрировано, что при курсовом введении бромантана и хлодантана по отдельности уровень кортизола в сыворотке крови крыс снижался в среднем на 26,1%. Кроме того, в работе [Хамидова, 2005] приводятся данные о восстановлении массы тела и половых функций у стрессированных крыс при введении им бромантана. Несмотря на перспективы поиска психотропных лекарственных препаратов в классе адамантанов, стоит обращать внимание на широкий спектр эффектов веществ в данном классе: так, известны отдельные соединения с анксиогенным эффектом, примером чего является соединение амантадин [Spasov, 2000]. Обобщая все изложенное, производные адамантана можно считать весьма перспективными для поиска психотропных веществ, но требующими детального изучения их механизмов действия.

### **1.3 *In silico* методы поиска соединений с психотропной активностью**

*In silico* методы поиска соединений с психотропной активностью давно стали ценными инструментами в разработке соответствующих лекарственных

средств. Вычислительные подходы базируются на методах биоинформатики, хемоинформатики и молекулярного моделирования для доэкспериментальной оценки фармакологических свойств химических соединений, включая их потенциальные психотропные эффекты. В таблице 1.1 представлены данные по числу встречающихся публикаций в системе PubMed при соответствующем запросе с 1985 по 2024 год (рисунок 1.6). *In silico* методы широко распространены и встречаются примерно в 20% всех публикаций о создании или конструировании лекарств (по запросу «Drug design[Title/Abstract]» найдено 22 224 записей). Однако число публикаций, в которых компьютерными методами изучаются психотропные виды фармакологической активности, значительно меньше. Некоторые авторы приводят данные о 2,3% встречаемости работ, использующих методы *in silico* в изучении ЦНС, среди всех профильных публикаций, индексируемых в Scopus [Karabulut, 2023].

Таблица 1.1 – Основные запросы в системе PubMed для поиска публикаций, связанных с компьютерными методами

Запрос в PubMed	Число публикаций
((Computer-Aided Drug Design[Title/Abstract]) OR (in silico[Title/Abstract])) AND ((Drug development[Title/Abstract]) OR (Drug design[Title/Abstract]))	4725
((Computer-Aided Drug Design[Title/Abstract]) OR (in silico[Title/Abstract])) AND ((CNS[Title/Abstract]) OR (Psychotropic[Title/Abstract]) OR (Neurological[Title/Abstract]))	1220
((Computer-Aided Drug Design[Title/Abstract]) OR (in silico [Title/Abstract])) AND (Anxiety[Title/Abstract])	188

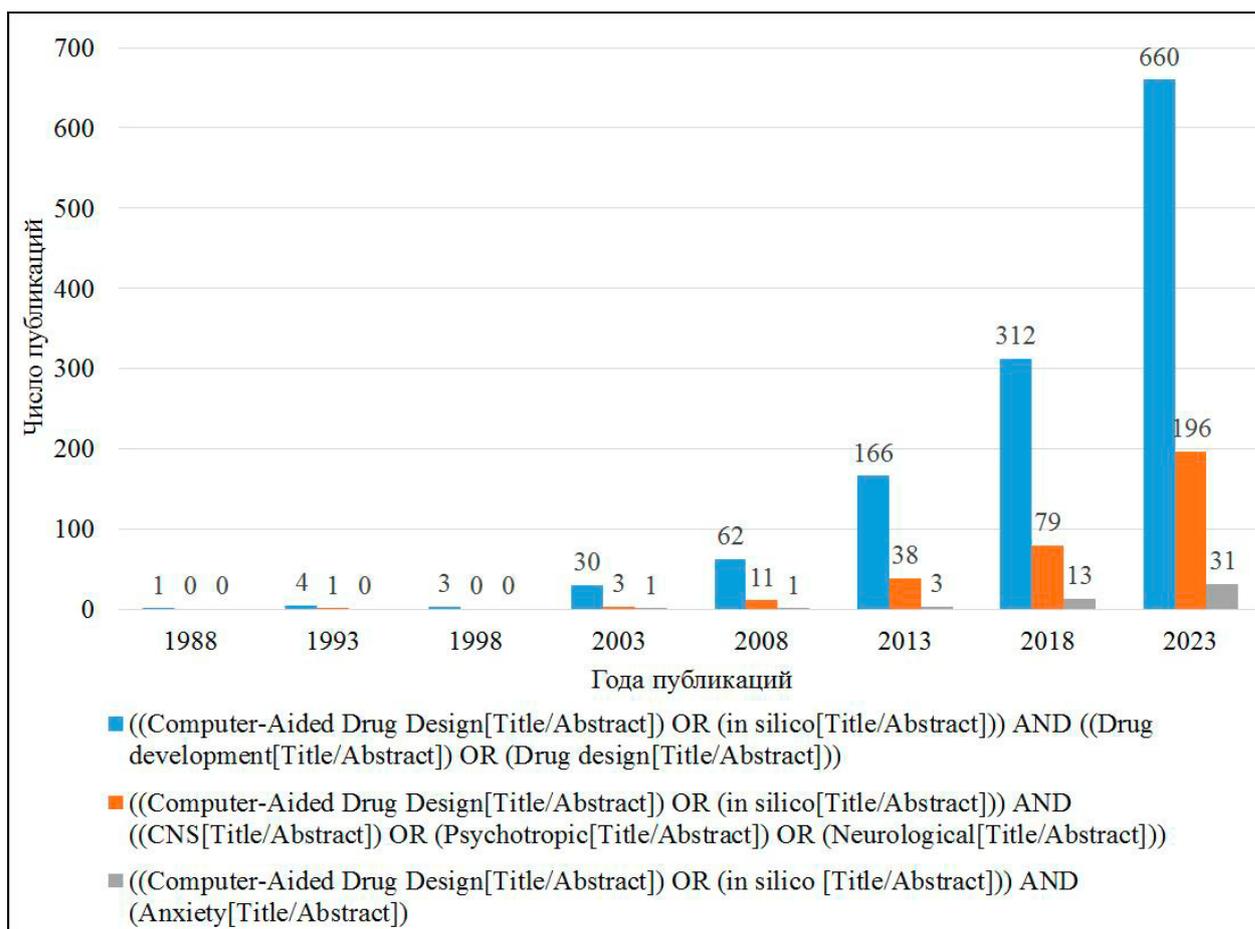


Рисунок 1.6 – Публикационная активность исследований в системе PubMed, связанных с компьютерными методами

Среди вычислительных методов стоит особенно выделить виртуальный скрининг известных химических соединений. Он включает анализ химических библиотек для идентификации соединений с желаемой фармакологической активностью. Виртуальный скрининг значительно ускоряет процесс поиска лекарственных средств и позволяет быстро находить перспективные соединения-кандидаты для дальнейшего тестирования. К другим компьютерным методам можно отнести технологии докинга и молекулярной динамики. Подходы можно разделить на две категории: основанные на структуре лиганда (Ligand Based Drug Design – LBDD) и основанные на структуре мишени (Structure Based Drug Design – SBDD); они будут подробно описаны ниже. Количественное моделирование связи структура-активность (Quantitative Structure-Activity Relationship – QSAR) является еще одним важным подходом *in silico* [Cherkasov, 2014]. Модели QSAR предсказывают биологическую активность химических

соединений на основе их структурных особенностей. Это дает возможность соотнести физико-химические свойства соединений с их фармакологическими эффектами, что позволяет исследователям идентифицировать соединения с наибольшей вероятностью проявления изучаемой активности, например, психотропной. Этот метод был проверен в ходе различных исследований, в которых для прогнозирования и классификации лекарственных средств используются структурные параметры – например, с использованием метода главных компонент [Коба, 2010]. Виртуальный скрининг может проводиться как на начальном этапе доклинических исследований, так и на более поздних стадиях для оценки дополнительных свойств уже известного лекарственного препарата. В современной фармакологии все чаще отходят от традиционного подхода по разработке «волшебной пули», или таргет-ориентированных препаратов, преимущественно действующих на одну мишень. Становятся повсеместными исследования и поиск полифункциональных и мультитаргетных лекарственных средств [Бачурин, 2015, Бачурин, 2023]. Это подтверждается комплексными скрининговыми исследованиями, объединяющими методы *in silico*, *in vitro* и *in vivo* для выявления новых взаимодействий известных препаратов и мишеней [Keiser, 2009]. В этой работе наглядно показано, что помимо воздействия на свои основные белки, лекарственные препараты также связываются с дополнительными мишенями. Хотя такое связывание может приводить к нежелательным побочным эффектам, однако действие на новые сигнальные пути и конечные биомишени, обуславливающие какое-либо заболевание, может также повышать терапевтическую эффективность препарата. В связи с этим, поиск и разработка мультитаргетных лекарственных соединений является весьма актуальным направлением фармакологических исследований и здесь особенно эффективны компьютерные методы прогноза активности [Castro, 2022].

В целом вычислительные методы способствуют пониманию механизмов действия лекарств и облегчают разработку соединений с улучшенными профилями эффективности и безопасности [Abdolmaleki, 2017]. Использование виртуальных методов при поиске фармакологически активных соединений стало

постоянной практикой в наши дни. Особенно важны подходы *in silico* при поиске соединений, обладающих психотропными видами активности с их сложными взаимодействиями внутри нейротрансмиттерных систем и между ними.

### **Методы, основанные на структуре лигандов**

Разработка лекарств на основе лигандов (Ligand-Based Drug Design – LBDD) – это группа методов, при которых исследователи используют только данные о соединениях с известной активностью. Это приближение не требует какой-либо информации о молекулярных мишенях исследуемых соединений. Чаще всего такие подходы представляют собой методы QSAR, в них используются различные зависимости между строением химической структуры и биологической активностью известных соединений для прогноза активности новых перспективных малых молекул.

LBDD методы особенно полезны при прогнозе неспецифических видов активности. Основанная на LBDD компьютерная оценка токсикологических и фармакокинетических свойств химических соединений стала не просто полезным дополнением в доклинических исследованиях, позволяющем сэкономить время и средства, а одним из возможных обязательных этапов, что подтверждается законом, принятом в США в 2022 г.<sup>1</sup>.

LBDD нашли свое применение в сервисах прогноза фармакокинетических свойств малых молекул, как, например, в сервисе SwissADME [Daina, 2017]. Основная идея таких ресурсов заключается в составлении обширной базы данных известных по структуре и тому или иному виду фармакологической активности химических соединений и создании модели прогноза методами ML. В случае SwissADME, это прогноз с использованием множественной линейной регрессии (Multiple Linear Regression – MLR) и метода опорных векторов (Support Vector Machine – SVM).

---

<sup>1</sup> S.5002. FDA Modernization Act 2.0 2D Session of 117th Congress. 29.12.2022.  
<https://www.congress.gov/117/bills/s5002/BILLS-117s5002es.pdf>

Другой популярной программой является PASS – система прогноза спектра различных видов биологической активности, разработанная в Научно-исследовательском институте биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича [Filimonov, 2014]. Система PASS основана на методе Байеса и использует решающие правила, позволяющие проводить прогноз наличия или отсутствия у химических соединений более 7,5 тыс. различных видов фармакологической активности.

Следует отметить, что с помощью системы PASS можно проводить прогноз, в том числе и анксиолитической активности химических соединений. Так, в работе [Geronikaki, 2004] показан компьютерный скрининг 5494 структур. Исследователи отобрали восемь потенциальных анксиолитиков и провели эксперименты в тесте «Наказуемое взятие воды по Vogel». Согласно полученным результатам, шесть соединений из восьми обладают сопоставимым или более высоким анксиолитическим эффектом в сравнении с препаратом медазепамом.

### **Методы, основанные на структуре биомишени, молекулярное моделирование**

Разработка лекарств на основе структуры (Structure-Based Drug Design – SBDD) – это группа методов, используемая при проектировании и разработке новых фармакологических соединений на основе трехмерной структуры биологических мишеней, таких как белки, липиды или нуклеиновые кислоты [Yu, 2017]. В сравнении с LBDD, методы SBDD более сложны и требуют использования специализированных алгоритмов обработки данных. В этом хорошо помогают методы ИИ, в частности, ИНС глубокого обучения [Batool, 2019].

3D-модель белка может быть получена экспериментальным путем, например, по данным рентгеноструктурного анализа, или с помощью методов *in silico*, такого, например, как моделирование по гомологии [Sali, 1993; Biasini, 2014]. После получения 3D-структуры белка или другой макромолекулы можно приступить к ее изучению с помощью методов молекулярной механики, докинга или молекулярной динамики [Ferreira, 2015].

## **1.4 Основные подходы, используемые при создании искусственных нейронных сетей для прогноза психотропной активности**

### **Молекулярная механика**

Молекулярная механика – это эмпирический подход, используемый для определения геометрических и энергетических свойств молекул. Молекулярная механика моделирует атомы как заряженные сферы определенных размеров, соединенные связями, которые представлены в виде полужестких стержней. К этой системе применяются принципы классической механики, интегрирующие определенные аспекты квантовой механики, такие как дискретный характер энергетических переходов и вклады нековалентных дисперсионных взаимодействий. Набор параметров, которые описывают различные типы атомов, связей, валентных и торсионных углов, а также электростатические и дисперсионные взаимодействия, известен как силовое поле [Дашевский, 1987].

В моделировании белков молекулярная механика имеет решающее значение, поскольку это основной метод построения их геометрической структуры [König, 2020]. Популярность метода молекулярной механики обусловлена относительной простотой математических операций, позволяющей выполнять расчеты параллельно, и тем самым сокращать время исследования.

### **Квантовая химия**

Квантовая химия – это область химии, которая применяет квантовую механику к химическим системам (в частности, при создании лекарств), с целью выяснения их электронной структуры, свойств и взаимодействий на электронном уровне [Zhou, 2010]. Точные методы квантовой химии (такие, как *ab initio*) требуют значительных вычислительных ресурсов, что делает расчеты белковых комплексов и крупных лигандов очень затратными; поэтому эти методы применяются достаточно редко. Для указанных целей предпочтительнее использовать полуэмпирические методы, которые позволяют пренебречь некоторыми электронными взаимодействиями. Такие подходы, как метод молекулярных орбиталей, позволяют получить достаточно точные результаты без необходимости проведения сложных расчетов.

Программы MOPAC (URL: <http://openmopac.net/>) и HyperChem (URL: <http://www.hypercubeusa.com/>), позволяют проводить полуэмпирические квантово-химические расчеты. Одним из широко используемых полуэмпирических методов параметризации является PM7 [Stewart, 2013], который учитывает нековалентные межмолекулярные взаимодействия. PM7 используется для расчета характеристик молекулярных орбиталей, теплоты образования и параметров геометрии молекул. Используется также метод пренебрежения двухатомным дифференциальным перекрыванием, что при совместном использовании повышает точность и универсальность таких методов, как AM1, PM3, PM6 и PM7. Сравнение экспериментальных данных и квантово-химических расчетов PM7 подтвердило точность метода в предсказании таких свойств, как теплота образования и геометрия малых молекул, а также свойств органических и неорганических твердых тел. Исследования показали, что PM7 точно воспроизводит межатомные расстояния, при сопоставлении с данными рентгеноструктурного анализа [Martin, 2015].

Использование метода PM7 в программе MOPAC2012 позволяет рассчитывать колебательные спектры, термодинамические характеристики, эффекты изотопного замещения и силовые константы для различных молекул, радикалов, ионов, межмолекулярных комплексов и полимеров. Таким образом, полуэмпирический метод квантово-химических расчетов PM7 упрощает трехмерное моделирование и расчет характеристик межмолекулярного взаимодействия с минимальной потерей точности.

### **Докинг**

Докинг – это метод, используемый для прогнозирования предпочтительной ориентации лиганда (обычно небольшой молекулы) относительно биомишени (обычно белка) [Lengauer, 1996]. Этот метод учитывает различные взаимодействия внутри образующегося стабильного комплекса и рассчитывает итоговую энергию взаимодействия лиганда и биомишени. Понимание предпочтительной ориентации лиганда в специфическом сайте связывания может помочь предсказать силу связи между двумя молекулами на основе энергии

докинга. Эта энергия служит косвенной оценочной функцией, которая коррелирует с фактической энергией связывания лиганда с биомишенью, что позволяет использовать ее в качестве показателя сродства малой молекулы к белку и в качестве дескриптора межмолекулярного взаимодействия.

Молекулярный докинг – это широко используемый метод SBDD [Coumar, 2021]. Большинство программ докинга обеспечивают сопоставимую точность расчета энергии взаимодействий лиганд-белок. Энергию докинга можно использовать для эффективного прогнозирования активности соединений, хотя она имеет тенденцию показывать меньшую точность при идентификации соединений с высокой активностью. Наиболее распространенный подход при докинге предполагает расчет энергии взаимодействия на основе принципа линейности свободных энергий [Huey, 2007]. Каждая энергетическая составляющая (связи, торсионные углы, электростатические взаимодействия и т. д.) рассчитывается с использованием отдельных уравнений, выведенных из принципов классической механики; при этом полная энергия взаимодействия представляет собой сумму этих отдельных составляющих. Из-за такой специфики представления молекул метод докинга может давать значительную ошибку в оценке энергии связывания [Chen, 2015 A]. Важно отметить, что ключевым этапом докинга является выделение связывающих аминокислот в активном сайте белка. Сложность выявления местоположения валидного специфического сайта связывания очень часто является трудно разрешимой проблемой при выполнении докинга.

Качественно иным, принципиально новым приближением к оценке аффинности лигандов, является расчет спектра энергий докинга во множество пространств, покрывающих весь объем белка-мишени [Васильев, 2021 B]. Это направление получило название множественного докинга. При таком подходе не требуется определения местоположения специфического сайта связывания, а главное – моделируется более точно соответствующее реальному взаимодействие соединений со структурой биомишени.

## Методы машинного обучения

Методы ML и технологии ИИС, в частности, широко используются в области медицинской химии и здравоохранения [Shah, 2019]. Чаще всего это различные подходы по анализу медицинских изображений и клинических наборов данных [Serretti, 2007; Janowczyk, 2016], однако общий подход к распознаванию образов является универсальным и может применяться не только при работе с изображениями [Chen, 2015 B, Janowczyk, 2016; Chen, 2020].

В поиске соединений с психотропной активностью методы ML применяются все чаще, что можно увидеть по результатам поиска публикаций в таких системах как PubMed или ScienceDirect, пример поисковых запросов в PubMed представлен в таблице 1.2 (рисунок 1.7). Часто встречаются публикации по применению методов ML в клинических исследованиях депрессивных расстройств [Ju, 2020; Salem, 2023].

Таблица 1.2 – Основные запросы в системе PubMed для поиска публикаций, связанных с методами машинного обучения

Запрос в PubMed	Число публикаций
(Machine learning[Title/Abstract]) AND ((Drug development[Title/Abstract]) OR (Drug design[Title/Abstract]))	1722
(Machine learning[Title/Abstract]) AND ((Drug development[Title/Abstract]) OR (Drug design[Title/Abstract])) AND ((CNS[Title/Abstract]) OR (Psychotropic[Title/Abstract]) OR (Neurological[Title/Abstract]))	34
(Machine learning[Title/Abstract]) AND ((Drug development[Title/Abstract]) OR (Drug design[Title/Abstract])) AND (Anxiety[Title/Abstract])	1

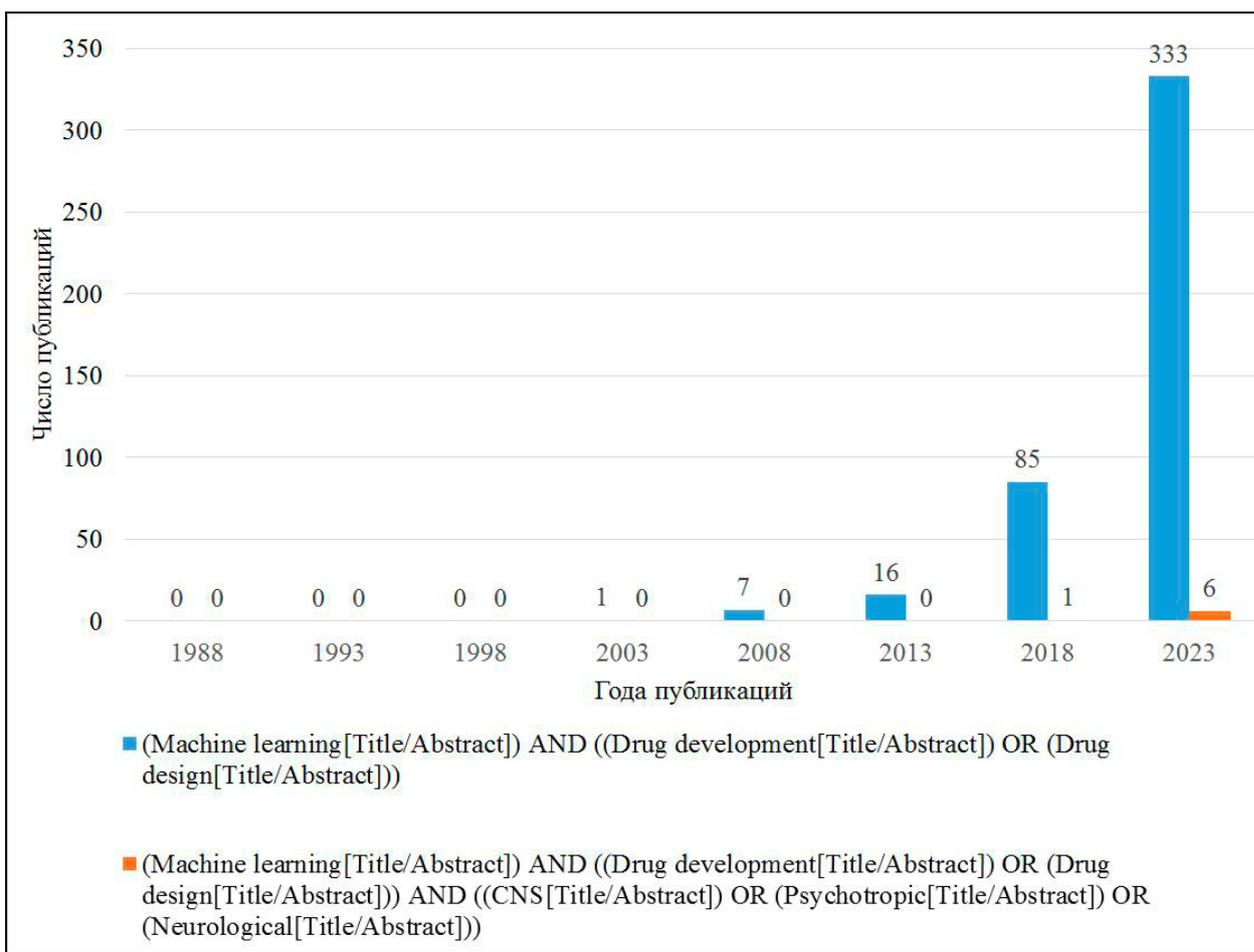


Рисунок 1.7 – Публикационная активность исследований в системе PubMed, связанных с методами машинного обучения

Методы ML имеют множество применений в фармакологии [Dara, 2022]. Исторически первыми среди них являются зависимости структура-активность (Structure-Activity Relationship – SAR) и QSAR [Hansch, 1963]. В основе SAR и QSAR могут лежать, например, метод Байеса или метод регрессии.

Подходы ML успешно применяются на практике. Значительных успехов исследователям удалось достичь в перепрофилировании или репозиционировании известных лекарственных средств [Liu, 2013; Vanhaelen, 2017; Goel, 2018; Yella, 2018]. Репозиционирование лекарственных средств – это оптимальный способ поиска новых областей их применения в терапии других заболеваний [Cichonska, 2015]. Показательным примером является использование препарата барицитиниба, известного ранее как лекарственное средство для лечения ревматоидного артрита, в терапии SARS-CoV-2, что было обнаружено с помощью технологий ИИ [Stebbing, 2021]. В целом показано, что методы на основе нейронных сетей

глубокого обучения часто превосходят по точности репозиционирования другие методы ML [Park, 2019]. Однако методы, построенные с использованием традиционных алгоритмов классификации, такие как, логистическая регрессия, методы случайного леса (Random Forest – RF) и SVM [Kim, 2019] популярны и также используются в задачах по репозиционированию.

Известно широкое использование методов ML в клинике и в клинической фармакологии. Входными данными при этом выступают различные физиологические параметры. Так, в работе [Na, 2021] показано использование данных сердечного ритма в дифференцировке панического и других видов психических расстройств с помощью различных методов ML, таких как ИНС, SVM, градиентный бустинг (gradient boosting machine – GBM) и RF.

В статье [Niu, 2016] на основе нескольких популярных методов генерации «отпечатков пальцев» (fingerprint), включая MACCS-fingerprint, PubChem fingerprint и 2D-атомные пары в качестве дескрипторов, был проведен сравнительный анализ нескольких широко используемых методов ML, включая байесовский наивный классификатор, метод k-ближайшего соседа (k-Nearest Neighbour – k-NN), RF и SVM. Точность классификации, достигнутая с помощью этих методов, колебалась от 77,1% до 88,3%. Оценка точности модели на тестовой выборке показала, что методы RF и SVM превосходят другие, при этом точность классификации лигандов, селективных в отношении рецепторов эстрогена, составила 87,6% и 88,3% соответственно.

Для достижения высокой точности прогноза весьма перспективно использование сочетания нескольких методов. Например, в статье [Zhou, 2024], использовалось последовательное применение четырех подходов: 3D-моделирования фармакофоров, *in silico* анализа абсорбции, распределения, метаболизма, выведения и токсичности (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity – ADMET), докинга и молекулярной динамики. Такой комплексный подход привел к формированию перспективного направления поиска новых ингибиторов киназы PLK1 и способствовал созданию на основе полученных данных нескольких новых молекул.

В рамках таких всеобъемлющих исследований, использующих разнообразные по объему и структуре типы данных, передовые методы ИИ обеспечивают при корректном применении высокую точность прогноза [Lipinski, 2019; Zhang, 2017].

### **Методы искусственного интеллекта**

ИИ улучшает традиционные методы поиска лекарственных средств, позволяя оптимизировать многие процессы и сократить сроки поиска и разработки лекарств [Sahu, 2022]. Благодаря таким программам ИИ, как AlphaFold2, уже сегодня некоторые ученые говорят о революционных изменениях в сферах поиска лекарственных средств, создания вакцин и изучения патофизиологических механизмов заболеваний [Yang, 2023]. AlphaFold2, разработанная компанией DeepMind, представляет собой систему ИИ, предназначенную для прогнозирования 3D-структуры белков [Jumper, 2021]. Совсем недавно была анонсирована новая версия системы – AlphaFold3 [Abramson, 2024].

Прогноз 3D-структуры белков – это не единственная область применения ИИ. Методы ИИ могут быть полезны в разработке лекарственных средств *de novo*, оценке эффективности известных препаратов, виртуальном скрининге, оценке *in silico* ADMET [Agatonovic-Kustrin, 2000].

Современные методы ИИ строятся в основном на ИНС различной архитектуры, но используют также другие методы ML. Нейронные сети – это вычислительные модели ML, имитирующие структуру и функции естественных биологических нейронных сетей (в том числе, образующих человеческий головной мозг), которые состоят из определенного числа взаимосвязанных и объединенных в слои узлов (нейронов) [Баскин, 1999]. Элементарный искусственный нейрон Розенблатта перцептрон [Rosenblatt, 1962] и построенные на его основе простые одно- и двухслойные нейронные сети составляют базис других архитектур ИНС и технологий глубокого обучения, обеспечивая расширенные возможности ИИ в различных областях [Nielsen, 2015].

Фундаментальные принципы моделирования нейронных сетей были впервые сформулированы в теореме Колмогорова, которая утверждает, что любая сложная функция может быть представлена суперпозицией двух простых элементарных функций [Колмогоров, 1957]:

$$f(x_1, \dots, x_n) = \sum_{q=1}^{q=2n+1} \chi_q \left[ \sum_{p=1}^n \psi^{pq}(x_p) \right], \quad (1)$$

где функции  $\chi_q(y)$ ,  $\psi^{pq}(x)$  действительны и непрерывны.

На основе этой теоремы стали формироваться предпосылки для создания современных принципов построения архитектур и обучения нейронных сетей [Hecht-Nielsen, 1987].

Классические нейронные сети базируются на наборе основных математических формул и принципов, приведенных ниже [Du, 2014; Nielsen, 2015].

Каждый нейрон в сети обрабатывает входные данные и передает их через функцию активации (передаточную функцию) для получения выходных данных. Предварительно может применяться нормализация данных, чаще всего на максимальное значение входных данных.

#### 1. Функция активации.

Функция активации определяет выход узла нейронной сети (или нейрона). Наиболее распространенными функциями активации являются следующие.

- Тожественная функция:

$$f(x) = x . \quad (2)$$

Эта функция переводит аргумент идентично на себя (данные не преобразуются).

- Сигмоида:

$$\sigma(x) = \frac{1}{1 + e^{-x}} . \quad (3)$$

Эта функция сопоставляет любое действительное число со значением от 0 до 1.

- Гиперболический тангенс (Tanh):

$$\tanh(x) = \frac{e^x - e^{-x}}{e^x + e^{-x}}. \quad (4)$$

Функция Tanh сопоставляет любое действительное число со значением от -1 до 1.

- Линейный выпрямитель (также встречается определение «полулинейный элемент», Rectified Linear Unit – ReLU):

$$\text{ReLU}(x) = \max(0, x). \quad (5)$$

ReLU выводит ноль, если вход отрицательный, и сам вход, если он положительный.

- Экспоненциальная линейная активационная функция (Exponential linear unit – ELU):

$$f(\alpha, x) = \begin{cases} x, & \text{если } x > 0 \\ \alpha(e^x - 1), & \text{если } x \leq 0 \end{cases}, \quad (6)$$

где  $\alpha$  – параметр, который определяет форму функции для отрицательных значений  $x$ .

## 2. Взвешенная сумма (линейная комбинация)

Выход каждого нейрона представляет собой взвешенную сумму его входов плюс смещение:

$$z = \sum_{i=1}^n w_i x_i + b, \quad (7)$$

где  $n$  – число наблюдений в наборе данных;  $w_i$  – веса синапсов (межнейронных связей);  $x_i$  – входные признаки;  $b$  – смещение ( $b$  – bias) – это отдельный необязательный тип нейронов (называемые иногда псевдонейронами [Баскин, 2020]), не имеющих входного сигнала и с фиксированным уровнем выходного сигнала. Нейроны смещения необходимы для получения итогового выходного результата ИНС со сдвигом гиперплоскости относительно начала координат.

Нейросетевые модели обучаются путем корректировки связей (весов) между узлами на основе минимизации ошибок, обычно с использованием функции потерь, в частности, перекрестной энтропии (которая обычно применяется в задачах классификации), и алгоритма обратного распространения ошибки.

### 3. Функция потерь

Функция потерь (loss function) или функция ошибки (error function) измеряет разницу между прогнозируемым выходом или вычисленным выходом соответствующего нейрона и фактической целью или желаемым выходом соответствующего выходного нейрона [Баскин, 2020]. Вычисление функции ошибки может выполняться следующими методами.

- Среднеквадратическая ошибка (Mean Square Error MSE):

$$MSE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2, \quad (8)$$

где  $n$  – число наблюдений в наборе данных;  $y_i$  – истинные значения;  $\hat{y}_i$  – прогнозируемые значения.

- Перекрестная энтропия:

$$C = -\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n [y_i \ln(\hat{y}_i) + (1 - y_i) \ln(1 - \hat{y}_i)], \quad (9)$$

где  $n$  – число наблюдений в наборе данных;  $y_i$  – истинные значения;  $\hat{y}_i$  – прогнозируемые значения.

Использование в роли функции потерь квадратичной функции (8) позволяет рассматривать ИНС как вариант метода наименьших квадратов [Баскин, 2020].

### 4. Обратное распространение ошибки

Обратное распространение ошибки – это алгоритм обучения нейронных сетей, включающий следующие шаги.

Расчет градиента функции потерь (вектора первых производных по отношению к подстраиваемым параметрам) по отношению к каждому весу, используя цепное правило [Nielsen, 2015; Баскин, 2020]. Для веса  $w$ :

$$\frac{\partial MSE}{\partial w} = \frac{\partial z}{\partial w} * \frac{\partial \hat{y}}{\partial z} * \frac{\partial MSE}{\partial \hat{y}} \quad (10)$$

$$\frac{\partial \hat{y}}{\partial z} = \hat{y}(1 - \hat{y}) \quad (11)$$

$$\frac{\partial MSE}{\partial \hat{y}} = \hat{y} - y, \quad (12)$$

где  $\hat{y}$  – прогнозируемый результат;  $y$  – истинный результат;  $z$  – взвешенная сумма; MSE – функция потерь.

Обновление веса с использованием градиентного спуска:

$$w_{new} = w - \eta \frac{\partial MSE}{\partial w}, \quad (13)$$

где  $\eta$  – скорость обучения.

### 5. Функция Softmax

На последнем слое нейронов с помощью последней функции активации происходит линейная комбинация всех выходных признаков и весов, которые преобразуются в вектор исходной размерности, координаты которого представляют собой вещественные числа в диапазоне от 0 до 1, и сумма координат равна единице. В задачах классификации чаще всего такой последней функцией активации является функция softmax:

$$\sigma(q)_j = \frac{e^{q_j}}{\sum_{k=1}^K e^{q_k}}, \quad (14)$$

где  $q_j$  –  $j$ -й элемент входного вектора  $z$ ;  $K$  – количество классов (исходная размерность).

Эти формулы (1–14) лежат в основе формализации нейронных сетей, позволяя изучать с их помощью закономерности, выявлять скрытые паттерны в данных и прогнозировать свойства новых объектов. При обучении ИНС происходит разделение входных данных на подмножества: обучающую, тестовую и, необязательную для использования, валидационную подвыборки. Обучение ИНС представляет собой минимизацию функции потерь на обучающей подвыборке в пространстве настраиваемых параметров, то есть весов синапсов. Этот процесс происходит до тех пор, пока точность классификации на обучающей выборке не начинает превышать точность классификации на тестовой выборке, которая используется для корректировки весов синапсов. Внутренняя валидация происходит на данных валидационной подвыборки, которые никак не используются в обучении, а служат только для итоговой оценки точности полученной нейросетевой модели. Пример одной из наиболее распространенных

архитектур ИНС – многослойной полносвязной перцептронной сети прямого распространения, с пояснением составляющих её элементов, приведен на рисунке 1.8.

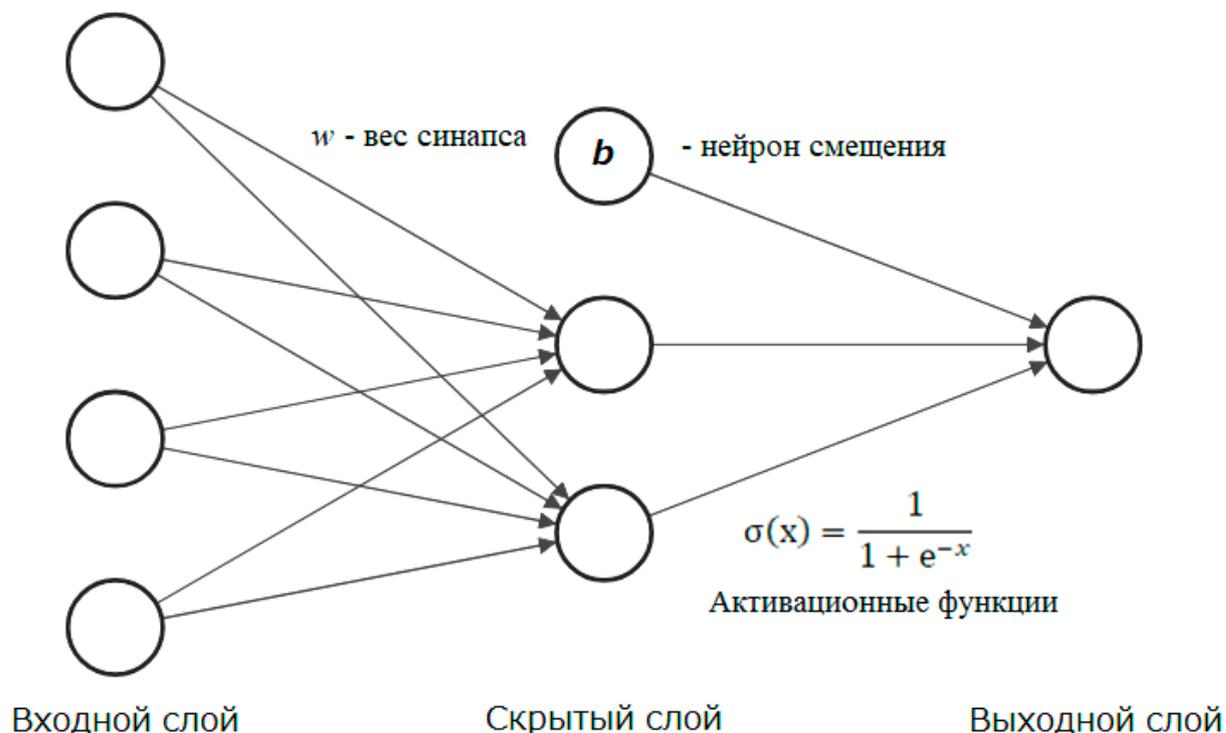


Рисунок 1.8 – Пример архитектуры двухслойной искусственной нейронной сети с указанием ее основных структурных элементов

Примечание –  $w$  – вес, рассчитываемый при обучении для каждого синапса между нейронами;  $b=const$  – смещение, также рассчитывается при обучении.

Совокупно применяя перечисленные элементы ИНС – функции активации, взвешенные суммы, функции потерь, обратное распространение ошибки, и выходную функцию softmax – нейронные сети можно обучить, с целью выполнения с их использованием широкого спектра задач – от обработки текстов до распознавания и работы с изображениями.

Наиболее эффективными при работе и классификации графических данных являются сверточные нейронные сети (Convolution Neural Networks – CNN).

Свертка изображений впервые применена в нейрокогнитроне, который был разработан японским ученым Кунихикой Фукусимой в 1980 году, в ходе нейрофизиологических исследований ЦНС, как модель распознавания

визуальных образов глазом [Fukushima, 1980]. Благодаря другому известному ученому в области ИИ, Яну Леуну, архитектура CNN получила современное название и применение [LeCun, 1989]. Свертка, которая является базовой операцией в CNN – это универсальный инструмент обработки данных, позволяющий уменьшить размерность исходного пространства, что позволяет оптимизировать расчеты, при сохранении любых скрытых образов, в том числе описываемых совокупностью химико-биологических параметров. В настоящем диссертационном исследовании показано использование корреляционной свертки дескрипторных переменных с учетом их химико-биологического наполнения.

В исследованиях психотропных видов фармакологической активности ИНС используются достаточно давно. Так, в работе [Bucinski, 2000] показано использование ИНС в классификации психотропных препаратов на основе анализа данных молекулярного моделирования. Авторы приводят информацию о высокой точности своих моделей, однако не приводят данных для новых, не вошедших в обучающую выборку соединений, с проверкой прогноза в эксперименте. Нейронные сети не являются единственным эффективным инструментом среди многих методов ML. В работе [Lee, 2022] продемонстрировано применение классификационных моделей на основе ИНС, SVM и k-NN для поиска новых психотропных веществ по данным жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии высокого разрешения. При этом общая точность нейросетевой модели в этом исследовании самая низкая – 72,5%, против 90,0% и 94,3% у SVM и k-NN соответственно.

Нейронные сети обучаются для прогноза фармакологической активности с использованием самых различных типов данных, включая упомянутое время удерживания пробы в колонке при высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Совместно с этим используются структурные дескрипторы соединений, как можно увидеть, например, в исследовании [Nasal, 2004], где для прогнозирования аффинности производных азапирона к рецепторам серотонина 5-HT<sub>1A</sub> использовали как данные ВЭЖХ, так и структурные дескрипторы соединений. Были разработаны две модели ИНС: одна

на основе данных хроматографического удерживания, а другая на структурных параметрах соединений. После обучения каждой модели с их помощью классифицировали соединения из тестового набора как активные ( $K_i < 50$  нМ) или неактивные ( $K_i > 50$  нМ). Исследование продемонстрировало высокую точность прогнозирования для обеих моделей ИНС, превышающую 90,0% для неактивных и 60,0% для активных производных азапирона в отношении аффинности к рецепторам 5-HT<sub>1A</sub>. Примечательно, что модель, использующая структурные дескрипторы производных азапирона, показала более высокий процент правильных классификаций в тестовой выборке: 92,3% и 100% для неактивных и активных соединений соответственно. Это свидетельствует о том, что анализ структурных параметров химических соединений может служить достаточно полным и высоко достоверным источником информации об активности химического соединения. Такой вывод согласуется с известным определением академика Н. С. Зефирова: «Структурная формула – это геном свойств химического соединения». В этом плане хорошо обученные ИНС позволяют быстро и эффективно классифицировать соединения-кандидаты на лекарственные препараты по их структурным особенностям, что потенциально снижает необходимость в обширных биологических анализах при разработке лекарственных препаратов.

В доступной литературе было найдено небольшое число публикаций, посвященных применению ИНС в поиске соединений с психотропной активностью, хотя имеются отдельные интересные работы. Например, исследование по прогнозу психотропных веществ с помощью ИНС глубокого обучения, способной точно предсказывать результаты тандемной масс-спектрометрии исследуемых химических соединений [Wang, 2023]. В работе представлена система из нейронной сети глубокого обучения, моделирующей молекулярную топологию химического соединения с построением графа молекулярной фрагментации с учетом всех теоретически возможных фрагментов. Это дает очень точное представление о соответствии исследуемой субстанции с классом химических соединений. Полученная модель была протестирована на

нескольких наборах неизвестных соединений и показала наибольшую точность в 69,8% (n = 37) для соответствующего тестового набора.

В другой статье [Myrov, 2023] описывается метод применения искусственной нейросетевой модели для изучения изменений в двигательном поведении рыб *Danio rerio* под воздействием на них этанола. Модель представляет собой классическую CNN для распознавания образов по видеозаписи движений рыб *Danio rerio*. В работе изучается поведенческая активность, и предложенный метод с использованием CNN теоретически может быть применён к другим химическим соединениям.

Если работы по исследованию ИНС в контексте изучения психотропной активности, в целом, еще встречаются в мировой литературе, то публикации, связанные с ИНС и анксиолитической активностью, представляют собой буквально единичные случаи. Так, единственная статья, рассматривающая исследование анксиолитической активности химических соединений с помощью технологии ИНС, найденная по запросу в базе данных PubMed (см. таблицу 1.2), посвящена использованию системы компьютерного зрения на основе нейросетевой модели в наблюдении за поведенческими тестами [Roberds, 2011]. Кроме этого, вне системы PubMed была найдена еще одна статья, описывающая ИНС в прогнозе тревожного состояния на основе клинических данных [Dabek, 2015]. В этой статье описана модель для прогноза у пациентов наличия тревожного состояния, а также нескольких других психических расстройств. Модель, обученная на клинических данных, показала точность прогноза наличия тревожного состояния в тестовой подгруппе пациентов 73,4%.

Таким образом, разработка оптимальных архитектур ИНС и обучение на их основе точных нейросетевых моделей для поиска новых психотропных соединений, в частности, с анксиолитической активностью, является весьма актуальной научной и практической задачей.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Дизайн исследования

Работа посвящена разработке методологии поиска соединений с психотропной активностью в разнообразных по структуре химических рядах с использованием моделей на основе искусственных нейронных сетей различной архитектуры, мультитаргетного подхода и разного представления химической структуры лигандов. Важной частью исследования является поиск с применением обученных нейросетевых моделей новых соединений с выраженной анксиолитической активностью и подтверждение в серии экспериментов результатов прогноза *in silico*.

Материалами для компьютерного моделирования являются данные по химической структуре и уровню активности известных соединений, испытанных на анксиолитическую активность мировым научным сообществом, а также данные по химической структуре новых синтезированных соединений различных классов. Общий дизайн исследования показан на рисунке 2.1.

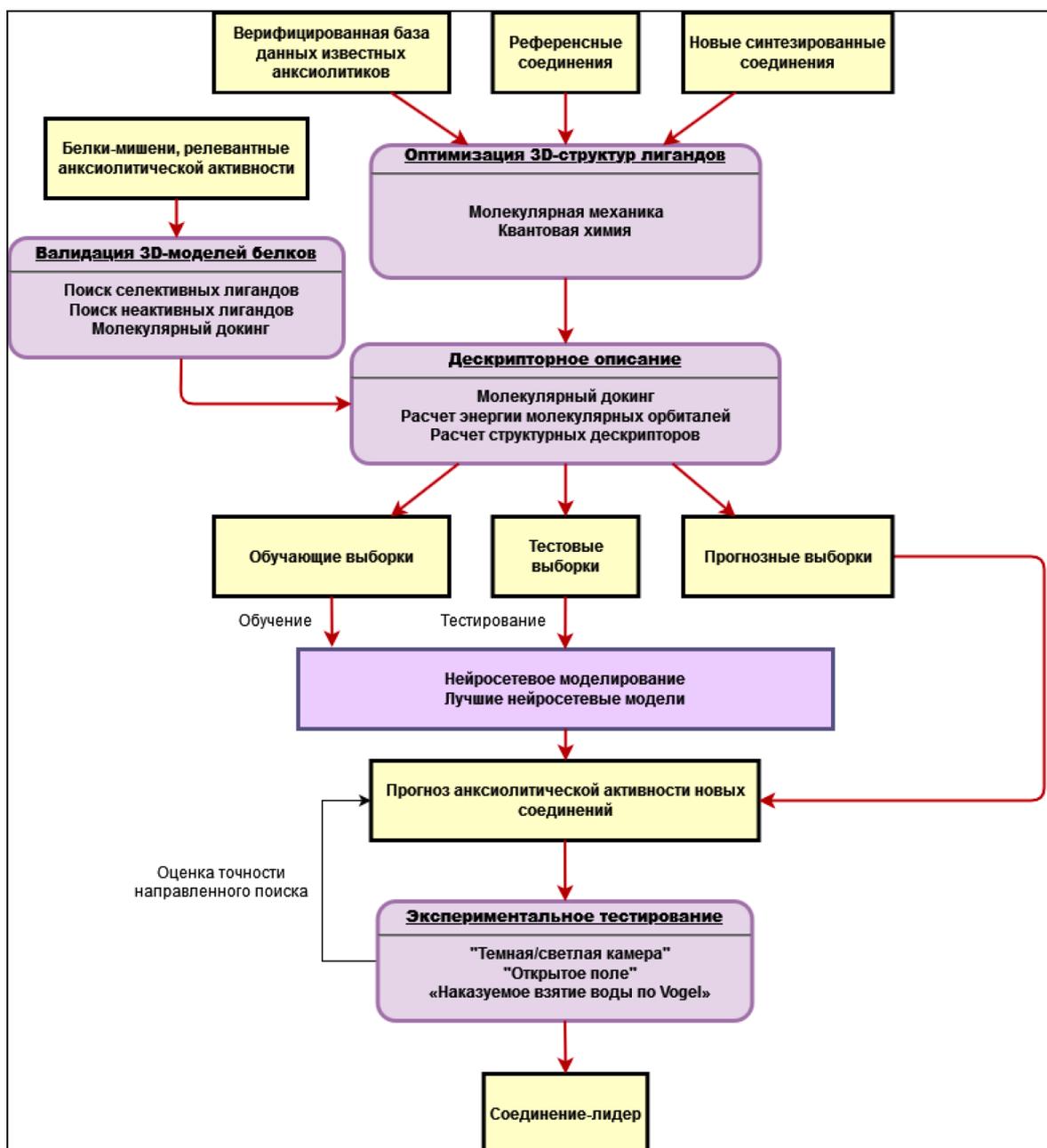


Рисунок 2.1 – Дизайн исследования

Выполнялись следующие основные этапы исследования.

1. Проводилось формирование верифицированной базы данных по структуре и активности известных анксиолитиков. Проводилось формирование из полной базы данных локальной базы данных, составленной по задаваемым пользователем структурным хемотипам. Также, на основе полной базы данных, проводилось формирование локальной базы данных, составленной по 10 хемотипам, которые соответствуют скаффолдам всех прогнозируемых соединений.

2. Выполнялось построение и оптимизация 3D-моделей известных анксиолитиков и новых синтезированных соединений с использованием методов молекулярной механики и квантовой химии.

3. Выявлялись биомишени, релевантные анксиолитической активности.

4. Отбирались 3D-модели релевантных биомишеней и проводилась их валидация.

5. Осуществлялся простой и множественный монотаргетный и мультитаргетный ансамблевый докинг в 3D-модели биомишеней, релевантных анксиолитической активности, известных соединений, изученных на противотревожную активность и новых синтезированных соединений.

6. Проводилось дополнительное дескрипторное описание химической структуры всех соединений, в том числе, с использованием фрагментных и квантово-химических энергетических дескрипторов.

7. По результатам докинга и дескрипторного описания формировались обучающие, тестовые и прогнозные выборки для последующего нейросетевого моделирования. Производился выбор архитектур искусственных нейронных сетей, выполнялось обучение полносвязных нейронных сетей прямого распространения, описывающих зависимости анксиолитической активности от структуры химических соединений. Осуществлялась валидация полученных нейросетевых моделей анксиолитической активности на выборке, состоящей из известных лекарственных препаратов, применяемых в терапии тревожных расстройств. Проводилась оценка прогностических характеристик полученных нейросетевых моделей на тестовой выборке известных соединений, данные по анксиолитической активности которых опубликованы в открытых источниках.

8. Выполнялся консенсусный прогноз с использованием построенных нейронных сетей анксиолитической активности новых синтезированных соединений различных химических классов и рядов. Выявлялись наиболее перспективные соединения.

9. Осуществлялось экспериментальное изучение отобранных по компьютерному прогнозу перспективных соединений в поведенческих тестах.

Экспериментальные данные сопоставлялись с полученными прогнозными оценками.

10. Для соединения-лидера проводился анализ фармакологического механизма действия методами *in silico*.

11. Методами *in silico* оценивались основные ADMET показатели соединения-лидера.

## **2.2 Материалы исследования**

### **2.2.1 Химические соединения**

Основные данные, используемые в качестве обучающей выборки в настоящей работе, об известных соединениях с анксиолитической активностью, изученных мировым научным сообществом, были получены из баз данных ChEMBL [Zdrazil, 2024] и DrugBank [Knox, 2024]. Информация о структуре известных препаратов для терапии тревожных расстройств, а также селективных активных и не активных лигандах в отношении изучаемых релевантных анксиолитической активности белков-мишеней была получена из базы данных PubChem [Kim, 2023] и из оригинальной QSAR-базы системы Microcosm BioS [Vassiliev, 2014; Vasilyev, 2019]. Наиболее активные референсные лиганды, обладающие определенным типом активности в отношении белков-мишеней, соотносящихся с заданным психотропным фармакологическим эффектом, для каждой соответствующей мишени подбирались в базе данных IUPHAR [Harding, 2023]. Данные о химической структуре и активности соединений, которые были изучены в экспериментах, в том числе, учеными на кафедре фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, были получены из соответствующих публикаций в открытой печати.

В данной работе разрабатывается идеология по созданию мультитаргетных нейросетевых моделей прогноза психотропной активности соединений, разнообразных по химической структуре. В ранее проведенных исследованиях [Васильев, 2021 А] было показано, что мультитаргетные соединения, действующие одновременно на несколько биомишеней в различных путях передачи сигналов, могут быть весьма перспективными лекарственными

средствами. Для данной диссертационной работы, с целью подтверждения универсальности модели, были отобраны 16 различных классов химических соединений, включающих 26 рядов структурно-разнородных веществ.

1. Производные 2-замещенных 8-амино-1,2,3,4-тетрагидро-пиразино[1,2-а]бензимидазолов – 6 соединений, единственный ряд.

2. Ацетамидные производные 1-метилхиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-диона – 5 соединений, 2 ряда:

- 3-(2-фениламинооксоэтил) производные – 3 соединения;
- 3-(2-(1-пиперазинил)оксоэтил) производные – 2 соединения.

3. Амиды и имиды адамантан-1-карбоновой кислоты – 18 соединений, 3 ряда:

- Амиды адамантан-1-карбоновой кислоты – 11 соединений;
- Имиды адамантан-1-карбоновой кислоты – 2 соединения;
- Амидоимиды адамантан-1-карбоновой кислоты – 5 соединений.

4. Сложные эфиры борнеола (монотерпеноиды) – 9 соединений, единственный ряд.

5. Производные берберина (алкалоиды) – 7 соединений, 4 ряда:

- Деметиленберберин – 1 соединение;
- 17-замещенные берберины – 4 соединения;
- Тетрагидроберберин – 1 соединение;
- Дигидроберберин – 1 соединение.

6. Моно-, ди- и три-терпеноидные производные (*S*)-2-этокси-3-фенилпропановой кислоты – 7 соединений, единственный ряд.

7. Производные усниновой кислоты (полифенолы) – 3 соединения, единственный ряд.

8. Производные депсидов (полифенолы) – 2 соединения, единственный ряд.

9. Производные фенхона (монотерпеноиды) – 6 соединений, 2 ряда:

- Гидразоны фенхона – 3 соединения;
- 1,3,4-оксадиазольные производные фенхона – 3 соединения.

10. Производные камфоры (монотерпеноиды) – 2 соединения, единственный ряд.

11. Производные дегидроабиетина (дитерпеноиды) – 2 соединения, единственный ряд.

12. Монотерпеноидсодержащие производные адамантана – 8 соединений, 3 ряда:

○ 6-замещенные 2-(1-адамантил)-5,6,7,8-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[5,1-b][1,3,5]тиадиазепины – 2 соединения;

○ 6-замещенные 2-(1-адамантил)-6,7-дигидро-5H-[1,2,4]триазоло[5,1-b][1,3,5]тиадиазины – 2 соединения;

○ (5-(1-адамантил)-1H-1,2,4-триазол-3-илтио)метил производные – 4 соединения.

13. Производные желчных кислот (стероиды) – 4 соединения, единственный ряд.

14. Производные тритерпеновых кислот – 2 соединения, единственный ряд.

15. Борнил-производные фенилпропановой кислоты (монотерпеноиды) – 2 соединения, единственный ряд.

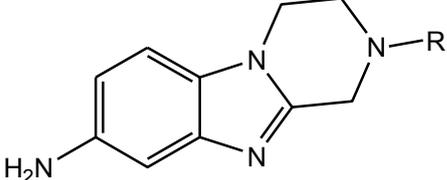
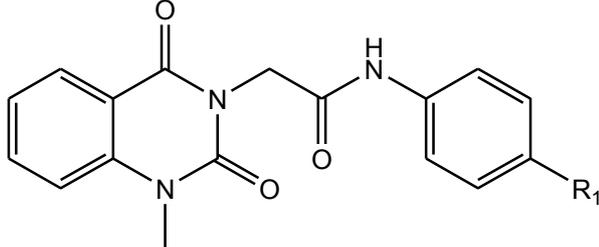
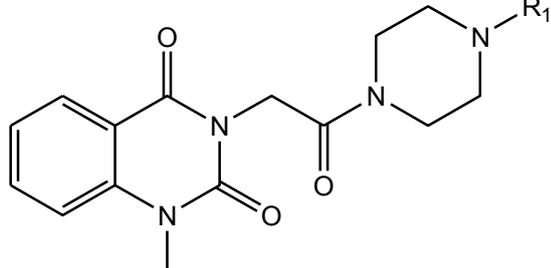
16. Производные бензо[f][1,2,3,4,5]пентатиепина – 24 соединения, 2 ряда:

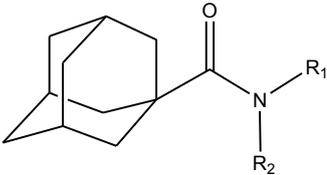
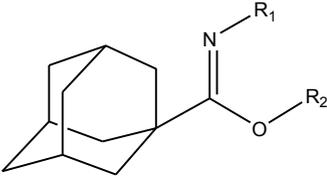
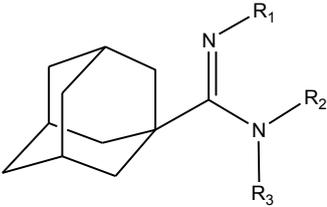
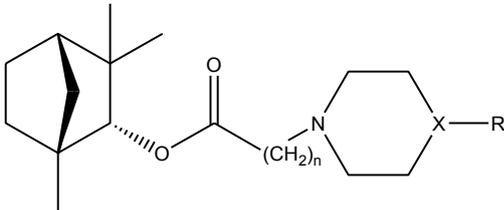
○ 6-трифрометил-бензо[f][1,2,3,4,5]пентатиепины – 12 соединений;

○ 8-трифрометил-бензо[f][1,2,3,4,5]пентатиепины – 12 соединений.

Всего через *in silico* скрининг прошло 107 соединений. Общие формулы соединений всех рядов, а также лаборатории, в которых был выполнен синтез, приведены в таблице 2.1.

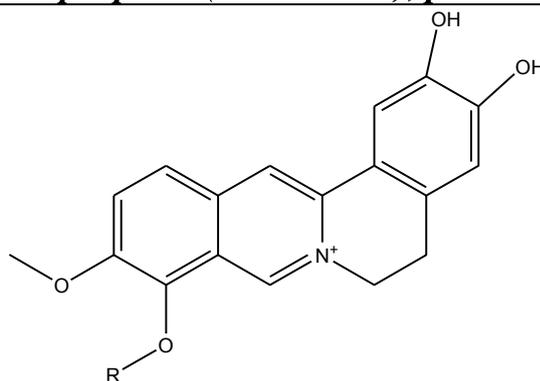
Таблица 2.1 – Данные по химической структуре изучаемых прогнозных соединений и лабораториям, выполнивших синтез

Шифр	Заместители
<b>Класс и ряд 2-замещенные 8-амино-1,2,3,4-тетрагидро-пиразино[1,2-а]бензимидазолы<sup>1</sup></b>	
	
VI-1	R = метил
VI-2	R = изопропил
VI-3	R = изобутил
VI-4	R = 2-метоксиэтил
VI-5	R = 3-гидроксипропил
VI-6	R = 2-гидроксиэтил
<b>Класс ацетамидных производных 1-метилхиназолин-2,4(1H,3H)-диона, ряд 3-(2-фениламинооксоэтил) производные 1-метилхиназолин-2,4(1H,3H)-дионов<sup>2</sup></b>	
	
VMA-20-25	R <sub>1</sub> = 4-метоксифенил
VMA-20-34	R <sub>1</sub> = этокси
VMA-20-37	R <sub>1</sub> = нитро
<b>Класс ацетамидных производных 1-метилхиназолин-2,4(1H,3H)-диона, ряд 3-(2-(1-пиперазинил)оксоэтил) производные 1-метилхиназолин-2,4(1H,3H)-дионов<sup>3</sup></b>	
	
VMA-20-26	R <sub>1</sub> = метил
VMA-20-27	R <sub>1</sub> = фенил
<b>Класс амидов и имидов адамантан-1-карбоновой кислоты, ряд амидов адамантан-1-карбоновой кислоты<sup>4</sup></b>	

	
vass-009-N3	R <sub>1</sub> = фенил; R <sub>2</sub> = ацетил
vass-012-N11	R <sub>1</sub> = фенил; R <sub>2</sub> = 4-метоксибензоил
vass-017-N1	R <sub>1</sub> = фенил; R <sub>2</sub> = 4-нитробензоил
sh-New-0152-N16	R <sub>1</sub> = фенил; R <sub>2</sub> = H
sh-New-0153-N17	R <sub>1</sub> = 4-бутилфенил; R <sub>2</sub> = H
sh-New-0156-N19	R <sub>1</sub> = 4-нитрофенил; R <sub>2</sub> = H
sh-New-0157-N20	R <sub>1</sub> = 4-бромфенил; R <sub>2</sub> = H
sh-New-0158-N21	R <sub>1</sub> = 4-хлорфенил; R <sub>2</sub> = H
sh-New-0160-N22	R <sub>1</sub> = 3-метилфенил; R <sub>2</sub> = H
sh-New-0161-N18	R <sub>1</sub> = 4-метилфенил; R <sub>2</sub> = H
sh-New-0162-N23	R <sub>1</sub> = 4-метоксифенил; R <sub>2</sub> = H
<b>Класс амидов и имидов адамантан-1-карбоновой кислоты, ряд имидов адамантан-1-карбоновой кислоты<sup>5</sup></b>	
	
sh-i10-N13	R <sub>1</sub> = фенил; R <sub>2</sub> = изопропил
sh-i12-N24	R <sub>1</sub> = фенил; R <sub>2</sub> = фенил
<b>Класс амидов и имидов адамантан-1-карбоновой кислоты, ряд амидоимидов адамантан-1-карбоновой кислоты<sup>6</sup></b>	
	
sh-a22-N15	R <sub>1</sub> = фенил; R <sub>2</sub> = фенил; R <sub>3</sub> = фенил
sh-adr01-N8	R <sub>1</sub> = фенил; R <sub>2</sub> = фениламино; R <sub>3</sub> = H Дополнительно в положении 3 адамантана присоединен такой же фрагмент, как и в положении 1
vass-007-N14	R <sub>1</sub> = фенил; NR <sub>2</sub> R <sub>3</sub> = 2-оксоазепан-1-ил
sh-New-0174-N4	R <sub>1</sub> = 2-метилфенил; R <sub>2</sub> = 2-метилфенил; R <sub>3</sub> = H
sh-New-0178-N2	R <sub>1</sub> = 2-изопропилфенил; R <sub>2</sub> = 2-изопропилфенил; R <sub>3</sub> = H
<b>Класс и ряд сложных эфиров борнеола (монотерпеноиды)<sup>7</sup></b>	
	

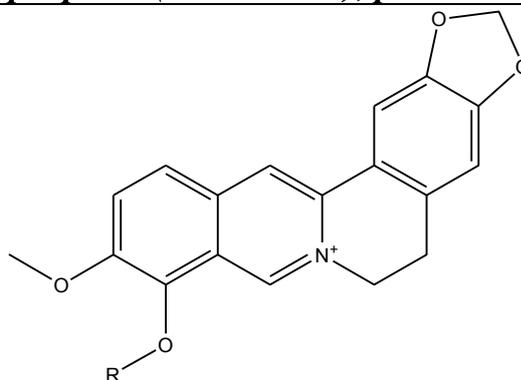
AS-612	n = 1; X = O; R = нет
AS-616	n = 1; X = CH; R = метил
LK-13	n = 1; X = N; R = фенил
AS-617	n = 2; X = O; R = нет
AS-620	n = 2; X = N; R = метил
AS-622	n = 3; X = O; R = нет
AS-624	n = 3; X = N; R = метил
AS-626	n = 3; X = CH; R = метил
LK-17	n = 3; X = N; R = фенил

***Класс производных берберина (алкалоиды), ряд деметиленберберина<sup>8</sup>***



SHE-240 | R = метил

***Класс производных берберина (алкалоиды), ряд 17-замещенных берберина<sup>9</sup>***



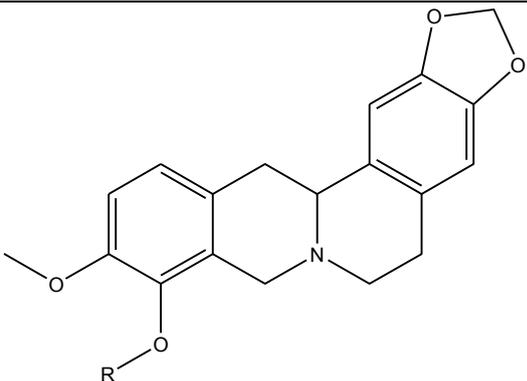
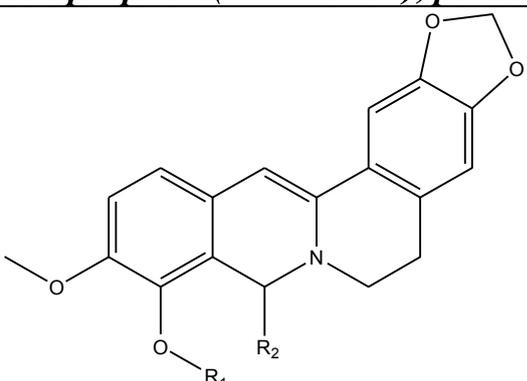
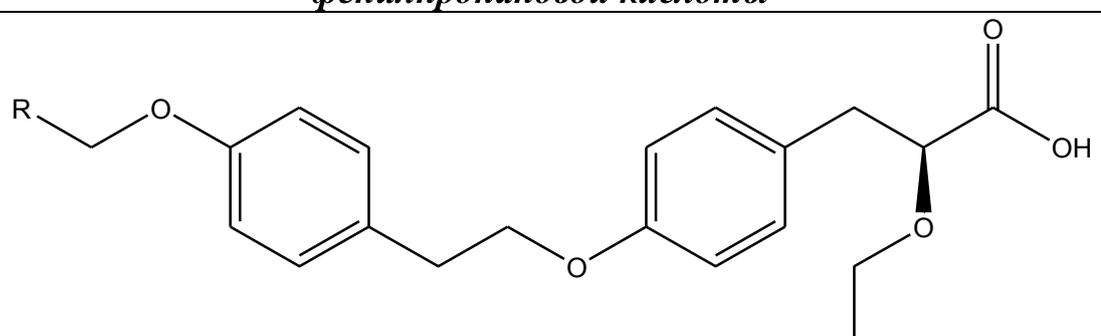
SHE-282 | R = 2-бромэтил

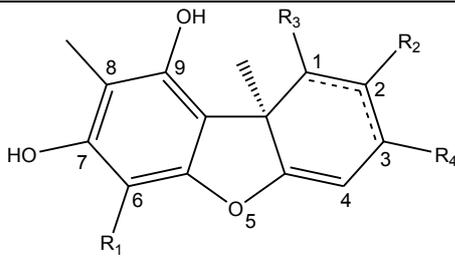
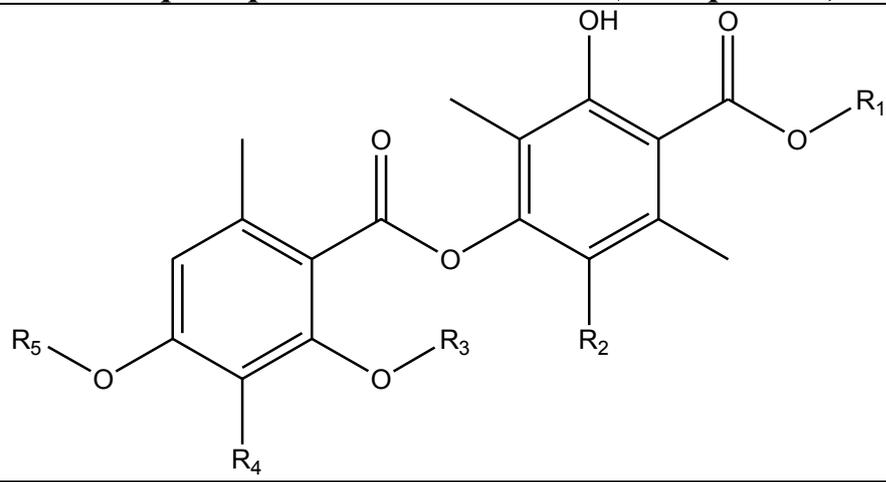
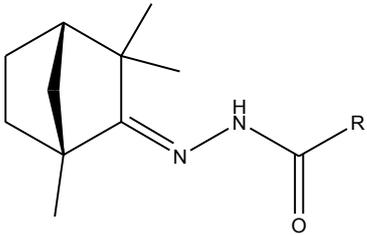
SHE-273 | R = 2-((4-бромбензил)(4-бромфенил)амино)-2-оксоэтил

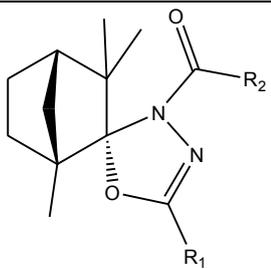
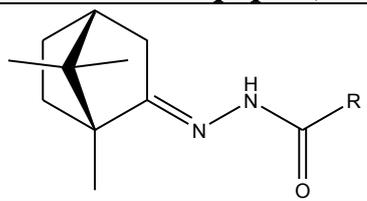
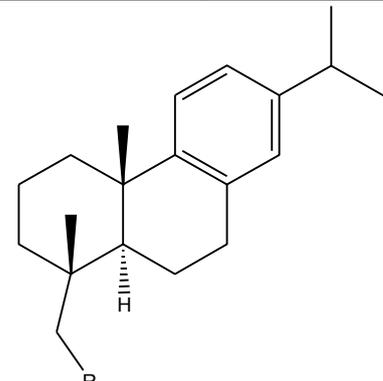
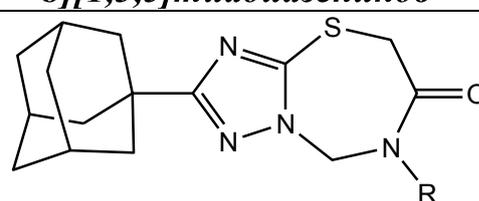
SHE-75 | R = бутилсульфонил

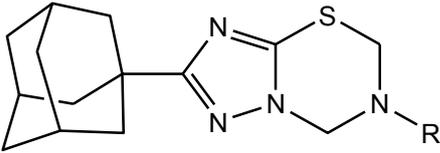
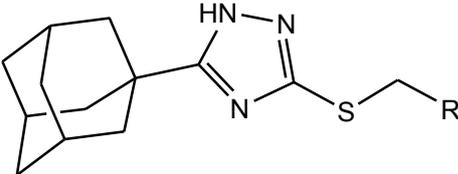
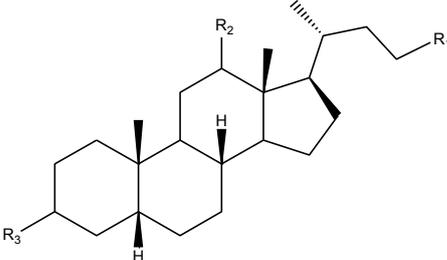
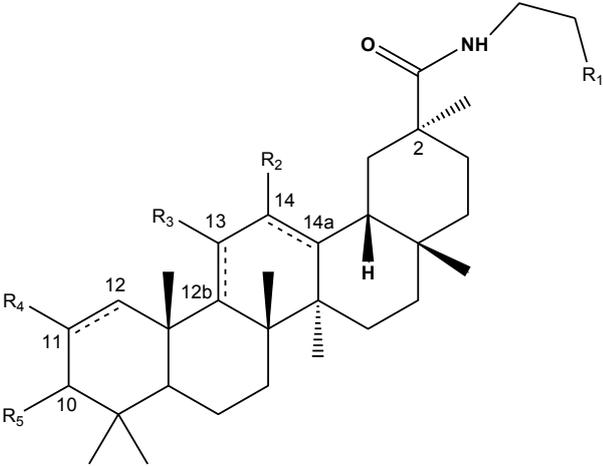
SHE-267 | R = 2-морфолиноэтил

***Класс производных берберина (алкалоиды), ряд тетрагидроберберина<sup>10</sup>***

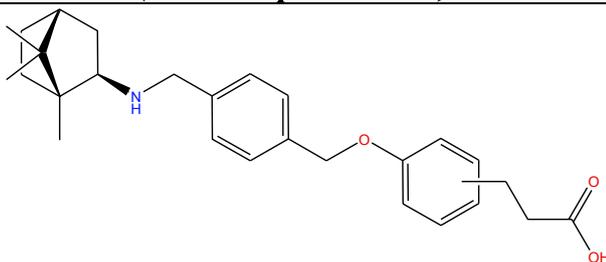
	
SHE-70	R = метил
<b>Класс производных берберина (алкалоиды), ряд дигидроберберина<sup>11</sup></b>	
	
SHE-76	R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> = сульфонилметил
<b>Класс и ряд моно-, ди- и три-терпеноидных производных (S)-2-этокси-3-фенилпропановой кислоты<sup>12</sup></b>	
	
BM-706	R = α-пинен
BM-708	R = пентадецил
BM-738	R = гераниолен
BM-740	R = лимонен
BM-418	R = дигидро-бетулоновая кислота
BM-378	R = изопимаровая кислота
BM-461	R = дегидро-абиетиновая кислота
<b>Класс и ряд производных усниновой кислоты (полифенолы)<sup>13</sup></b>	

	
AT-20	$R_1 = \text{ацетил}; R_2 = 2\text{-}(3,5\text{- ди-трет-бутил-4-гидроксибензиламино)проп-1-енил}; R_3 = \text{оксо}; R_4 = \text{оксо};$ <i>связь 1-2 одинарная; связь 2-3 одинарная</i>
AF-209-5	$R_1 = \text{ацетил}; R_2 = \text{ацетил}; R_3 = \text{амино}; R_4 = \text{оксо}$ <i>связь 1-2 двойная; связь 2-3 одинарная</i>
AF-557-1	$R_1 = 2\text{-}(5\text{-нитрофуран-2-карбоксамидо)тиазол-4-ил}; R_2 = \text{ацетил}; R_3 = \text{оксо}; R_4 = \text{гидрокси};$ <i>связь 1-2 одинарная; связь 2-3 двойная</i>
<b>Класс и ряд производных депсидов (полифенолы)<sup>14</sup></b>	
	
OL-Atr	$R_1 = \text{метил}; R_2 = \text{бром}; R_3 = \text{H}; R_4 = \text{оксометил}; R_5 = \text{гидрокси}$
AD-BDA	$R_1 = \text{бензил}; R_2 = \text{H}; R_3 = \text{метил}; R_4 = \text{метил}; R_5 = \text{метил}$
<b>Класс производных фенхона (монотерпеноиды), ряд гидразонов фенхона<sup>15</sup></b>	
	
ss-77	$R = 3,5\text{-динитрофенил}$
NU-6	$R = 3\text{-}(4\text{-бромфенил})\text{-7-метил-4-оксо-10-окса-3-азатрицикло}[5.2.1.01,5]\text{дец-8-ен-6-ил}$
Ks-363	$R = 3\text{-фенил-7-этил-4-оксо-10-окса-3-азатрицикло}[5.2.1.01,5]\text{дец-8-ен-6-ил}$
<b>Класс производных фенхона (монотерпеноиды), ряд 1,3,4-оксадиазольных производных фенхона<sup>16</sup></b>	

	
Ks-602	R <sub>1</sub> = 4-нитрофенил; R <sub>2</sub> = фенилметокси
Ks-603	R <sub>1</sub> = 4-нитрофенил; R <sub>2</sub> = фенил
ss-56	R <sub>1</sub> = 3,5-динитрофенил; R <sub>2</sub> = этил
<b>Класс и ряд производных камфоры (монотерпеноиды)<sup>17</sup></b>	
	
Ks-563	R = 1-(2-хлор-6-фторфенил)циклопропил
Ks-512	R = 4,4-дифтороциклогексил
<b>Класс и ряд производных дегидроабиетина (дитерпеноиды)<sup>18</sup></b>	
	
Ks-450	R = 2,4-диоксо-3-фенилимидазолидин-1-ил
Ks-353	R = 1-адамантил-аминокарбониламино
<b>Класс монотерпеноидсодержащих производных адамантана, ряд 6-замещенных 2-(1-адамантил)-5,6,7,8-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[5,1-b][1,3,5]тиадиазепинов<sup>19</sup></b>	
	
Маа-730	R = α-пинен
Маа-718	R = 3,7-диметилоктил
<b>Класс монотерпеноидсодержащих производных адамантана, ряд 6-замещенных 2-(1-адамантил)-6,7-дигидро-5H-[1,2,4]триазоло[5,1-b][1,3,5]тиадиазинов<sup>20</sup></b>	

	
Маа-669	R = α-пинен
Маа-738	R = лимонен
<p><b>Класс монотерпеноидсодержащих производных адамантана, ряд (5-(1-адамантил)-1H-1,2,4-триазол-3-илтио)метил производных<sup>21</sup></b></p>	
	
Маа-464	R = (R)-3,7-диметилокт-6-енил
Маа-336	R = (S)-2-(2,2,3-триметилциклопент-3-енил)этил
Маа-466	R = α-пинен
Маа-465	R = α-пиненметил
<p><b>Класс и ряд производных желчных кислот (стероиды)<sup>22</sup></b></p>	
	
sda-827mPy	R <sub>1</sub> = 3-(пиридин-3-ил)-1,2,4-оксадиазол-5-ил; R <sub>2</sub> = оксо; R <sub>3</sub> = оксо
sda-890oPy	R <sub>1</sub> = 5-(пиридин-2-ил)-1,3,4-оксадиазол-2-ил; R <sub>2</sub> = оксо; R <sub>3</sub> = оксо
ev-93	R <sub>1</sub> = 3-морфолинопропиламинокарбонил; R <sub>2</sub> = ацетил; R <sub>3</sub> = ацетил
ev-70	R <sub>1</sub> = 2-(1H-индол-3-ил)этиламинокарбонил; R <sub>2</sub> = H; R <sub>3</sub> = гидроксигруппа
<p><b>Класс и ряд производных тритерпеновых кислот<sup>23</sup></b></p>	
	
SN-11	R <sub>1</sub> = 3-1H-индолил; R <sub>2</sub> = H; R <sub>3</sub> = оксо; R <sub>4</sub> = H; R <sub>5</sub> = ацетил; связь 11-12 одинарная; связь 12b-13 одинарная; связь 14-14a двойная
Sol-694-C3	R <sub>1</sub> = гидроксиметил; R <sub>2</sub> = оксо; R <sub>3</sub> = H; R <sub>4</sub> = нитрил; R <sub>5</sub> = оксо; связь 11-12 двойная; связь 12b-13 двойная; связь 14-14a одинарная

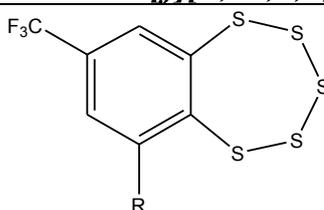
**Класс и ряд борнил-производных фенилпропановой кислоты  
(монотерпеноиды)<sup>24</sup>**



QS-528     пара-замещенное

QS-1258    мета-замещенное

**Класс производных бензо[*f*][1,2,3,4,5]пентадиена,  
ряд 6-трифторметил-бензо[*f*][1,7,2,3,4,5]пентадиенов<sup>25</sup>**



VOL-0001    R = амино

VOL-0002    R = 2,2,2-трифторацетиламино

VOL-0003    R = ацетиламино

VOL-0004    R = 3-(пирролидин-1-ил)пропаноиламино

VOL-0005    R = 2-(пирролидин-1-ил)ацетиламино

VOL-0006    R = 3-морфолинопропаноиламно

VOL-0007    R = 2-морфолиноацетиламно

VOL-0016    R = (1*R*,5*S*)-6,6-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-енкарбониламино

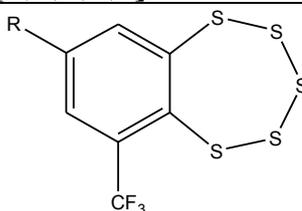
VOL-0017    R = 1-адамантил-карбониламино

VOL-0018    R = тозиламино

VOL-0019    R = 4-хлорбензоиламно

VOL-0020    R = бензоиламно

**Класс производных бензо[*f*][1,2,3,4,5]пентадиена, ряд 8-трифторметил-  
бензо[*f*][1,2,3,4,5]пентадиенов<sup>26</sup>**



VOL-0008    R = амино

VOL-0009    R = ацетиламино

VOL-0010    R = 2,2,2-трифторацетиламино

VOL-0011    R = бензоиламино

VOL-0012    R = 4-хлорбензоиламино

VOL-0013    R = тозиламино

VOL-0014    R = 1-адамантил-карбониламино

VOL-0015	R = (1 <i>R</i> , 5 <i>S</i> )-6,6-диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-енкарбониламино
VOL-0021	R = 3-(пирролидин-1-ил)пропаноиламино
VOL-0022	R = 2-(пирролидин-1-ил)ацетиламино
VOL-0023	R = 2-морфолиноацетиламино
VOL-0024	R = 3-морфолинопропаноиламино

Примечание – Выражаем благодарность за предоставление информации о химических структурах и названиях новых изучаемых веществ сотрудникам указанных организаций:

<sup>1</sup> Южный федеральный университет, НИИ физической и органической химии, Ростов-на-Дону;

<sup>2, 3</sup> Волгоградский государственный медицинский университет, кафедра фармацевтической и токсикологической химии, Волгоград;

<sup>4-6</sup> Волгоградский государственный технический университет, Волгоград.

<sup>7-26</sup> Новосибирский институт органической химии им. Н.Н.Ворожцова СО РАН, Новосибирск.

При выполнении экспериментов в поведенческих тестах, для соотнесения результатов с итогом виртуального прогноза, в качестве контроля был использован референсный препарат диазепам (раствор для внутривенного и внутримышечного введения в ампулах «Сибазон», 5 мг/мл, АО «Органика», Россия).

### 2.2.2 Биомишени, релевантные анксиолитической активности

Белки-мишени, относящиеся к анксиолитической активности, были отобраны на основе данных из системы OpenTargets [Ochoa, 2023] и оригинальной QSAR базы данных системы Microcosm BioS [Vasilyev, 2019; Vassiliev, 2023]. Окончательный список биомишеней, релевантных анксиолитической активности, составлен с помощью систем IT Microcosm [Vassiliev, 2014] и Microcosm BioS [Vasilyev, 2019] на основе соотношения белков-мишеней с хемотипами изучаемых соединений, которые обладают наибольшим уровнем анксиолитической активности.

### 2.2.3 Компьютерные программы

В ходе исследования использовались следующие программы: ChemFinder 9.0, Chem3D 9.0 и ChemDraw 9.0 пакета ChemOffice (Revvity Signals Software, Inc., США), Statistica 7 (TIBCO Software Inc., США), IT Microcosm 7.3 (оригинальная программа, Россия), Microcosm BioS 18.1.9 (оригинальная программа, Россия),

Marvin 20.19 (ChemAxonKft., США), OpenBabel 2.3.2 (The Open Source Chemistry Toolbox, США), BestConf 17.10.24 (оригинальная программа, Россия), MOPAC2012 (URL: <http://openmopac.net/>), PyRx 0.8 [Dallakyan, 2015], LigPlot+ 2.2.5 [Laskowski, 2011], Prepdock (оригинальная программа, Россия), MSite (оригинальная программа, Россия), CorrConv (оригинальная программа, Россия), AutoDock Vina 1.1.1 [Trott, 2010], HyperChem 8.0.8 (URL: <http://www.hypercubeusa.com/>), Excel (URL: <http://www.microsoft.com/>), GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, США), DruLiTo (NIPER S.A.S. Nagar, India). Изображения графических интерфейсов некоторых из приведенных программ продемонстрированы на рисунках 2.2, 2.3.

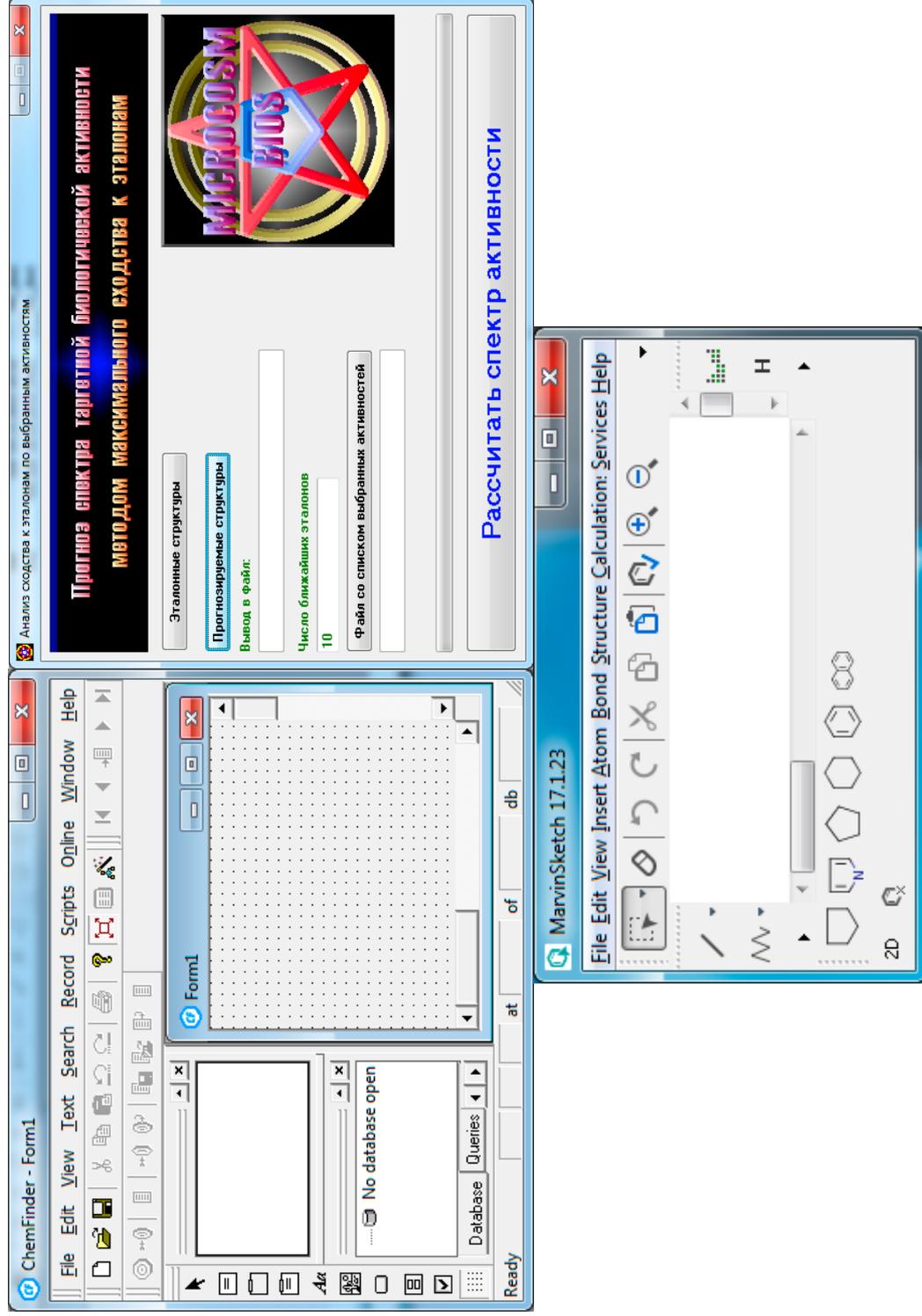


Рисунок 2.2 – Интерфейсы программ: ChemFinder, Microcosm Bios, MarvinSketch

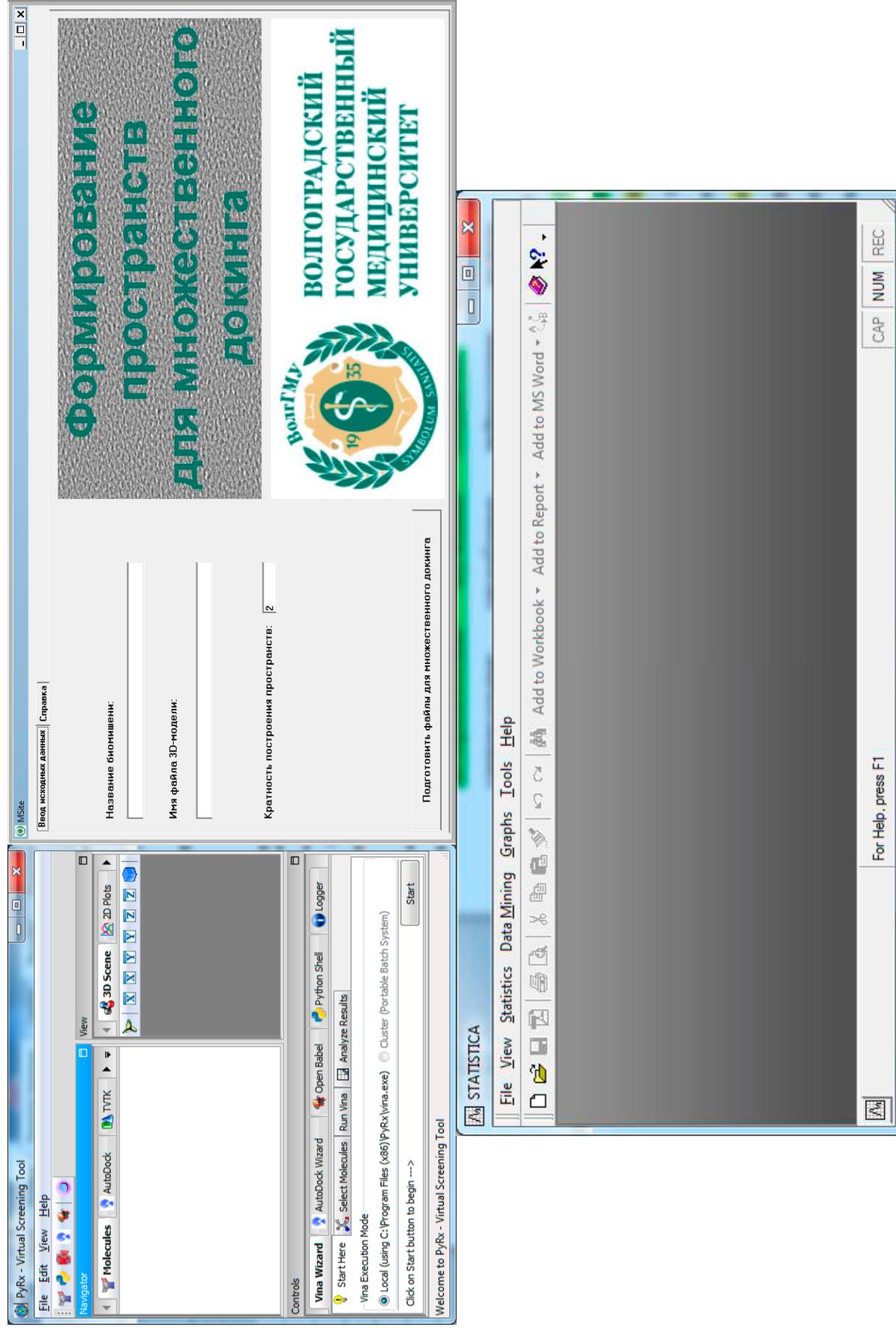


Рисунок 2.3 – Интерфейсы программ: PyRx, MSites, Statistica

Последовательная обработка данных, обучение искусственных нейронных сетей и анализ полученных результатов выполнялись на следующей компьютерной технике.

1. 6-ти ядерный персональный компьютер на базе процессора Intel Core i7-5930K 3.5GHz с 32 Гб оперативной памяти / GPU Kepler Tesla K20 – пиковой производительностью ~0.2 Тфлопс.

2. Два 6-ти ядерных персональных компьютера на базе процессора Intel Core i7-3930K 3.2 ГГц с 24 Гб оперативной памяти / GPU Kepler Tesla K20 – общей пиковой производительностью ~2.7 Тфлопс.

3. 64-х ядерный персональный суперкомпьютер гибридной архитектуры – 8 x 8 x Intel Xeon E7-8837 2.66 ГГц 8core / DDR3 256 Gb 1333 MHz / GPU PNY nVidia Tesla K40 / HDD 4x 4,0 Tb / OS Linux CentOS – пиковой производительностью ~2.8 Тфлопс.

4. 40-ка ядерный персональный суперкомпьютер гибридной архитектуры – 4 x 10 Intel Xeon E5-4650 v3 (Ivy Bridge) 2.40 ГГц 10core / DDR3 256 Gb 1866 MHz / 2 x GPU Kepler Tesla K20 / SSD 2 x 400 Gb / OS Linux CentOS – пиковой производительностью ~3.1 Тфлопс.

5. Суперкомпьютер кластерной архитектуры – 20 блейд-серверов CPU / 8 блейд-серверов CPU+GPU / 56 x Intel Xeon E5-2680 v2 2.80 ГГц 10core / DDR3 1.8 Tb 1600 MHz / 16 x GPU Kepler Tesla K40 / SSD 13.4 Tb Total / Infiniband FDR 56 Gbs / Система хранения данных Panasas ActiveStore 3 Gbs 154 Tb / OS Linux CentOS – пиковой производительностью ~31.2 Тфлопс.

Используемая для расчетов в диссертационном исследовании вычислительная техника включает 682 CPU, ее общая пиковая производительность составляет ~40 Tflops.

#### **2.2.4 Экспериментальные животные**

Эксперименты в настоящем диссертационном исследовании выполнены: на белых беспородных половозрелых самцах мышах, массой 20-25 г, получены из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России,

ветеринарное свидетельство № 19487 от 19.10.23 г. – 314 особей; на белых беспородных половозрелых самцах крысах, массой 230-300 г, получены из филиала «Столбовая» ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, ветеринарное свидетельство № 19754 от 18.12.23 г. – 18 особей. После заселения в виварий и до начала экспериментов процесс адаптации продолжался не менее 14 дней. В ходе исследования животные демонстрировали хорошее здоровье, без изменений в поведении, режиме сна и бодрствования, а также аппетита. Животные содержались в виварии согласно правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 351.000.3-96 и 51000.4-96) и приказу МЗ и СР РФ от 23 августа 2010 г. №708н «Об утверждении Правил лабораторной практики»; все условия соответствовали директивам 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г по охране животных, используемых в научных целях. Выполнение экспериментальных исследований было одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, регистрационный номер IRB 00005839 IORG 0004900 (OHRP), справка №2022/119 от 18.03.2022 г.

## **2.3 Методы исследования**

### **2.3.1 Формирование баз данных известных соединений с анксиолитической активностью**

В настоящей работе для последовательной обработки, анализа данных и создания верифицированной базы данных известных по 2D-структуре и градированному уровню анксиолитической активности химических соединений, экспериментально изученных мировым научным сообществом в различных методиках, использовались следующие компьютерные программы:

- 1) изображение и обработка структурных формул – программа ChemDraw пакета ChemOffice [CambridgeSoft, USA];
- 2) формирование и ведение химических баз данных – программа ChemFinder пакета ChemOffice [CambridgeSoft, USA];

- 3) конвертация различных форматов структур химических соединений – программа OpenBabel [O'Boyle, 2011];
- 4) кластерный анализ – программа Statistica [Hilbe, 2007];
- 5) общая обработка данных – MS Office Excel 2010 (URL: <http://www.microsoft.com/>).

Первичные данные по структуре и активности соединений, экспериментально проверенных мировым научным сообществом на анксиолитическую активность в различных методиках, были получены из международных поисковых ресурсов ChEMBL [Zdrazil, 2024], и PubChem [Kim, 2023]. Фрагмент файла формата \*.csv с первичной информацией по структуре, с данными об изучаемых параметрах в ходе тестирования и с дополнительной информацией об эксперименте по изучению анксиолитической активности известных соединений представлен в таблице 2.2. 2D-структуры найденных химических соединений были представлены в виде линейного кода SMILES (система упрощённого представления молекул в строке ввода – Simplified Molecular Input Line Entry System – SMILES) [Weininger, 1988].

Таблица 2.2 – Фрагмент таблицы с первичной информацией об изучаемых известных химических структурах, полученных из базы данных ChEMBL

<b>Molecule ChEMBL ID</b>	<b>Molecular Weight</b>	<b>Standard Type</b>	<b>Standard Relation</b>	<b>Standard Value</b>	<b>Standard Units</b>
CHEMBL243355	569.64	TIME	'='	0.01925	hr
CHEMBL1808416	571.72	TIME	'='	4	hr
CHEMBL260994	383.92	MED	'<'	2.5	mg kg-1
CHEMBL537684	467.01	ED50	'='	13	mg.kg-1
CHEMBL85770	317.44	MED			
CHEMBL86024	286.34	MED	'='	25	mg kg-1
CHEMBL307116	266.25	Spent time	'='	150.6	hr
CHEMBL157522	264.21	ED50	'='	4.5	mg.kg-1
CHEMBL12	284.75	Activity	'='	5.5	
CHEMBL153823	210.24	ED50	'='	2.3	mg.kg-1
CHEMBL294323	242.23	Activity			
CHEMBL561158	432.22	Activity			
CHEMBL346817	244.69	ED50	'='	8	mg.kg-1

С помощью программы MS Office Excel 2010 (URL: <http://www.microsoft.com/>) был выполнен предварительный анализ исходных данных, полученных из поисковых систем по биологически активным химическим соединениям. На этом этапе записи по каждому химическому соединению были последовательно отсортированы по молекулярной массе и наличию кодов SMILES.

В соответствии с концепцией drug-likeness, соединения с молекулярной массой менее 50 дальтон или более 1000 дальтон следовало исключить из базы данных. Кроме того, записи с чрезмерно большой молекулярной массой зачастую представлены смесями и полимерами, которые также следует удалить. Были удалены записи, не имеющие структурных кодов SMILES.

После удаления неполных и некорректных записей о химических соединениях с помощью программы MS Office Excel 2010 (URL: <http://www.microsoft.com/>) были выделены коды SMILES оставшихся записей и сформирован файл формата \*.smi, пример которого приведен на рисунке 2.4.

```

Lister - [c:\11\Anxio\01 Ligands\02 Testing\New InActive\02 SMILES\Smiles.smi]
Файл  Правка  Вид  Кодировка  Справка
CC(C)=CCC1=C(O)C(=O)c2ccccc2C1=O CHEMBL15193
COc1ccc(C(=O)N2CCN(c3ccccc3)CC2)cc1C#Cc1ccccc1 CHEMBL1645019
Cc1cccc(C#Cc2cc(F)cc(C#N)c2)n1 CHEMBL1784608
COc1ccccc1N1CCN(CC(O)CN2C(=O)NC(C)(c3ccc(F)cc3)C2=O)CC1 CHEMBL3302600
C1.Cn1c(=O)c2c(ncn2CCCCCN2CCN(c3ccccc3)CC2)n(C)c1=O CHEMBL3360999
COc1ccc(Cc2nc(O)c3c(C)nc([C@@H](CCCC4CCCCC4)[C@@H](C)O)n3n2)cc1OC CHEMBL370962
Cc1c(C(=O)N(C)Cc2ccccc2)c2ccccc2n2cnc(C(=O)OC(C)(C)C)c12 CHEMBL3809262
CCOC(=O)[C@]1(C#N)[C@@H](c2ccccc2)Cc2c(c3ccccc3n2C(=O)OC(C)(C)C)[C@@H]1CC=O
CHEMBL4645888
C#Cc1ccc2c(c1)C(c1ccccc1)=NCc1c(C(=O)OCC)ncn1-2 CHEMBL475022
CN(CCC=C1c2ccccc2C=Cc2ccccc21)C(CCO)C(=O)NCc1ccccc1 CHEMBL4849048
Cc1ccc(CNC(=O)C(CCO)N(C)CCC=C2c3ccccc3CCc3ccccc32)cc1 CHEMBL4854996
CC(C)CCC[C@@H](C)[C@H]1CC[C@H]2[C@@H]3C(=O)C=C4C=CCC[C@]4(C)[C@H]3CC[C@]12C
CHEMBL5086854
COc1cc(F)cc2c(N3CCN4c5c(F)cccc5OC[C@@H]4C3)c(C#N)nc12 CHEMBL5282643
C[C@H](C1CC1)n1cc(C1)nc(Nc2c(C1)cc(C(F)(F)F)cc2C1)c1=O CHEMBL550215
[O-][n+]1nc2c(I)cn2c2cc(OCc3ccccc3)ccc21 CHEMBL560437
CC[C@@H]1CCCCN1C(=O)c1cnc(Nc2ccc(C)nc2)c(C1)c1 CHEMBL593590
COc(=O)C1=CO[C@@H](O[C@H]2O[C@H](CO)[C@@H](O)[C@H]2O)[C@@H]2C([C@@H]3NCCc
4c3[nH]c3ccccc43)=CC[C@H]12 CHEMBL606760

```

Рисунок 2.4 – Фрагмент файла формул изучаемых известных соединений с анксиолитической активностью в формате кодов SMILES

Полученный файл с кодами SMILES был конвертирован в файл стандартного коммуникативного формата \*.sdf с помощью программы OpenBabel [O'Boyle, 2011].

Далее с помощью программы ChemFinder пакета ChemOffice [CambridgeSoft, USA] данные из файла формата \*.sdf были преобразованы в формат системы управления баз данных (СУБД) ChemFinder. В структуру первичной базы данных входит следующая информация и поля: «Structure» – структурная формула соединения; «Mol\_ID» – номер записи в базе данных; «Formula» – брутто-формула; «Mol Weight» – молекулярный вес; «Salt Component» – солевой остаток; «MolfileName» – название файла структуры формата \*.mol; «Code – Molecule ChEMBLID» – шифр соединения по базе данных ChEMBL; «Molecule\_Name» – название химического соединения; «Compound\_Key» – номер или название соединения в оригинальной статье; «Document\_ChEMBL\_ID», «Document Journal», «Document\_Year» – шифр публикации по базе данных ChEMBL, название журнала и дата публикации статьи, содержащей информацию по химическому соединению; «Activity» – название показателя активности, знак отношения к числовому значению, значение активности, единица измерения активности, валидность значения активности, комментарий по валидности значения активности; «Assay» – шифр экспериментальной методики по базе данных ChEMBL, экспериментальный организм, шифр клеточной линии по базе данных ChEMBL, описание методики; «Activity Processing» – шифры объединенных записей по экспериментальным животным и методикам; «Levels» – оценка уровня активности по данным кластерного анализа. Сформированная первичная база данных была визуально проверена экспертами химиками и фармакологами. Для всех записей, проводилась проверка химических формул, были проанализированы связи и валентности, а также развернуты многоатомные функциональные группы. Обработка химических формул выполнена в программе ChemDraw [CambridgeSoft, USA] пакета ChemOffice.

Были удалены записи, в которых указаны не интерпретируемые значения активности.

После проверки экспертами химической и биологической информации была сформирована первичная проверенная база данных.

С помощью СУБД ChemFinder [CambridgeSoft, USA] первичная база данных была проанализирована экспертами-фармакологами с целью унификации записей по виду регистрируемого показателя анксиолитической активности.

Унифицированная база данных была использована для кластерного анализа значений ED<sub>50</sub> анксиолитической активности соединений рабочей базы данных. Кластерный анализ был выполнен с помощью программы Statistica [Hilbe, 2007] методом k-средних с разделением на 3 класса активности: «high», «moderate», «low» (рисунок 2.5). Метки уровня активности «active» и «inactive» были определены на основе первичной информации.

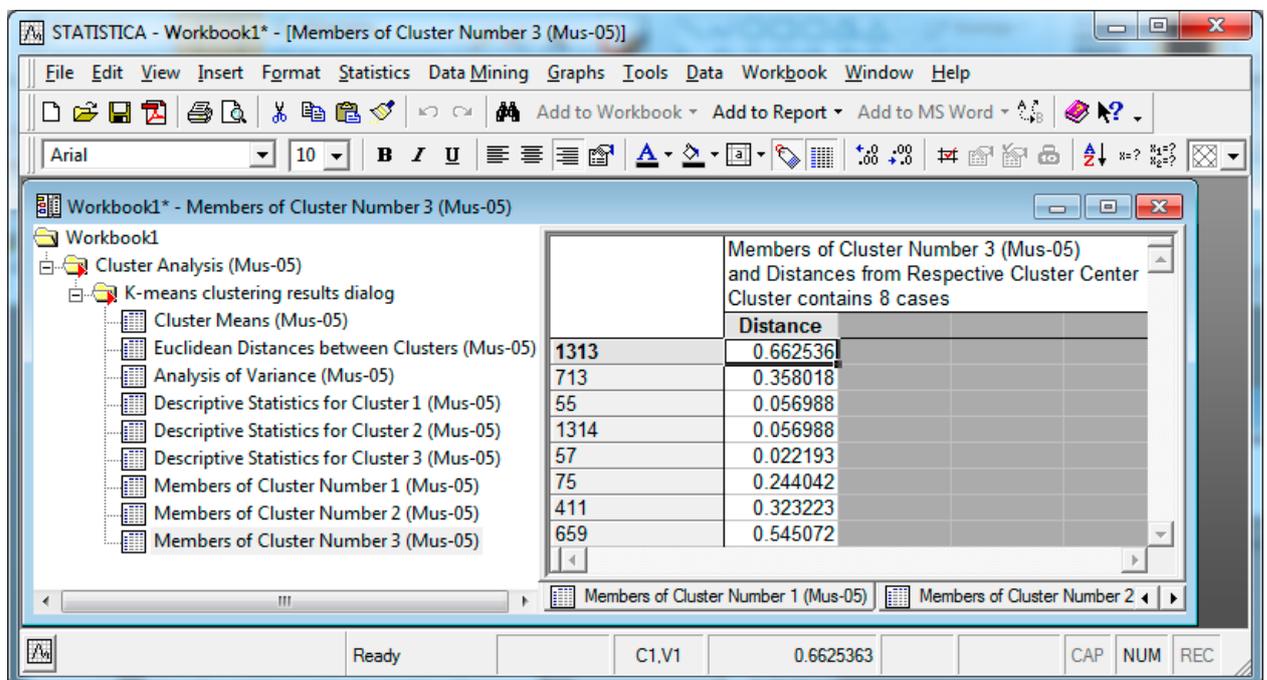


Рисунок 2.5 – Интерфейс программы Statistica с примером кластерного анализа

Полученные градированные метки уровня активности были занесены в рабочую базу данных, в соответствующее поле «Levels». Затем записи были отсортированы по градациям активности и представлены в виде файлов стандартного коммуникативного формата \*.sdf. Полученные на этом этапе файлы в формате \*.sdf последовательно импортировались в формате СУБД ChemFinder [CambridgeSoft, USA] в порядке убывания уровня активности «high» – «moderate» – «low» – «active» – «inactive».

Затем база данных с градированными метками анксиолитической активности проверялась на наличие дублирующих записей. Выявлялись и удалялись записи с совпадающими уникальными шифрами. Для этого из базы данных был экспортирован текстовый файл, содержащий номера записей Mol\_ID, а также информацию из полей «Code» и «Levels». Этот файл обрабатывался в программе MS Office Excel 2010 (URL: <http://www.microsoft.com/>). В случае нахождения дублирующей записи вычислялся средний уровень активности дублей, который вносился в новую версию поля «Levels» только для одной соответствующей записи. Были удалены записи с разными шифрами, но с одинаковой химической структурой. Записи-дубли с пустым новым полем «Levels» также удалялись. В результате была создана версия базы данных, состоящая из записей с уникальными шифрами «Code» и уникальными структурами.

После окончательной визуальной проверки записей на неточности и экспертного анализа была сформирована итоговая полная верифицированная база данных по химической структуре и градированному уровню анксиолитической активности известных, экспериментально изученных мировым научным сообществом химических соединений.

### **2.3.2 Построение и оптимизация 3D-моделей лигандов**

В ходе работы процедурам последовательной компьютерной обработки подвергалась следующая информация:

- 1) лиганды из полной впервые созданной верифицированной базы данных соединений с анксиолитической активностью;

2) селективные лиганды в отношении релевантных анксиолитической активности белков-мишеней, используемые в процессе валидации 3D-моделей биомишеней;

3) референсные препараты, используемых в терапии тревожных расстройств, а также формулы известных соединений, не вошедших в обучающую выборку, активность и химическая структура которых показана в открытых литературных источниках;

4) структуры новых синтезированных перспективных психотропных соединений 26 химических рядов.

Структуры соединений известных анксиолитиков из созданной верифицированной базы данных экспортировались в формате \*.sdf. Формулы соединений из референсных валидационных и прогнозных выборок были изображены вручную и конвертированы в формат \*.sdf с использованием программы ChemDraw [CambridgeSoft, USA]. С помощью методов молекулярной механики для каждой изучаемой структуры в программе MarvinSketch [ChemAxon Ltd, Hungary] были построены по 10 энергетически наиболее выгодных конформеров. Интерфейс программы MarvinSketch с примером оптимизации одного из лигандов приведен на рисунке 2.6.

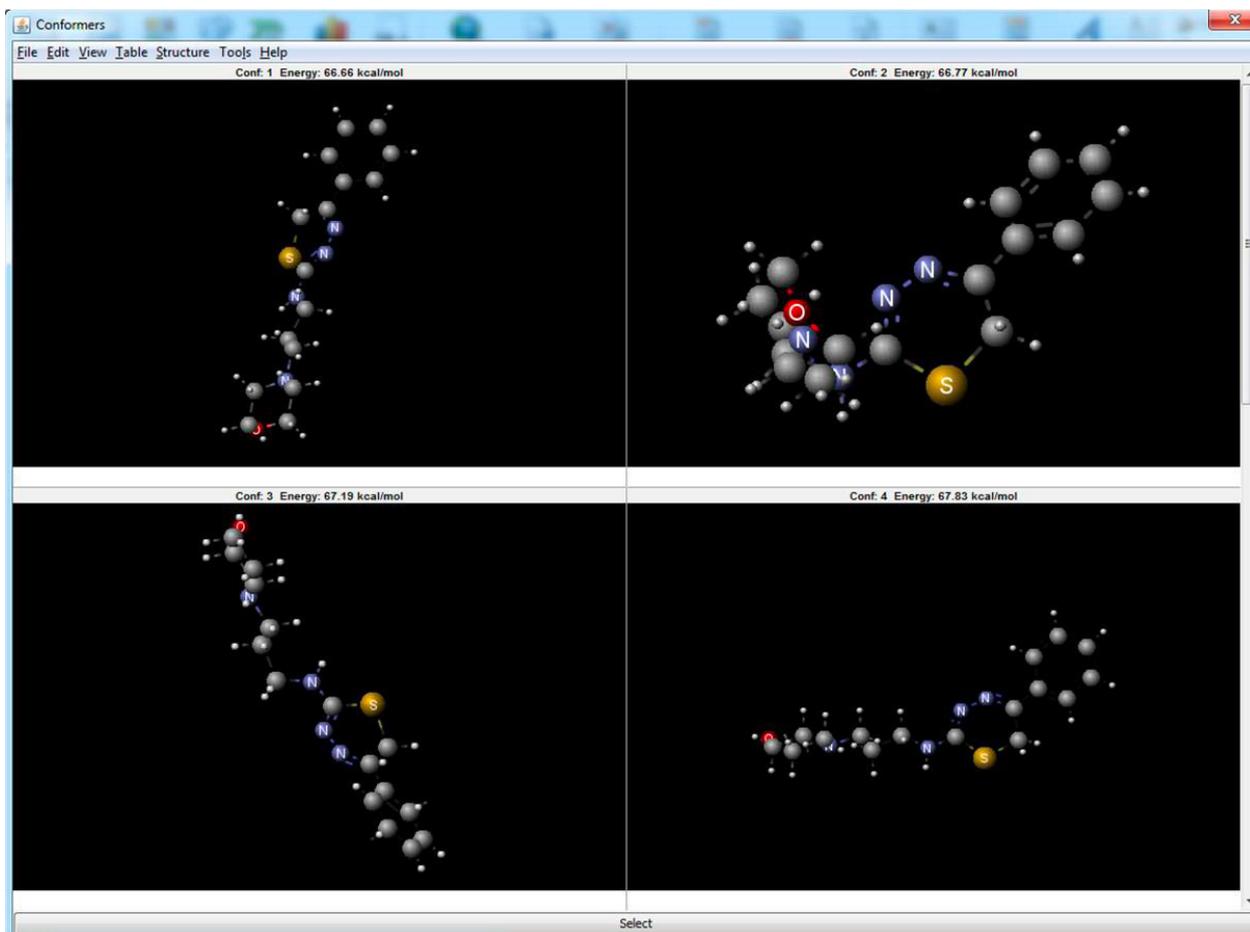


Рисунок 2.6 – Пример оптимизации 3D-структуры лиганда в программе MarvinSketch методом молекулярной механики с расчетом энергетически наиболее выгодных конформеров

Исходные файлы формата \*.sdf загружаются в программу MarvinSketch и после обработки создаются новые файлы \*-10.sdf, которые содержат по 10 полученных конформеров обрабатываемых соединений. Затем с помощью оригинальной программы sdf2mol, интерфейс которой приведен на рисунке 2.7, конформеры разделяются на одиночные файлы в формате \*.mol.

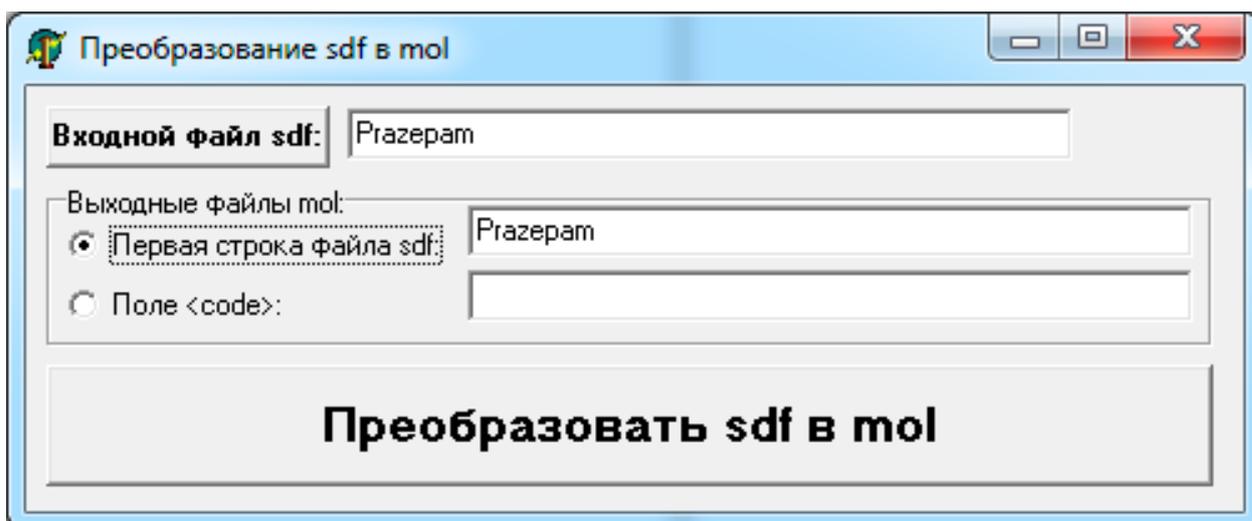


Рисунок 2.7 – Интерфейс программы sdf2mol

Далее все полученные конформеры были обработаны в программе MORAC2012 (URL: <http://openmorac.net/>). Для последующей оптимизации с применением полуэмпирического квантово-химического метода PM7 [Stewart, 2013] использовалось вспомогательное оригинальное программное обеспечение PperMorac, позволяющее подготовить требуемые файлы для запуска процедуры оптимизации в MORAC2012 в многопоточном режиме. Интерфейс программы PperMorac для подготовки файлов к оптимизации представлен на рисунке 2.8.

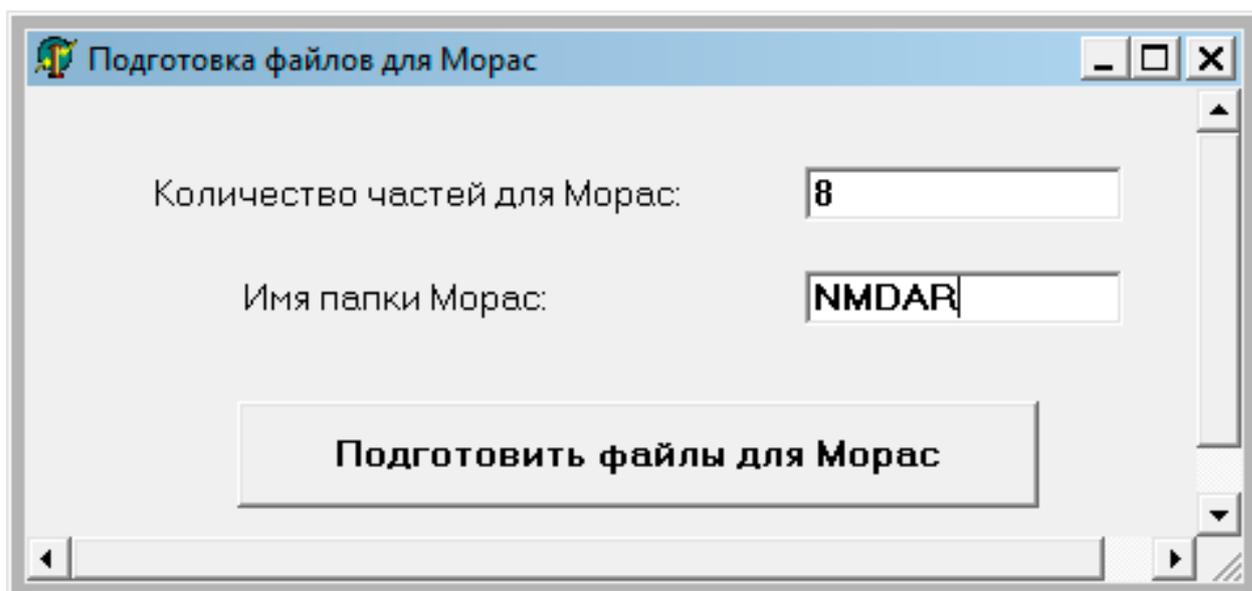


Рисунок 2.8 – Интерфейс программы PperMorac

При оптимизации входных файлов \*.mol создается соответствующий файл в формате \*.out, содержащий значение общей энергии молекулы (сумма электронной энергии и энергии отталкивания «CORE-CORE»). Далее с использованием оригинальной программы BestConf файлы \*.out анализируются и на каждое изучаемое соединение выбирается одна лучшая конформация с минимальной общей энергией. Файлы оптимизированных лигандов конвертировались с помощью утилиты OpenBabel [O'Boyle, 2011] из формата \*.out в рабочий формат \*.pdbqt для проведения докинга.

### **2.3.3 Выявление биомишеней, релевантных анксиолитической активности**

С помощью ресурса OpenTargets [Ochoa, 2023] был составлен изначальный список из белков-мишеней, ассоциированных с тревожными расстройствами. В системе OpenTargets осуществляется комплексный поиск на основе данных о генетической ассоциации с указанным заболеванием, известных соматических мутациях, известных лекарственных препаратах, затронутых патогенетических путях, литературе, экспрессии РНК и экспериментальных моделях на животных. Вместе с этим, был составлен список белков, связанных с анксиолитической активностью, отобранных с помощью системы IT Microcosm [Vassiliev, 2014] из оригинальной базы данных Microcosm Bios [Vasilyev, 2019; Vassiliev, 2023] (рисунок 2.9).

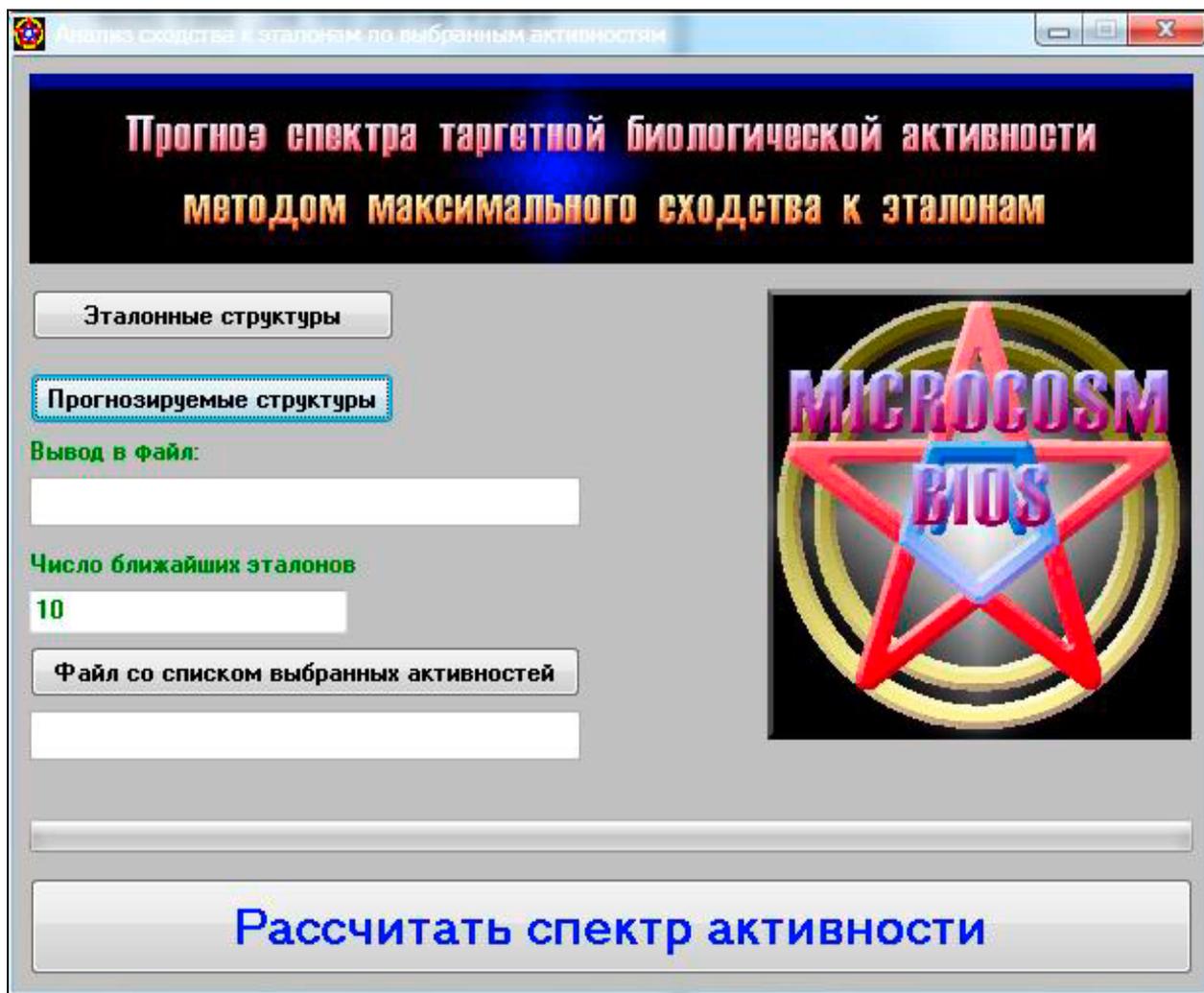


Рисунок 2.9 – Интерфейс программы Microcosm Bios из системы IT Microcosm для прогноза целевой активности

Из исходной созданной верифицированной базы данных анксиолитиков в формате \*.sdf были экспортированы соединения с высокой и умеренной активностью, структурно соответствующие отобранному ранее хемотипам. Из коммуникативного формата файлы были преобразованы в специальные форматы, представляющие собой совокупность структурных QL-дескрипторов, для работы в системе IT Microcosm [Vassiliev, 2014]. Прогноз целевой активности осуществлялся на основе структурного сходства отобранных изучаемых биомишеней со структурами известных соединений из оригинальной QSAR-базы Microcosm Bios [Vasilyev, 2019; Vassiliev, 2023], для которых имеются данные по целевой активности в

отношении белков человека. Схожесть химических структур оценивалась по значениям QL-модифицированного коэффициента сходства Танимото.

#### **2.3.4 Поиск и валидация 3D-моделей биомишеней, релевантных анксиолитической активности**

Для дальнейшей работы было необходимо найти 3D-модели для отобранных белков-мишеней, релевантных анксиолитической активности химических соединений. Поиск 3D-моделей осуществлялся в таких базах данных, как UniProt [Coudert, 2023; UniProt Consortium, 2023], PDBe [Armstrong, 2020] и SWISS-MODEL [Waterhouse, 2018]. Дополнительно рассматривались теоретические модели, построенные с помощью сервиса AlphaFold2 [Jumper, 2021]. Предпочтение при выборе отдавалось экспериментальным моделям, полученным с помощью рентгеноструктурного анализа или криоэлектронной микроскопии. Выбор осуществлялся на основе нескольких критериев валидности экспериментальных 3D-моделей белков-мишеней, таких как: 1) максимальная длина смоделированной аминокислотной последовательности; 2) высокое разрешение; 3) минимальное число фрагментов. По этим критериям отбиралось не более 10 3D-моделей для каждого из белков. Пример отбора 3D-моделей можно увидеть на рисунке 2.10.

**Structure**



SOURCE	IDENTIFIER	METHOD	RESOLUTION	CHAIN	POSITIONS	LINKS
-- Select --		-- Select --				
PDB	4IB4	X-ray	2.70 Å			<a href="#">PDBe</a> · <a href="#">RCSB-PDB</a> · <a href="#">PDBJ</a> · <a href="#">PDBsum</a> <a href="#">Foldseek</a>
PDB	4NC3	X-ray	2.80 Å			<a href="#">PDBe</a> · <a href="#">RCSB-PDB</a> · <a href="#">PDBJ</a> · <a href="#">PDBsum</a> <a href="#">Foldseek</a>
PDB	5TUD	X-ray	3.00 Å			<a href="#">PDBe</a> · <a href="#">RCSB-PDB</a> · <a href="#">PDBJ</a> · <a href="#">PDBsum</a> <a href="#">Foldseek</a>
PDB	5TVN	X-ray	2.90 Å			<a href="#">PDBe</a> · <a href="#">RCSB-PDB</a> · <a href="#">PDBJ</a> · <a href="#">PDBsum</a> <a href="#">Foldseek</a>
PDB	6DRX	X-ray	3.10 Å			<a href="#">PDBe</a> · <a href="#">RCSB-PDB</a> · <a href="#">PDBJ</a> · <a href="#">PDBsum</a> <a href="#">Foldseek</a>
PDB	6DRY	X-ray	2.92 Å			<a href="#">PDBe</a> · <a href="#">RCSB-PDB</a> · <a href="#">PDBJ</a> · <a href="#">PDBsum</a> <a href="#">Foldseek</a>
PDB	6DRZ	X-ray	3.10 Å			<a href="#">PDBe</a> · <a href="#">RCSB-PDB</a> · <a href="#">PDBJ</a> · <a href="#">PDBsum</a> <a href="#">Foldseek</a>
PDB	6DS0	X-ray	3.19 Å			<a href="#">PDBe</a> · <a href="#">RCSB-PDB</a> · <a href="#">PDBJ</a> · <a href="#">PDBsum</a> <a href="#">Foldseek</a>
PDB	7SRQ	EM	2.70 Å	R	36-405	<a href="#">PDBe</a> · <a href="#">RCSB-PDB</a> · <a href="#">PDBJ</a> · <a href="#">PDBsum</a> <a href="#">Foldseek</a>
PDB	7SRB	EM	2.90 Å	R	36-405	<a href="#">PDBe</a> · <a href="#">RCSB-PDB</a> · <a href="#">PDBJ</a> · <a href="#">PDBsum</a> <a href="#">Foldseek</a>

Рисунок 2.10 – Отбор экспериментальных 3D-моделей с использованием ресурса UniProt на примере серотонинового рецептора 5-HT<sub>1A</sub>

Для процедуры молекулярного докинга использовались по три 3D-модели на каждую из изучаемых биомишеней. Выбор наиболее подходящих точных 3D-структур белков был выполнен в процессе валидации 3D-моделей биомишеней, релевантных анксиолитической активности. На первом этапе валидации, по частоте встречаемости исследований, посвященных изучению заданной биомишени в контексте требуемой активности, делался общий вывод о вовлеченности мишени в ту или иную активность и ее связи с механизмом анксиолитического эффекта. После был выполнен поиск информации о структуре биомишени: требовалось установить, является ли белок мономерным или же он состоит из нескольких субъединиц. Одновременно с этим была найдена информация о ключевых аминокислотах специфических сайтов связывания всех релевантных белков.

После этого в системе IUPHAR [Harding, 2023] для каждого из релевантных белков были найдены известные высокоактивные селективные лиганды, которые обладают требуемым типом активности в отношении конкретного белка, соотносящимся с заданным психотропным

фармакологическим эффектом. Пример поиска лигандов на сайте IUPHAR приведен на рисунке 2.11.

Agonists							
Key to terms and symbols		View all chemical structures			Click column headers to sort		
Ligand		Sp.	Action	Value	Parameter	Reference	
CGS8216	 	Hs	Inverse agonist	10.3	pK <sub>i</sub>	8	▼
ZK93423	 	Hs	Partial agonist	9.0	pK <sub>i</sub>	2	▼
[ <sup>3</sup> H]muscimol	   	Hs	Full agonist	-	-		▼
isoguvacine	 	Hs	Full agonist	-	-		▼
isonipectic acid	  	Hs	Agonist	-	-		▼
muscimol	 	Hs	Full agonist	-	-		▼
piperidine-4-sulphonic acid	 	Hs	Full agonist	-	-		▼
gaboxadol	  	Hs	Agonist	-	-		▼

Antagonists					
Key to terms and symbols		View all chemical structures		Click column headers to sort	
Ligand		Sp.	Action		
bicuculline	  	Hs	Antagonist		▼
[ <sup>3</sup> H]gabazine	   	Hs	Antagonist		▼
gabazine	 	Hs	Antagonist		▼

Channel Blockers						
Key to terms and symbols		View all chemical structures			Click column headers to sort	
Ligand		Sp.	Use-dependent	Voltage-dependent (mV)		
picROTOXIN	  	Hs	no	no		
TBPS	 	Hs	no	no		
[ <sup>35</sup> S]TBPS	   	Hs	no	no		▼

Рисунок 2.11 – Пример поиска селективных лигандов для  $\alpha 1$  субъединицы ГАМК<sub>A</sub>-рецептора в системе IUPHAR

2D-структуры активных лигандов были получены из базы данных PubChem [Kim, 2023]. Затем в оригинальной QSAR-базе системы Microcosm BioS [Vasilyev, 2019; Vassiliev, 2023], были найдены неактивные лиганды, структурно схожие с отображенными активными соединениями из системы IUPHAR [Harding, 2023]. Для каждого из высокоактивных селективных соединений-эталонов было найдено по одному наиболее точно совпадающему неактивному структурному эквиваленту в отношении той же заданной биомиссии. Все найденные лиганды последовательно оптимизировались в программах MarvinSketch [ChemAxon Ltd, Hungary] и MOPAC2012 (URL: <http://openmopac.net/>) по схемам, представленным выше.

Все активные и структурно сходные с ними неактивные лиганды были докированы в специфические сайты связывания всех отобранных 3D-моделей релевантных белков с использованием программы AutoDock Vina [Trott, 2010]. Схема молекулярного ансамблевого докинга будет детально описано ниже.

Метрикой валидности 3D-моделей белков-мишеней служили характеристики на основе разности минимальных энергий докинга  $\Delta E$  для активных и неактивных стандартных лигандов. Были рассчитаны сумма, среднее, урезанное среднее, медиана, а также суммы этих характеристик. Предполагается, что взаимодействие адекватной 3D-модели с активным лигандом более энергетически выгодно, нежели взаимодействие с неактивным. По совокупности оценок были отобраны по три наиболее лучшие 3D-модели для каждого белка-мишени, релевантного анксиолитической активности.

### **2.3.5 Ансамблевый и множественный докинг**

Процедура докинга начиналась с точного определения координат специфического сайта связывания в 3D-моделях изучаемых белков. Расположение и аминокислотный состав сайтов связывания в изучаемых мишенях были найдены в литературе, которая была посвящена исследованиям о точечных аминокислотных мутациях в белках или молекулярному моделированию связывания лигандов с соответствующими белками. Кроме того, аминокислоты, обуславливающие связывание лигандов в экспериментальных 3D-моделях белков, выявляли с помощью программы LigPlot+ [Laskowski, 2011]. Эти подходы позволили обеспечить надежность определения локализации сайтов связывания и получить достоверные перечни ключевых связывающих аминокислот.

Исходные файлы формата \*.ent, полученные в базах данных PDBe [Armstrong, 2020] и SWISS-MODEL [Waterhouse, 2018], конвертировались в формат \*.pdb с использованием программы OpenBabel [O'Boyle, 2011]. В случае сложной геометрии структуры или наличия большого числа

дополнительных лигандов в составе белкового комплекса, использовалась программа Chem3D [CambridgeSoft, USA] для сохранения 3D-модели в файле формата \*.pdb. В режиме текстового редактирования из файлов \*.pdb удалялись данные обо всех низкомолекулярных соединениях. После этого, файл с данными о белковой структуре загружался в программу PyRx [Dallakyan, 2015] (рисунок 2.12).

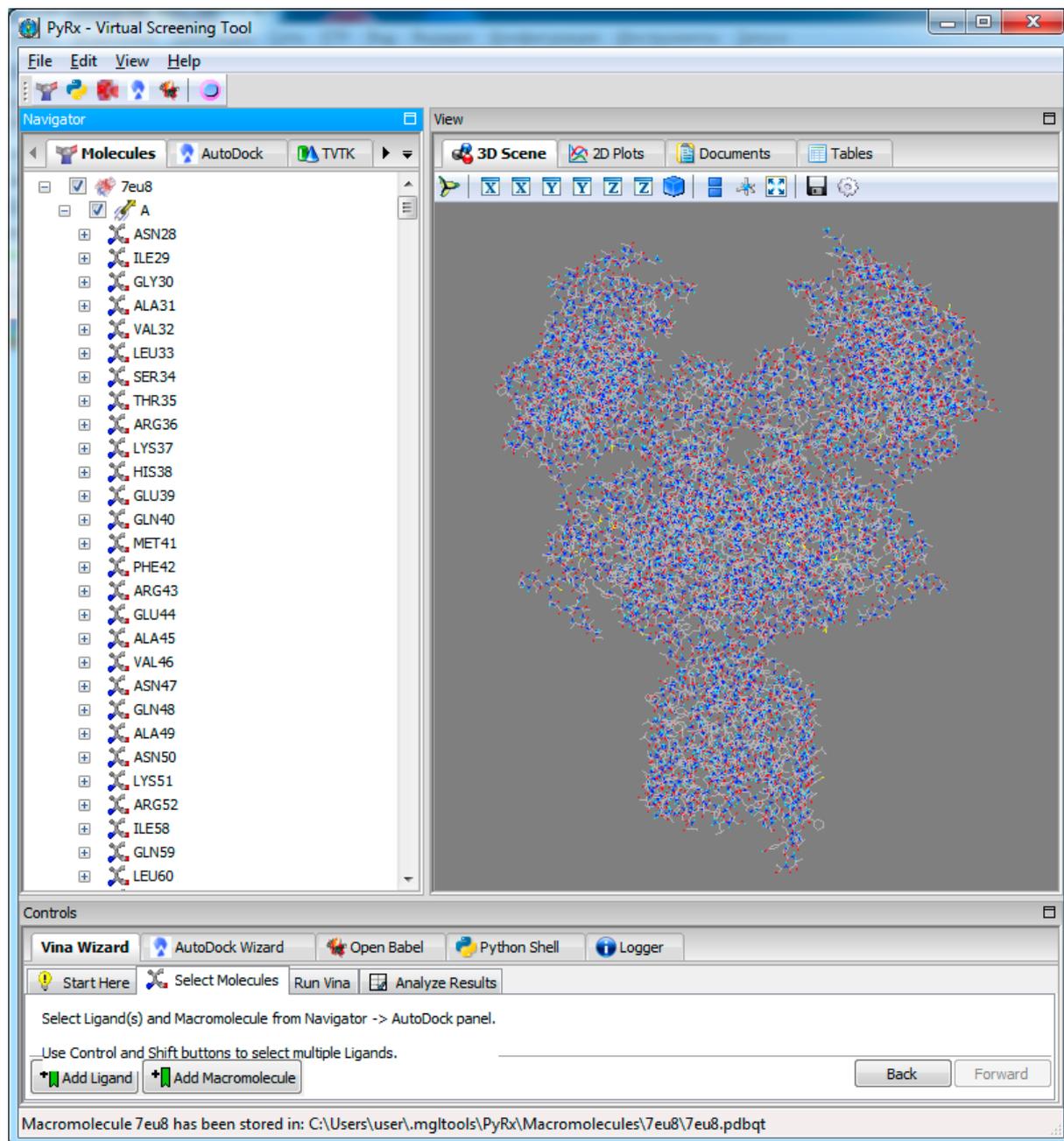


Рисунок 2.12 – Интерфейс программы PyRx 0.8 с анализом 3D-модели NMDAR, код модели 7eu8

По данным о ключевых связывающих аминокислотах в специфических

сайтах 3D-моделей белков, релевантных анксиолитической активности, полученным из литературных источников или с помощью программы LigPlot+ [Laskowski, 2011], в программе PyRx [Dallakyan, 2015] формировались пространства для докинга. Пример непосредственного выделения аминокислот и формирования пространства для последующего докинга приведен на рисунке 2.13.

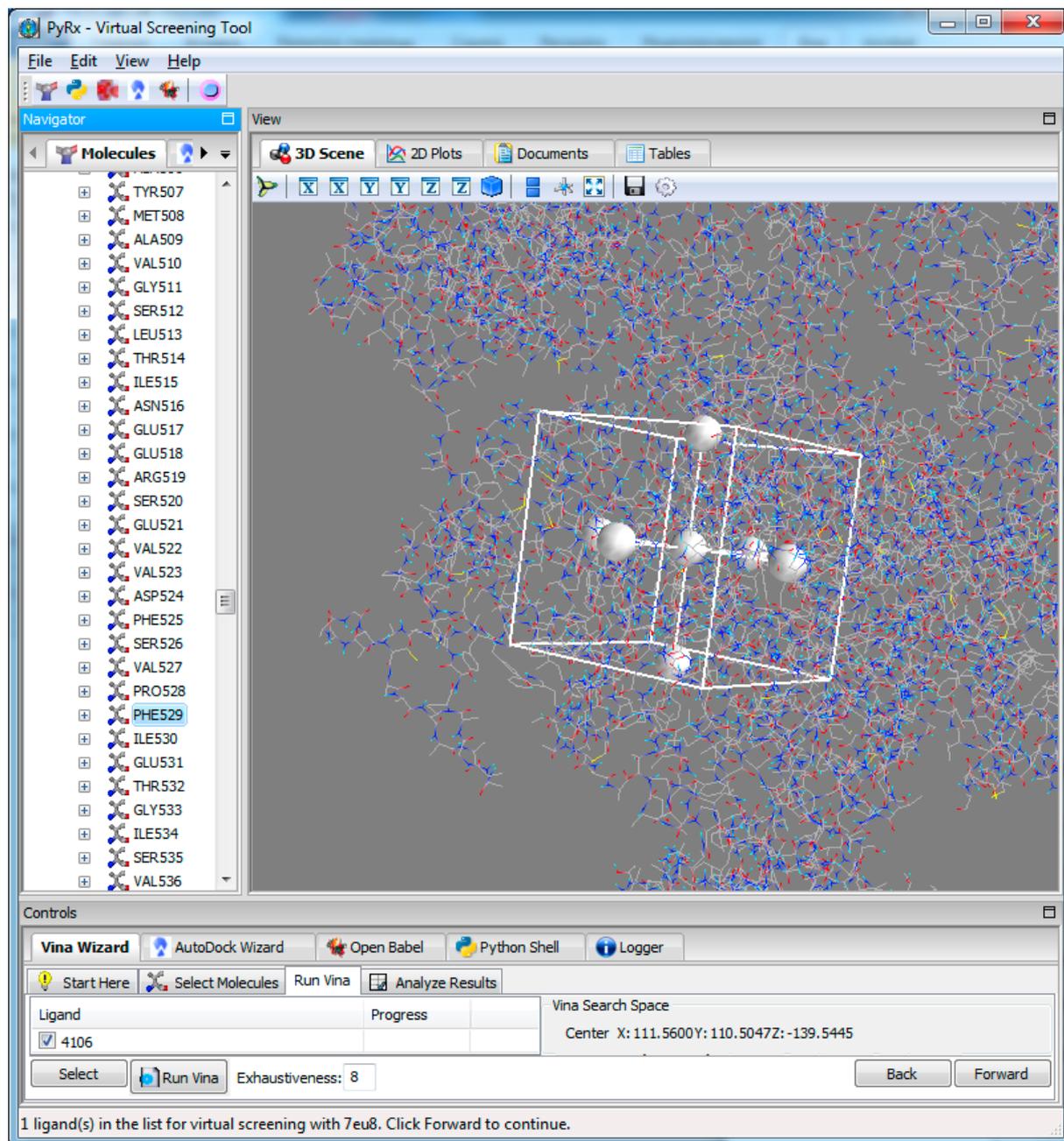


Рисунок 2.13 – Выделение ключевых аминокислот сайта связывания и определение его координат в программе PyRx на примере 3D-модели NMDA рецептора, код модели 7eu8

Полученные в ходе работы с программой PyRx файлы белков в формате \*.pdbqt, а также файлы с координатами связывающего сайта conf.txt были загружены в оригинальную программу PrepDock, интерфейс которой показан на рисунке 2.14, для подготовки докинга в многопоточном режиме.



Рисунок 2.14 – Интерфейс программы PrepDock

Ансамблевый молекулярный докинг оптимизированных 3D-структур всех исследуемых соединений проводился для каждого найденного сайта соответствующей валидной трёхмерной модели биомишени, связанной с анксиолитической активностью. Докинг каждого лиганда в каждую из трех валидных 3D-моделей белка выполняли по пять раз, каждый раз рассматривая по 10 энергетически наиболее выгодных конформаций в сайте связывания. По полученным 150 значениям вычисляли минимальное значение энергии докинга  $\Delta E$ .

Таким образом, выполнялся классический простой докинг, при котором одновременно рассчитывается энергия взаимодействия одного соединения-лиганда с одним белком в строго специфичном сайте связывания. Этот подход является широко распространённым и одним из наиболее популярных компьютерных методов в *in silico* исследованиях фармакологических веществ. Однако этот метод имеет много ограничений, а модели, которые построены только на минимальных энергиях такого докинга, могут иметь довольно низкую точность [Chen, 2015 A].

Расчёт значений энергии докинга для множества областей,

охватывающих весь объём белка-мишени, обеспечивает значительно более адекватное моделирование влияния совокупности молекул лиганда на белок целиком и повышает статистическую достоверность оценки аффинности докируемых структур к выбранной биомишени. В этом случае рассчитываются энергии взаимодействия лиганд-белок по всей поверхности биомишени, в результате чего получается не единственное значение энергии докинга как метрики аффинности, а многомерный спектр значений энергии докинга. В данной работе этот подход впервые демонстрируется на примере прогноза активности в отношении рецептора  $\gamma$ -аминомасляной кислоты А-типа (ГАМК<sub>A</sub>-рецепторе). На рисунке 2.15 схематически представлены  $3 \cdot 3 \cdot 3 = 27$  пространств для множественного докинга, покрывающие весь объём белка.

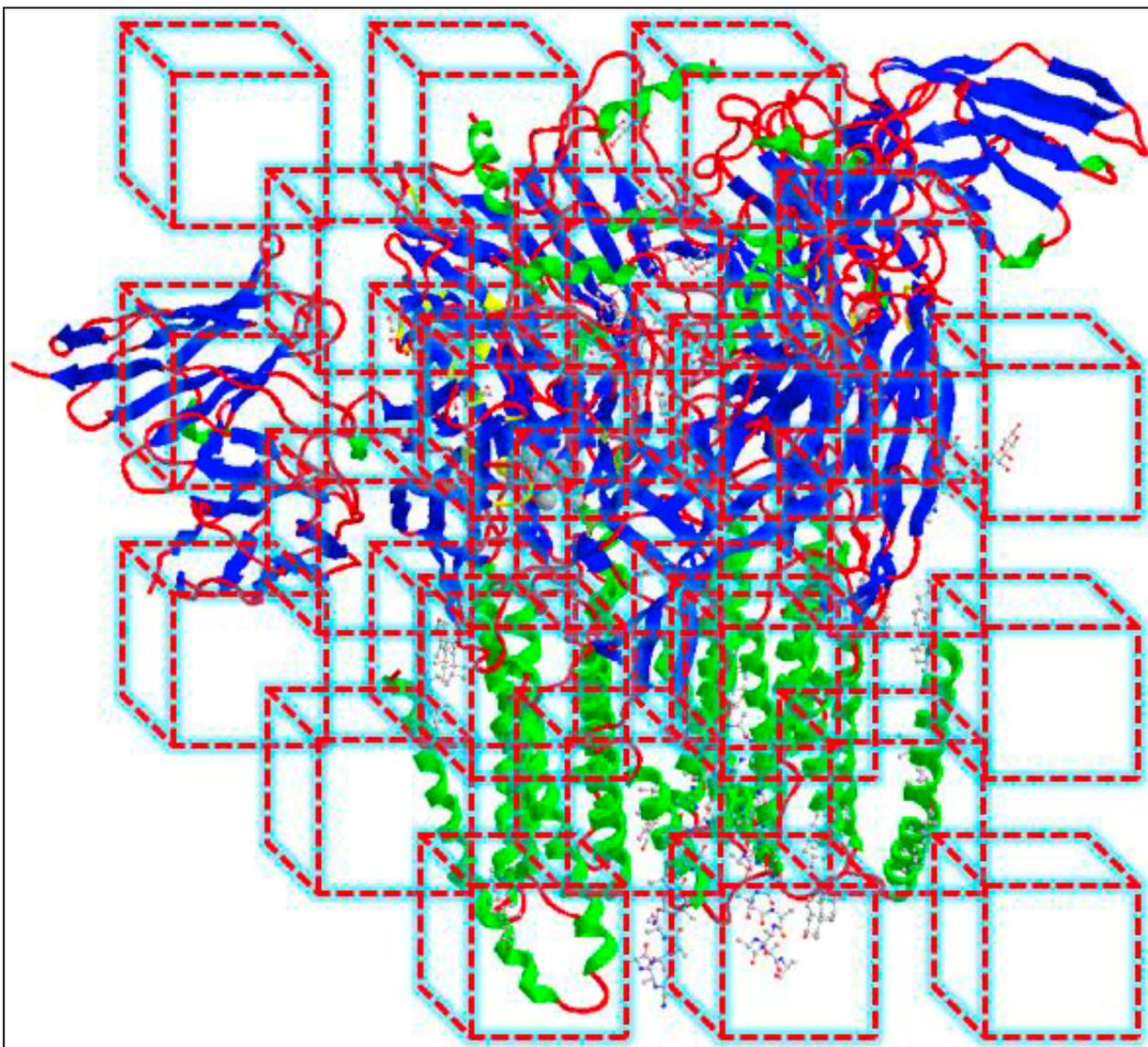


Рисунок 2.15 – Схематическое изображение 27 пространств для множественного докинга, покрывающих 3D-модель ГАМК<sub>A</sub>-рецептора, экспериментальная модель с кодом 6d6t, 2 $\alpha$ 1-2 $\beta$ 2- $\gamma$ 2

Пространства для докинга строятся с помощью оригинальной программы MSite на основе минимальных и максимальных координат атомов, образующих белок; подробная схема построения и идеология метода изложены в работе [Васильев, 2021].

Впоследствии было решено провести множественный докинг на всех изучаемых белках-мишенях.

Весь докинг проводился в программе AutoDock Vina [Trott, 2010] в параллельных потоках с использованием суперкомпьютерного вычислительного кластера и оригинальных вспомогательных утилит. После

выполнения всех потоковых расчетов с использованием специального скрипта `sr.energy` на основе массивов всех значений минимальных энергий докинга формировались матрицы аффинности. Вывод данных по ходу докинга при работе программы AutoDock Vina в режиме командной строки продемонстрирован на рисунке 2.16.

```
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:      #
#                                                         #
# O. Trott, A. J. Olson,                                    #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and   #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461                                                    #
#                                                         #
# DOI 10.1002/jcc.21334                                     #
#                                                         #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.  #
#####

Output will be ..\..\Ligands\
Detected 12 CPUs
WARNING: at low exhaustiveness, it may be impossible to utilize all CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 58910256
Performing search ...
0%  10  20  30  40  50  60  70  80  90  100%
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
*****
```

Рисунок 2.16 – Выполнение докинга с использованием программы AutoDock Vina

### 2.3.6 Дескрипторное описание изучаемых химических соединений

С целью дополнительного описания химической структуры изучаемых соединений рассчитывались энергии 20 граничных занятых молекулярных орбиталей (МО) – Highest Occupied Molecular Orbital ( $E_{\text{HOMO}}$ ) и 20 граничных, незанятых молекулярных орбиталей – Lowest Unoccupied Molecular Orbital ( $E_{\text{LUMO}}$ ), а также набор фрагментных дескрипторов. Для расчета  $E_{\text{HOMO}}$ ,  $E_{\text{LUMO}}$  использовалась программа HyperChem (URL: <http://www.hypercubeusa.com/>), интерфейс которой представлен на рисунке 2.17. Фрагментные дескрипторы

рассчитывались с помощью системы IT Microcosm [Vassiliev, 2014].

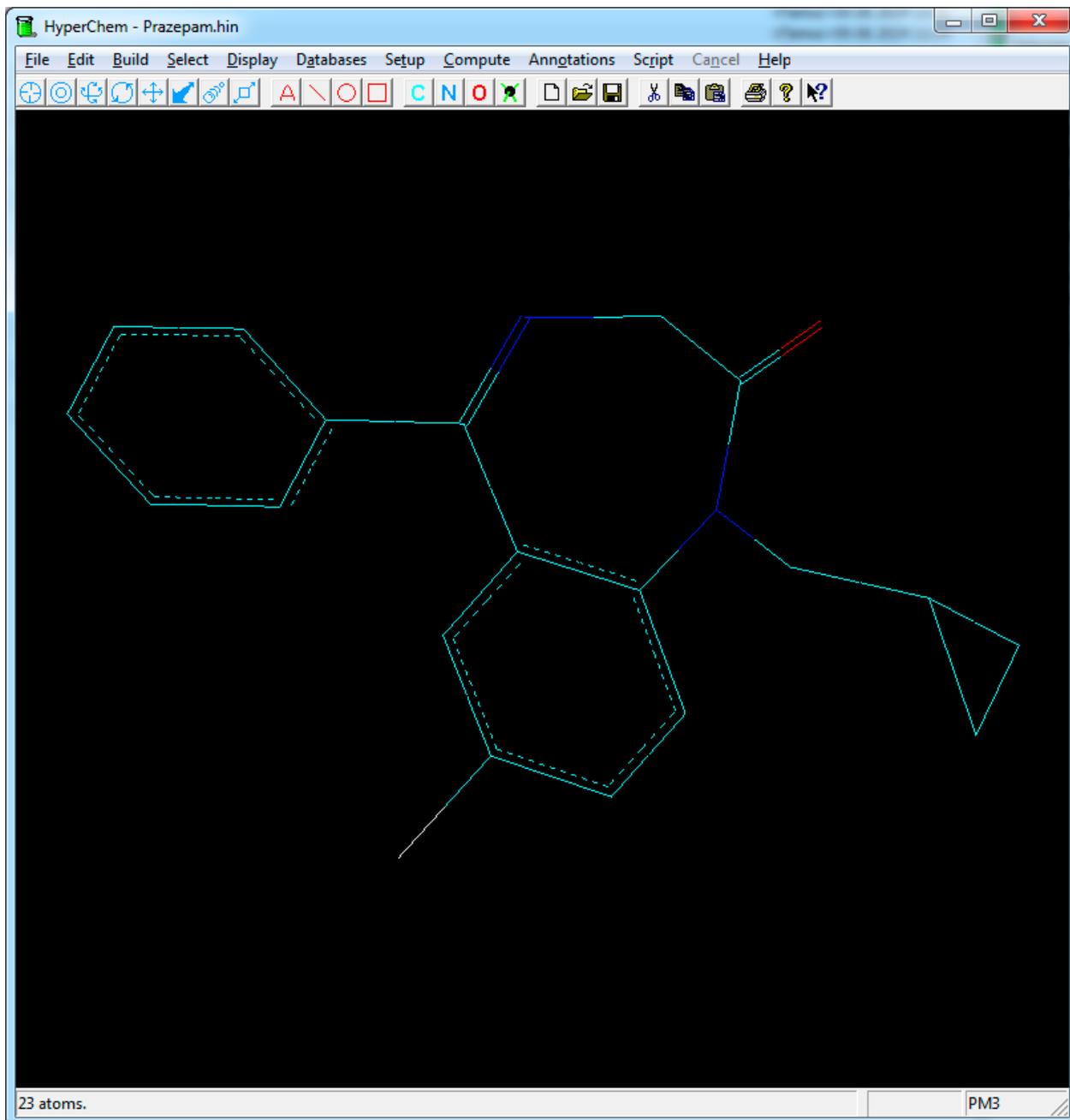


Рисунок 2.17 – Интерфейс программы HyperChem со структурой референсного препарата празепама

Полученные на предыдущих этапах универсальные файлы в формате \*.pdbqt с описанием 3D-структур химических соединений конвертировались в файлы формата \*.hin с использованием программы OpenBabel [O'Boyle, 2011]. Затем, эти файлы обрабатывались в программе HyperChem, и для каждого изучаемого соединения выполнялся расчет электронной структуры

соединения с помощью квантово-механического полуэмпирического метода PM3. В результате получались выходные файлы формата \*.ext, содержащие подробное молекулярно-электронное описание каждой химической структуры. С помощью оригинальной утилиты omoouto из \*.ext файлов формировались готовые таблицы, содержащие значения энергий молекулярных орбиталей.

В системе IT Microcosm рассчитывались фрагментные дескрипторы первого ранга языка QL: структурные дескрипторы, дескрипторы длины и дескрипторы связи. Фрагмент QL-дескрипторного описания на примере препарата диазепама можно увидеть в таблице 2.3.

Таблица 2.3 – Пример части фрагментного дескрипторного описания химической структуры препарата диазепама

<b>Дескриптор</b>	<b>Число дескрипторов в структуре соединения</b>
-NH2	0
>NH	0
-N<	1
-N=	1
>N+=	0
-OH	0
>O	0
=O	1
-O'	0
-SH	0
>S	0
=>S=	0
-F	0
-Cl	1
-Br	0
-I	0

### **2.3.7 Обучение нейросетей различной архитектуры и тестирование их точности**

Для обучения искусственных нейронных сетей (ИНС) формировались обучающие выборки. В основе этих выборок лежат матрицы аффинности, которые были получены при обработке результатов простого и

множественного молекулярного докинга. Матрица аффинности содержит значения энергий связывания лигандов с биомишенями, релевантными анксиолитической активности. При докинге в программе AutoDock Vina выполняется 10 повторений расчета энергии связывания лиганда и белка. В настоящей работе применялся ансамблевый подход, который заключался в пятикратном повторении процедуры для каждого лиганда в три наилучшие 3D-модели каждого изучаемого белка-мишени. Следовательно, в ходе подготовки матриц аффинности, обрабатывались исходные текстовые файлы, содержащие по 150 значений энергии докинга на каждую пару лиганд-белок. Итоговые версии таблиц с матрицами аффинности содержат минимальные значения энергии докинга лигандов. При анализе результатов ансамблевого мультитаргетного множественного докинга включался дополнительный этап по анализу 27 пространств каждой из трех моделей релевантных биомишеней. Изначально минимальные значения энергии вычислялись для отдельных построенных пространств. Однако такой подход привел к значительному увеличению размера обучающей выборки, которая уже не могла обрабатываться программами при обучении ИНС. Было принято решение использовать подход, применяемый в сверточных архитектурах ИНС. Для формирования обучающих выборок на основе спектров энергий множественного докинга была разработана процедура свертки входных данных на основе корреляции. Корреляционная свертка определяется следующей формулой:

$$W_l = \frac{1}{2} \sum_{\substack{i,j=1 \\ i \neq j}}^M R_{ij} \cdot X_{il} \cdot X_{jl}, \quad l=1 \dots N, \quad (15)$$

где  $R_{ij}$  – коэффициент корреляции Пирсона между переменными  $X_i$  и  $X_j$ ,  $i \neq j$ ;

$X_{il}$  – значение переменной  $i$  для наблюдения  $l$ ,  $l=1 \dots N$ ;

$X_{jl}$  – значение переменной  $j$  для наблюдения  $l$ ,  $l=1 \dots N$ ;

$M$  – число сворачиваемых переменных;

$N$  – число наблюдений (лигандов).

Подготовка обучающей выборки на основе корреляционной свертки значений энергий мультитаргетного множественного докинга выполнялась с помощью оригинальной программы CorrConv. Сначала файлы, содержащие выходные данные докинга со значениями энергий связывания, были специальным образом структурированы в текстовый формат \*.z27. Пример с изображением файла в формате \*.z27 приведен на рисунке 2.18.

Code	6x3x-001					6x3x-002					6x3x-003									
	6x3x-007					6x3x-014					6x3x-021									
x3x-013						6x3x-020					6x3x-027									
-019																				
5																				
SiteA	SiteA					SiteA					SiteA									
iteA	iteA					iteA					iteA									
teA	teA					teA					teA									
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1
2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2
CHEMBL100144	-7.5	-7.5	-7.6	-7.6	-7.6	-7.5	-8.1	-8.1	-8.2	-8.2	-7.7	-7.7	-7.4	-7.7	-7.7	-7.5	-7.5	-7.5	-7.5	-7.5
6	-7.4	-7.9	-7.7	-7.7	-7.7	-7.8	-10.3	-10.5	-10.5	-10.5	-10.5	-10.4	-10.3	-10.3	-10.4	-	-	-	-	-
10.5	-10.3	-7.8	-7.8	-7.7	-7.7	-7.8	-10.5	-10.3	-10.5	-10.5	-10.5	-10.3	-10.5	-10.5	-10	-	-	-	-	-
.5	-10.5	-10.5	-7.9	-7.6	-7.6	-7.8	-7.6	-8.5	-10.2	-8.5	-8.5	-10.2	-7.8	-7.8	-8.1	-	-	-	-	-
	-8.1	-8.0	-8.2	-8.2	-7.9	-8.1	-7.8	-10.3	-8.3	-10.5	-8.5	-10.3	-10.3	-8.5	-10.4	-	-	-	-	-
-10.5	-10.2	-9.0	-9.0	-9.1	-9.3	-9.2	-9.3	-9.4	-9.1	-9.4	-8.8	-10.5	-10.3	-10.4	-	-	-	-	-	-
10.3	-10.5	-7.5	-7.5	-7.6	-7.7	-7.6	-8.5	-8.5	-8.6	-8.5	-8.0	-8.0	-7.6	-8.1	-8.1	-	-	-	-	-
-8.9	-9.8	-9.9	-8.0	-9.9	-9.8	-9.8	-8.2	-8.7	-9.8	-9.9	-9.9	-8.1	-8.1	-8.1	-8.1	-	-	-	-	-
9.8	-9.9	-9.9	-9.9	-9.4	-9.9	-9.9	-8.5	-9.9	-10.0	-8.0	-8.0	-8.0	-7.6	-8.1	-	-	-	-	-	-
CHEMBL101045	-5.7	-5.0	-5.7	-5.3	-5.3	-5.3	-6.1	-6.0	-6.0	-5.8	-6.2	-5.7	-6.0	-5.9	-5.9	-	-	-	-	-
9	-5.5	-6.5	-6.4	-5.9	-6.4	-6.3	-7.7	-7.6	-7.4	-8.1	-7.9	-6.8	-8.0	-6.5	-6.8	-7.1	-	-	-	-
	-6.8	-6.2	-6.6	-6.3	-6.0	-6.6	-8.1	-7.3	-7.1	-7.0	-7.0	-7.7	-7.8	-7.9	-6.6	-6.2	-	-	-	-
-6.2	-6.1	-6.1	-6.2	-7.9	-7.2	-7.6	-7.8	-7.2	-6.2	-6.1	-5.6	-5.9	-6.2	-6.4	-6.6	-	-	-	-	-
6.7	-6.7	-6.8	-7.0	-6.7	-7.7	-6.8	-6.8	-7.5	-6.9	-6.9	-7.3	-6.8	-6.6	-6.8	-6.9	-7	-	-	-	-
.2	-7.2	-7.1	-6.7	-8.0	-6.6	-6.9	-7.1	-7.8	-8.1	-7.9	-6.3	-6.1	-6.4	-6.3	-6.0	-6.6	-	-	-	-
0	-7.1	-7.0	-7.1	-7.2	-7.1	-5.8	-5.8	-5.7	-5.7	-5.6	-8.3	-7.9	-8.2	-7.0	-7.6	-6.5	-	-	-	-
	-8.3	-6.7	-7.9	-7.8	-6.8	-6.7	-6.9	-6.4	-6.8	-6.7	-8.2	-8.1	-8.2	-7.9	-7.3	-6.6	-	-	-	-
-6.3	-6.7	-7.9	-6.4	-6.2	-6.3	-6.3	-6.4	-6.4	-6.8	-6.7	-8.2	-8.1	-8.2	-7.9	-7.3	-6.6	-	-	-	-
CHEMBL101304	-6.2	-6.2	-6.1	-6.2	-6.1	-7.0	-6.7	-6.7	-6.7	-6.7	-7.0	-6.7	-6.7	-6.6	-6.6	-8.7	-	-	-	-
7	-6.6	-6.5	-6.5	-6.5	-6.5	-8.0	-8.0	-8.0	-8.0	-8.0	-8.0	-8.7	-7.3	-7.9	-8.0	-8.0	-	-	-	-
	-6.5	-6.5	-6.5	-6.3	-6.5	-8.6	-8.0	-8.7	-8.0	-7.3	-8.0	-8.7	-8.0	-8.0	-8.6	-7.2	-	-	-	-
-7.2	-7.2	-7.1	-7.2	-8.0	-8.6	-8.0	-8.2	-7.2	-6.7	-7.0	-8.6	-6.7	-6.7	-7.0	-7.4	-	-	-	-	-
7.6	-8.2	-7.0	-6.9	-8.3	-7.0	-7.9	-8.0	-8.6	-6.9	-8.0	-6.9	-6.9	-7.1	-7.1	-7.1	-7	-	-	-	-
.1	-7.1	-8.6	-7.0	-8.0	-7.0	-8.0	-8.0	-8.7	-8.6	-8.0	-7.3	-7.0	-7.7	-6.6	-7.0	-7.6	-	-	-	-
0	-8.6	-8.0	-7.3	-8.0	-7.3	-7.0	-7.0	-6.9	-6.9	-6.9	-7.1	-7.6	-9.0	-7.6	-9.0	-7.6	-	-	-	-
	-7.6	-9.0	-9.0	-9.0	-8.6	-6.6	-6.6	-6.6	-6.6	-7.1	-7.1	-7.5	-9.0	-9.0	-9.0	-9.0	-	-	-	-
-7.6	-9.0	-7.2	-6.7	-6.7	-6.7	-6.7	-6.7	-6.7	-6.7	-6.7	-6.7	-6.7	-6.7	-6.7	-6.7	-6.7	-	-	-	-

Рисунок 2.18 – Пример со структурой файла \*.z27, модель GAVAR, код 6x3x

Полученные файлы загружались в программу CorrConv, в которой рассчитывались матрицы коэффициентов корреляции для каждой из биомошеней, а результаты выводились в итоговый текстовый файл формата \*.cd27, который содержит значения свертки.

В дополнение к дескрипторам межмолекулярного взаимодействия в часть обучающих выборок вносились данные о фрагментных и энергетических дескрипторах. Обработка данных и формирование

обучающих выборок выполнялась в программе MS Office Excel 2010 (URL: <http://www.microsoft.com/>).

Обучение ИНС проводилось в программе Statistica [Hilbe, 2007]. В качестве основной архитектуры ИНС выбирался двухслойный перцептрон MLP  $k$ - $m$ -2 с узким горлом, где  $k$  – число входных нейронов;  $m$  – число скрытых нейронов, зависимое от структуры обучающей выборки, поскольку  $2 < m < k$ . Входными нейронами выступали минимальные энергии докинга,  $E_{НОМО}$ ,  $E_{LUMO}$ , а также индексы наличия различных фрагментных дескрипторов. Выходными нейронами служили бинарные метки по выраженному уровню анксиолитической активности: «high or moderate» / «not high or moderate» – hm/nhm. Окно интерфейса программы Statistica с загрузкой матрицы входных данных можно увидеть на рисунке 2.19. В программе Statistica данные из обучающих выборок разделяются для процедур обучения, тестирования и валидации. Каждой записи в обучающей выборке присваивается метка из категорий: «train», «test», «val». Данный процесс может быть реализован методом Монте-Карло с использованием генератора случайных чисел, однако в настоящей работе применен подход ограниченного бэггинга (bagging – сокращение от bootstrap aggregating). Была многократно использована одна и та же обучающая выборка, но в различных конфигурациях по указанным категориям. Полученные поднаборы данных называются сэмпингами. Каждая обучающая выборка разделялась на семь вариантов сэмпинга, с распределением меток «train», «test», «val» как 5:1:1 соответственно.

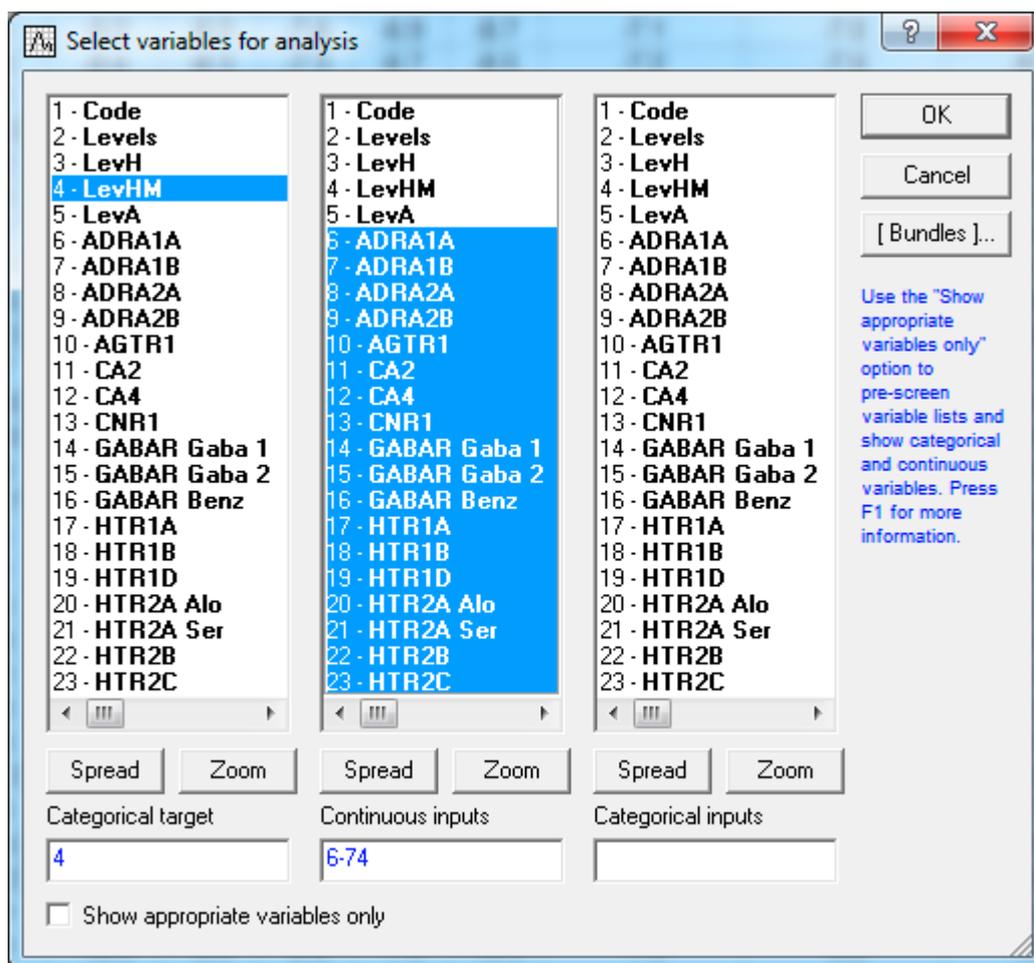


Рисунок 2.19 – Окно выбора переменных в программе Statistica

Число сетей для обучения устанавливалось для каждого сэмпинга в 2000 с автоматическим отбором по окончании цикла обучения 200 лучших сетей. Для подбора весов использовался алгоритм градиентного спуска с обратным распространением ошибки на основе кросс-энтропии. При построении ИНС в программе Statistica [Hilbe, 2007] для скрытого слоя использовались четыре активационные функции Identity, Logistic, Tanh, Exponential, а для выходного слоя – функция Softmax. Окно настроек обучения в автоматическом режиме показано на рисунке 2.20.

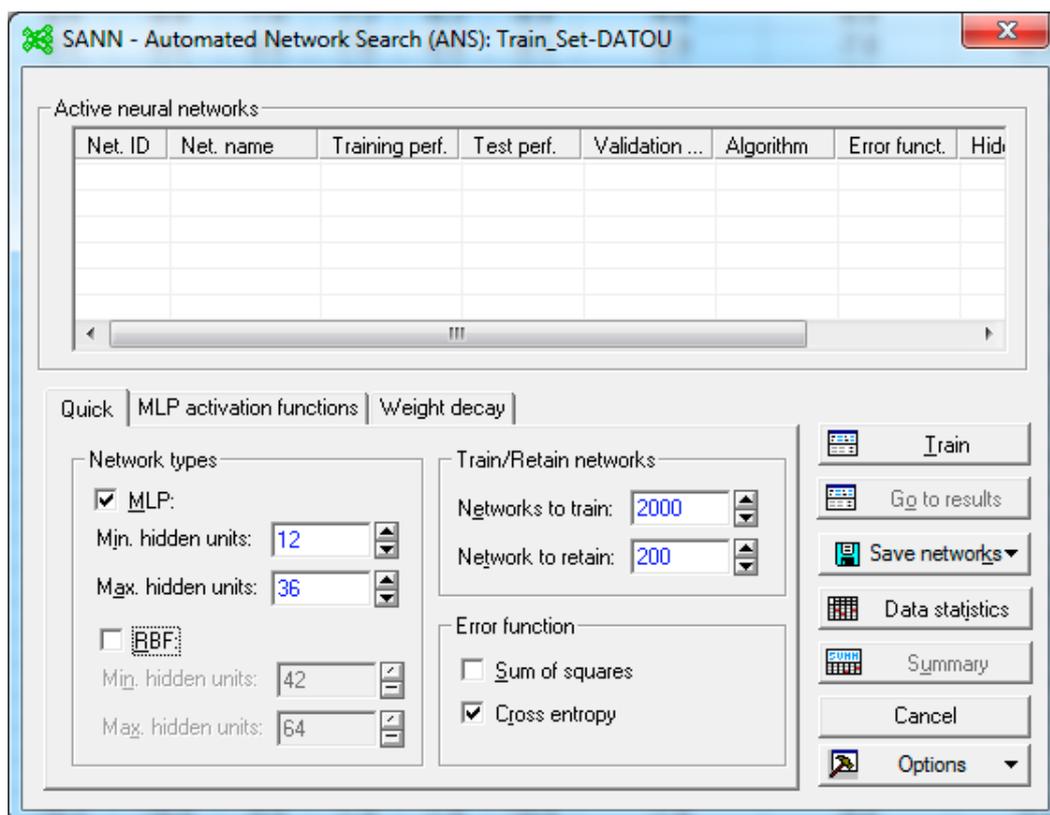


Рисунок 2.20 – Окно настроек в автоматическом режиме обучения в программе Statistica

После автоматического отбора на первом цикле обучения 200 нейросетей проводилось дополнительное обучение в ручном режиме. Начальные параметры устанавливались согласно результатам обучения лучшей сети, отобранной на предыдущем этапе. Нейросетевые модели описывались следующими параметрами: число нейронов в слоях; параметр алгоритма обучения Бройдена – Флетчера – Гольдфарба – Шанно (BFGS); тип функции ошибки; типы активационных функций скрытого и выходного нейронов. При этом задавалось обучение по 200 нейросетей на цикл. Интерфейс программы Statistica с процессом процедуры дополнительного обучения приведен на рисунке 2.21.

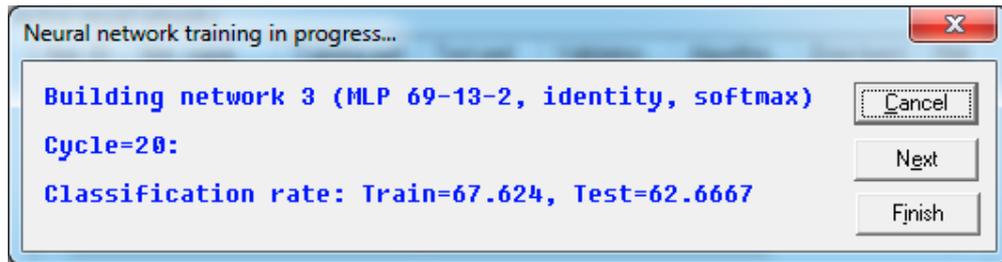


Рисунок 2.21 – Окно интерфейса процедуры дополнительного обучения многослойных перцептронных сетей в программе Statistica

По завершению итеративного обучения для заданного варианта сэмпинга из лучших отобранных программой нейросетей вручную отбиралась одна наилучшая. Выбор основывался на показателях ROC-анализа, а также на показателях точности прогноза на объединенной обучающей выборке. Пример с отбором нейросетей по точности классификации на объединенной обучающей выборке приведен на рисунке 2.22.

Workbook1\* - LevHM (Classification summary) (Train\_Set-DATOU)

Workbook1\*

- SANN (Train\_Set-DATOU)
  - STATISTICA NN Results Dialo
    - LevHM (Confusion matrix) (Train\_Set-DATOU)
    - LevHM (Classification summary) (Train\_Set-DATOU)

	LevHM (Classification summary) (Train_Set-DATOU)	
	Samples: Train, Test, Valid	
	LevHM-hm	LevHM-nhm
<b>Total</b>	271.0000	263.0000
Correct	179.0000	154.0000
Incorrect	92.0000	109.0000
Correct (%)	66.0000	58.0000
Incorrect (%)	33.0000	41.0000
<b>Total</b>	271.0000	263.0000
Correct	165.0000	185.0000
Incorrect	106.0000	78.0000
Correct (%)	60.0000	70.0000
Incorrect (%)	39.0000	29.0000
<b>Total</b>	271.0000	263.0000
Correct	176.0000	185.0000
Incorrect	95.0000	78.0000
Correct (%)	64.0000	70.0000
Incorrect (%)	35.0000	29.0000
<b>Total</b>	271.0000	263.0000
Correct	177.0000	159.0000
Incorrect	94.0000	104.0000
Correct (%)	65.0000	60.0000
Incorrect (%)	34.0000	39.0000
<b>Total</b>	271.0000	263.0000
Correct	185.0000	182.0000
Incorrect	86.0000	81.0000
Correct (%)	68.0000	69.0000
Incorrect (%)	31.0000	30.0000

LevHM (Confusion matrix) (Train\_Set-DATOU)

Рисунок 2.22 – Окно интерфейса с отбором нейросетей по точности классификации на объединенной обучающей выборке

Уровень значимости построенных нейросетевых моделей при автотестировании выполнялся при помощи биномиального критерия [Глотов, 1982].

Для независимого тестирования построенных нейросетевых моделей использовались внешние валидационные выборки. На первом этапе тестирования отбирались референсные соединения из известных препаратов, которые используются для лечения тревожных расстройств. Во втором этапе оценки точности прогноза нейросетей использовались соединения, информация о структуре и активности которых найдена в открытых

литературных источниках. Таблицы для всех соединений из валидационных выборок составлялись по схемам, описанным выше.

### **2.3.8 Прогноз анксиолитической активности новых соединений, выявление перспективных структур**

Прогноз анксиолитической активности новых соединений перспективных химических классов выполнялся на основе консенсуса с использованием нескольких подходов. Первым этапом консенсусного прогноза стало использование системы IT Microcosm [Vassiliev, 2014]. Изучаемые прогнозные соединения обрабатывались по схеме, описанной в разделе 2.3.2, и загружались в оригинальную программу Testing для расчета уровня анксиолитической активности на основе многоуровневого консенсуса четырех методов ML и трех стратегий прогноза по структурам соединений из впервые созданной верифицированной базы данных известных анксиолитиков. Интерфейс программы представлен на рисунке 2.23. Система IT Microcosm позволяет выполнять прогноз на основе нескольких математических методов с несколькими стратегиями принятия решений. В настоящей работе при прогнозе анксиолитической активности новых химических соединений использовался прогноз по консервативной стратегии, при которой происходит простое равнозначное голосование всех прогнозных оценок. Решение о наличии активности принимается на основе большинства голосов из ансамбля 44 оценок наличия или отсутствия активности.

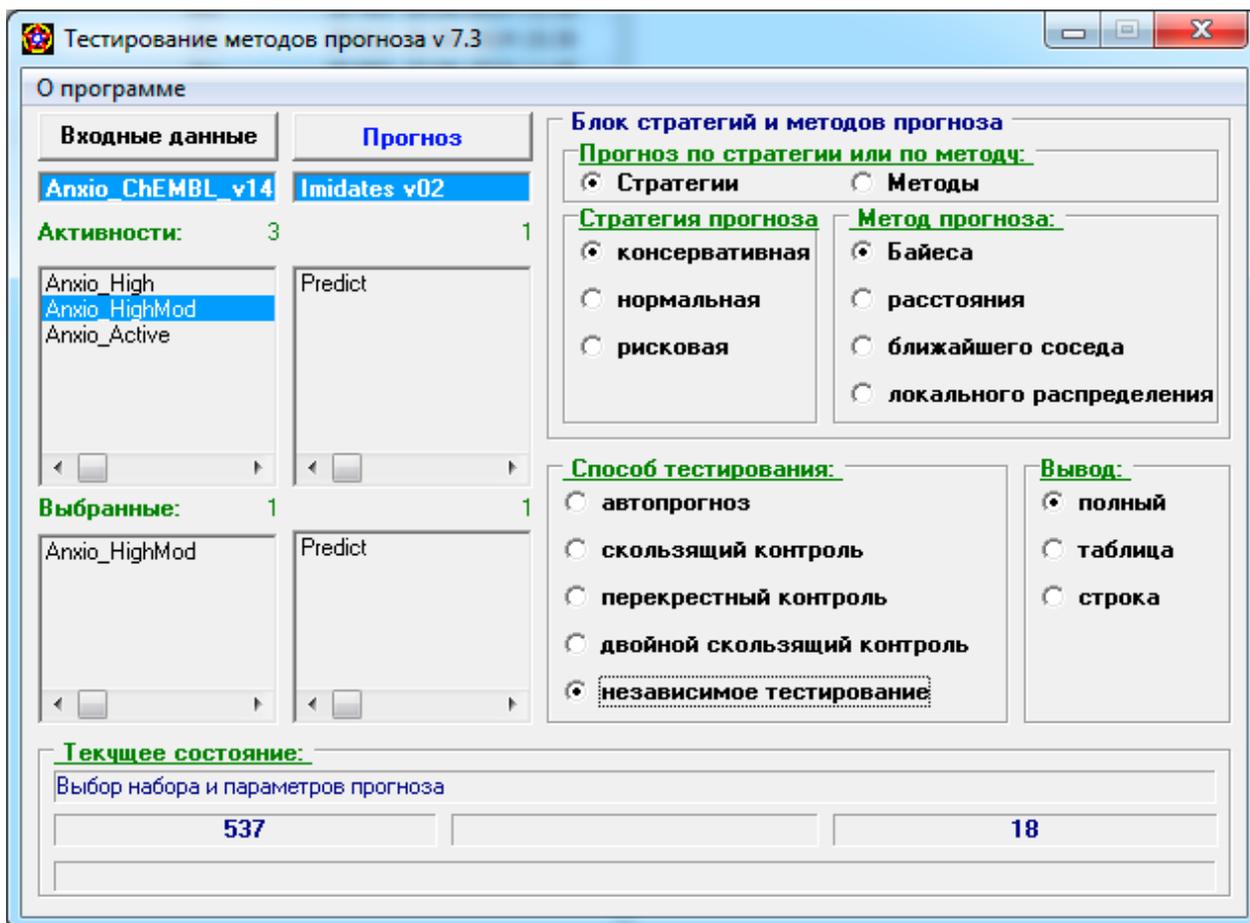


Рисунок 2.23 – Окно интерфейса программы Testing системы IT Microcosm с настройками прогноза одного из классов прогнозных соединений

Следующим подходом стало применение отобранных наилучших нейросетевых моделей. Для всех изучаемых прогнозных соединений выполнялся простой и множественный мультитаргетный ансамблевый докинг, а также рассчитывались значения и индексы дополнительных дескрипторов, по методикам, описанным ранее. Были составлены прогнозные выборки, аналогичные по структуре обучающим, которые загружались в программу Stastica [Hilbe, 2007]. Затем также загружались отобранные на предыдущем этапе наилучшие нейронные сети, и выполнялся прогноз выраженной анксиолитической активности новых синтезированных соединений перспективных химических классов.

В качестве дополнительного фильтра применялась ранее обученная ИНС для прогноза проницаемости химических соединений через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) [Васильев, 2023]. С помощью

программы DruLiTo [NIPER S.A.S. Nagar, India] рассчитывались 15 различных структурных и физико-химических параметров соединений. Интерфейс программы DruLiTo с примером расчета параметров изучаемых новых химических соединений приведен на рисунке 2.24.

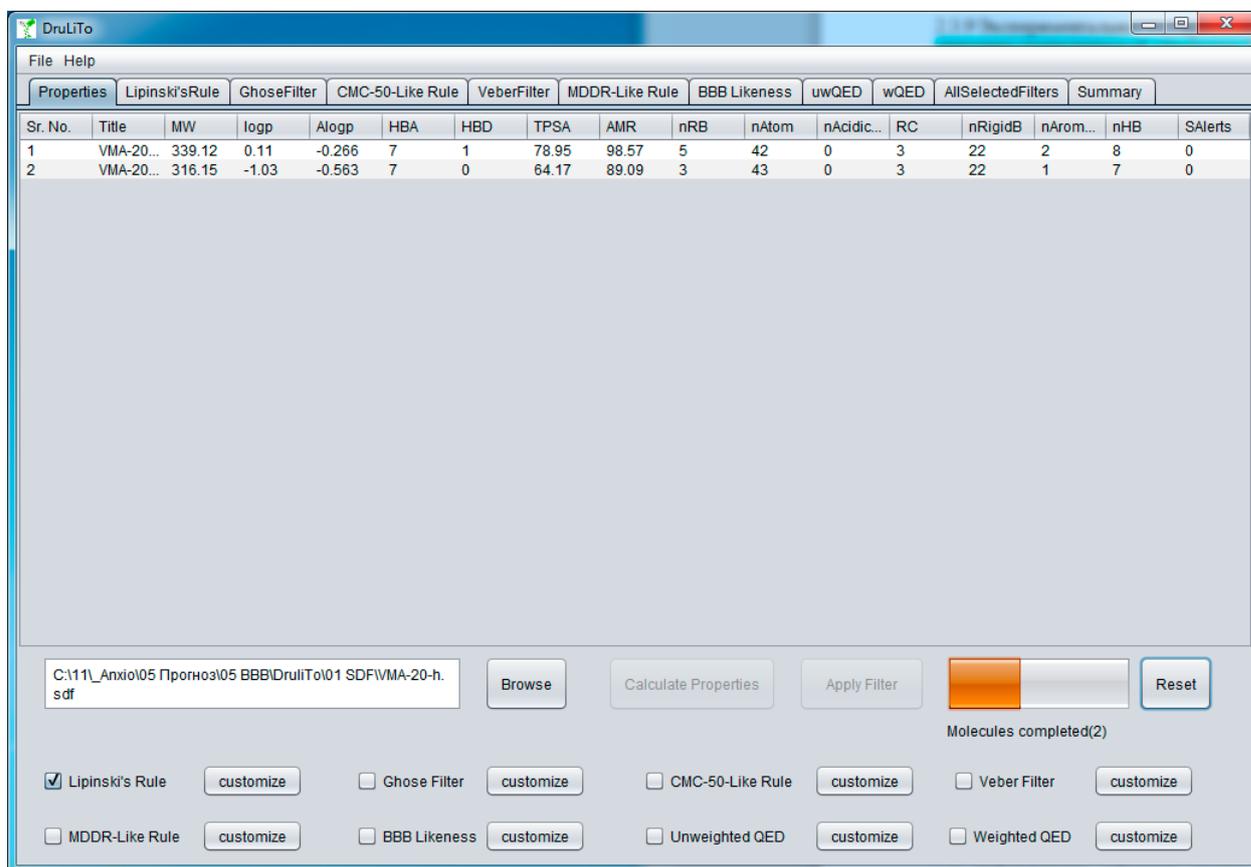


Рисунок 2.24 – Окно интерфейса программы DruLiTo с примером процесса расчета структурных и физико-химических параметров новых перспективных химических соединений

На основе этих данных формировалась прогнозная выборка, и выполнялся прогноз проницаемости химических соединений через ГЭБ в программе Statistica [Hilbe, 2007].

С помощью всех описанных ранее инструментов и нейросетевых моделей выполнялся обобщенный прогноз анксиолитической активности новых соединений структурно разнообразных химических классов. Субстанции соединений, прошедших через виртуальный консенсусный прогноз, направлялись для экспериментального изучения и сопоставления результатов *in silico* и *in vivo* скрининга. Последним этапом виртуального

скрининга стал расчет параметра полулетальной пероральной дозы ( $LD_{50}$ ) для мышей, который выполнялся в системе IT Microcosm с помощью программы Microcosm ADMET на основе прогноза активности по сходству изучаемых структур к эталонам по QL2-дескрипторам.

### **2.3.9 Экспериментальное тестирование перспективных по прогнозу соединений**

В соответствии с руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств [Миронов, 2012] выполнялись три экспериментальных метода изучения анксиолитической активности соединений, отобранных по результатам виртуального скрининга. Использовались методы ненаказуемого поведения «Темная/светлая камера», «Открытое поле» на белых нелинейных половозрелых мышах-самцах и методика наказуемого поведения «Наказуемое взятие воды по Vogel» на белых нелинейных половозрелых крысах-самцах. При выполнении экспериментов с исследуемыми субстанциями животные разделялись случайным образом на группы по 6 особей. Контрольным животным вводилась дистиллированная вода в объеме 0,1 мл на 10 г живой массы. В качестве препарата сравнения вводился диазепам. Все вещества вводились в виде водного раствора внутривентрикулярно (в/ж) атравматическим металлическим зондом в дозах, эквивалентных препарату сравнения; диазепам вводился в дозе 1 мг/кг. Субстанции и дистиллированная вода вводились животным за 30 минут до начала эксперимента.

В тесте «Темная/светлая камера» применялась установка из двух камер, разделенных непрозрачной перегородкой с переходом между ними (диаметр отверстия – 4 см). Размеры установки: 20 см × 20 см × 15 см. Светлая камера освещалась двумя лампами мощностью 300 люкс, которые размещались над установкой на высоте 25 см. В ходе теста регистрировались: латентный период – время, до первого перехода в темную камеру установки; общее число переходов между камерами установки; общее время, проведенное животным в светлой камере установки; выгладывания из темной камеры.

Вторым методом изучения ненаказуемого поведения стал универсальный тест «Открытое поле», который может также использоваться для изучения ориентировочно-исследовательского поведения, седативного и миорелаксирующего эффектов. В эксперименте использовалась установка из круглой арены диаметром 44 см и с высотой стенок 32 см. Дно арены равномерно разделено красными линиями на квадраты. На пересечениях линий находятся небольшие отверстия диаметром 1 см. Установка освещалась двумя лампами (300 люкс). В тесте «Открытое поле» в ходе 5-минутного наблюдения регистрировались показатели: латентный период – время до выхода из центра установки; горизонтальная двигательная активность – число переходов между квадратами установки; число выходов в центр установки; общее время в центре установки; вертикальная двигательная активность – число вертикальных стоек.

В тесте «Наказуемое взятие воды по Vogel» использовалась установка, представляющая собой камеру с непрозрачными стенками (5 см × 30 см × 20 см). На дне установки располагается решетка из нержавеющей стали, на крышке установлена поилка с металлической питьевой трубкой. В ходе выполнения методики к решетке и поилке прикрепляются электроды. Перед проведением теста животные подвергаются питьевой депривации на 48 часов. Подход животных к поилке в ходе эксперимента сопровождался электрической стимуляцией (0,1 мА, 1 с). В ходе 10-минутного теста регистрировалось время первого подхода к поилке, а также число подходов крыс к поилке.

Полученные в ходе экспериментов результаты обрабатывались и анализировались по схеме, описанной в работе [Перфильев, 2023]. Вычислялись средние значения каждого из показателей, фиксировавшихся в поведенческих тестах. По этим средним значениям были рассчитаны с поправкой Байеса проценты по отношению к средним показателям, полученных в контрольной группе животных. Для каждого изучаемого соединения и препарата сравнения исходные показатели сравнивались

контролем с помощью парного U-критерия Манна-Уитни. Значимость изменений по U-критерию Манна-Уитни индексировали следующим образом: 0 – отсутствие различий,  $p \geq 0.2$ ; 1 – весьма слабые различия (тенденция),  $0.1 \leq p < 0.2$ ; 2 – слабые статистически мало значимые различия,  $0.05 \leq p < 0.1$ ; 3 – статистически значимые различия,  $0.01 \leq p < 0.05$ ; 4 – сильные статистически значимые различия,  $0.001 \leq p < 0.01$ ; 5 – очень сильные статистически значимые различия,  $p < 0.001$ . U-критерий Манна-Уитни рассчитывался в программе Graph PadPrism [GraphPad Software, США]. Индексы оценки психотропных свойств химических соединений в базовых поведенческих тестах рассчитывались по формулам:

$$\text{Инд}_1 = \sum_{i=1}^M S_i * P_i, \quad (16)$$

$$\text{Инд}_2 = \sum_{i=1}^M S_i * P_i * |X_i|, \quad (17)$$

где M – число обрабатываемых параметров в тесте;

$S_i$  – индекс положительного +1 или отрицательного -1 влияния  $i$ -го параметра;

$P_i$  – индекс достоверности  $i$ -го параметра, принимает значения от 0 (не достоверен) до 5 (очень высоко достоверен);

$X_i$  – разность значения  $i$ -го параметра в сравнении с контролем.

Первый индекс (Инд1) учитывает только статистическую достоверность соответствующих показателей, выраженную в баллах в одном тесте; Инд2 дополнительно учитывает значение каждого показателя.

Согласно полученным индексам, отбирались наиболее активные соединения, для которых проводился статистический анализ анксиолитической активности с помощью группового непараметрического критерия Краскела-Уоллиса с посттестом Данна. Уровень значимости, при котором принималась гипотеза о наличии различий между выборками, составлял  $p < 0,05$ .

### 2.3.10 Анализ *in silico* фармакологического механизма действия

Выявленные в ходе виртуального скрининга и изученные экспериментально наиболее активные соединения исследовались на фармакологический механизм действия с использованием методов *in silico*. Изучение фармакологического механизма действия проводилось на основе анализа чувствительности нейронов наилучшей отобранной нейросетевой модели по схеме, впервые описанной в работе [Перфильев, 2020]. В дополнение, был выполнен анализ результатов множественного мультитаргетного ансамблевого докинга.

Анализ чувствительности нейронов выполнялся в программе Statistica [Hilbe, 2007] с помощью консенсусного обобщения данных о ключевых мишенях, полученных для наилучшей нейросетевой модели, рассчитанной на семи вариантах сэмпинга по одной обучающей выборке. При анализе учитывались только нейроны, на которые подаются данные со значениями минимальных энергий докинга. При консенсусной оценке наиболее значимой принималась мишень с максимальным нормированным значением чувствительности ее нейрона среди большинства сэмпингов. Таким образом, выбранная биомишень определялась как вносящая наибольший вклад в фармакологический механизм анксиолитической активности, согласно нейросетевому методу анализа.

Далее соединение-лидер исследовалось для определения главных точек взаимодействия с выбранной ключевой биомишенью. Для этого анализировались таблицы с матрицами аффинности прогнозных соединений, полученными после множественного докинга, и отбирались участки с наименьшей энергией связывания. Данные о 3D-структуре биомишени и лиганда соединения-лидера, соответствующие отобранной позиции, обратно конвертировались с помощью программ PyRx [Dallakyan, 2015] и Chem3D [CambridgeSoft, USA] из единого формата для проведения докинга \*.pdbqt в общий формат биологических 3D-структур \*.pdb. Затем с помощью программы LigandScout [Wolber, 2005] определялись ключевые точки и

механизмы взаимодействия анализируемого лиганда с аминокислотами отобранного белка в найденной оптимальной области связывания в заданной наиболее энергетически выгодной трехмерной ориентации.

### **2.3.11 Оценка *in silico* основных показателей ADMET соединения-лидера**

Методами *in silico* оценивались основные показатели абсорбции, распределения, метаболизма, выведения и токсичности (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity – ADMET характеристики) наиболее активного по результатам экспериментального тестирования химического соединения. Оценивались следующие токсикологические параметры: канцерогенность; мутагенность; генотоксичность; эндокринологическая токсичность. Оценивались следующие фармакокинетические параметры: всасываемость в желудочно-кишечном тракте; объем распределения; общий клиренс; почечный клиренс; печеночный клиренс; период полувыведения. Таким образом, вместе с параметрами острой токсичности и проникновения через ГЭБ, рассчитанными ранее для всех исследуемых соединений, соединение-лидер было оценено на наличие 12 видов ADMET-характеристик. Указанные показатели ADMET прогнозировались с помощью ИНС, обученных ранее и подробно описанных в работе [Васильев, 2023]. Все 12 нейросетевых моделей прогноза показателей ADMET обучены по итеративной схеме согласно разработанной методике, описанной выше в настоящей работе.

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1 База данных известных соединений с анксиолитической активностью

На первом этапе проведенного исследования с помощью системы управления базами данных (СУБД) ChemFinder [CambridgeSoft, USA] была сформирована впервые верифицированная БД известных по химической структуре и градуированному уровню анксиолитической активности соединений, экспериментально изученных мировым научным сообществом в различных методиках.

Всего из поисковых систем ChEMBL [Zdrazil, 2024] и PubChem [Kim, 2023] была получена 2081 запись с исходными данными в виде различных кодировок в формате \*.csv. После экспертной проверки исходных данных и удаления неполных или ошибочных записей была проведена процедура кластеризации 1441 записей для присвоения каждому соединению метки уровня активности. Пример с результатами кластеризации приведен в таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Пример результатов кластерного анализа

Mol ID	STANDARD VALUE	log10(1/ED50)	Threshold	Level
368	0.020	1.699		
650	0.020	1.699		
56	0.035	1.456	0.118	high
148	0.200	0.699		
1315	0.200	0.699		
1062	0.500	0.301		
369	0.400	0.155		
410	1.900	-0.279	4.050	moderate
1313	6.200	-0.792		low
713	12.500	-1.097		
55	25.000	-1.398		
1314	25.000	-1.398		
57	30.000	-1.477		
75	50.000	-1.699		
411	60.000	-1.778		
659	100.000	-2.000		

Примечание – Mol\_ID – номер записи соответствующего соединения в созданной верифицированной базе данных; Standard\_value – значение активности соответствующего соединения;  $\log_{10}(1/ED_{50})$  – десятичный логарифм обратного значения активности; Threshold – порог между классами, выявленный в результате кластеризации; Level – оценка уровня активности по данным кластерного анализа.

Из БД были удалены дублирующие записи. Всего в окончательной впервые верифицированной БД соединений известных по химической структуре и градуированному уровню анксиолитической активности содержится 663 записи. На созданную БД получено свидетельство о государственной регистрации [Васильев, Мальцев, Перфильев, Спасов, 2022]. Интерфейс верифицированной БД приведен на рисунке 3.1.

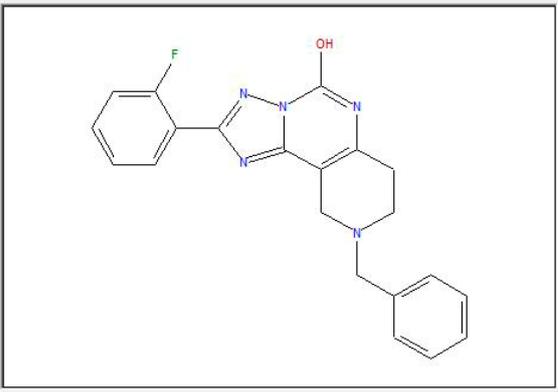
<b>Structure</b> 				<b>Activity</b> Standard Type: ED50 Standard Relation: <input type="text"/> Standard Value: 0.66 Standard Units: <input type="text"/> pChEMBL Value: <input type="text"/> Data Validity Comment: <input type="text"/> Comment: <input type="text"/>			
<b>Assay</b> Assay ChEMBL ID: CHEMBL779993 Assay Organism: <input type="text"/> Cell_ChEMBL_ID: None Assay Description: Anxiolytic response measured by antagonism of pentylenetetrazole discriminative stimuli in rats.				<b>Activity Processing</b> Gen_Assay_IDs: Rat-07a Levels: high Gen_Assay_ChEMBLID: CHEMBL3256343 CHEMBL779993 CHEMBL783756 CHEMBL783757 CHEMBL784521 CHEMBL843716 CHEMBL862017			
Mol_ID: 1	Brutto formula: C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> FN <sub>5</sub> O	Mol weight: 375.3	Salt Component: <input type="text"/>				
<b>Compound Codes &amp; Names</b> MolFileName: CHEMBL99259C CODE - Molecule ChEMBL ID: CHEMBL99259 Molecule Name: <input type="text"/> Compound Key: 8g							
<b>Compound Codes &amp; Names</b> Document_ChEMBL_ID: CHEMBL1125833 Document Journal: J. Med. Chem. Document_Year: 1991							
Mol_ID_v03: 49	Mol_ID_v05: 47	Mol_ID_v07: 38	Mol_ID_v10: 1				
Mol_ID_v11: 1	Mol_ID_v12: 1	Mol_ID_v13: 1					

Рисунок 3.1 – Интерфейс верифицированной БД известных по структуре и уровню анксиолитической активности соединений

В ходе последующего нейросетевого моделирования и анализа точности полученных моделей было решено удалить из обучающей выборки соединения с меткой уровня активности «active». Данные с такой меткой неоднозначны и приводят к существенным ошибкам при работе нейросетевой модели. Таким образом, было исключено 122 структуры с неопределенной меткой уровня активности «active». Кроме того, в базе содержались записи с данными об известных препаратах, которые используются в терапии тревожных расстройств, такие как диазепам и тофизолам. Всего были убраны четыре такие записи. Для настоящей научно-квалификационной работы была создана новая соответствующая версия БД. Конечная БД, которая использовалась в настоящей работе, включает 92 соединения с высокой активностью (метка «high»), 181 соединение с умеренной активностью (метка «moderate»), 184 соединения с низкой активностью (метка «low»), и 80 неактивных соединений (метка «inactive») – всего 537 соединений.

Таким образом, по разработанной методологии поиска фармакологически активных химических соединений была сформирована БД известных по структуре и уровню анксиолитической активности соединений. Такой подход начальной подготовки исходных данных согласуется с принципами методов, основанных на структуре лиганда (Ligand Based Drug Design LBDD) по прогнозу фармакологической активности на основе данных о малых молекулах.

### **3.2 Оптимизация 3D-моделей известных соединений с анксиолитической активностью и новых синтезированных соединений**

Все 3D-структуры лигандов, изучаемые в данной работе, были последовательно оптимизированы методами молекулярной механики и квантовой химии.

С помощью программы MarvinSketch [ChemAxon Ltd, Hungary], отдельно для каждого соединения, методами молекулярной механики были построены по 10 конформеров с наименьшей энергией.

Затем, с помощью программы MOPAC2012 (URL: <http://openmopac.net/>), все конформеры были оптимизированы с использованием полуэмпирического квантово-химического метода PM7. Пример расчетов по квантово-химической оптимизации приведен на рисунке 3.2.

```

PM7 XYZ AUX GNORM=0.01 NOMM
CHEMBL102740-010

GEOMETRY OPTIMISED USING EIGENVECTOR FOLLOWING (EF).
SCF FIELD WAS ACHIEVED

                                PM7 CALCULATION
                                                                MOPAC2012 (Version: 12.239L)
                                                                Thu Nov 1 07:53:53 2020

FINAL HEAT OF FORMATION =          18.79346 KCAL/MOL =          78.63184 KJ/MOL

TOTAL ENERGY              =          -2070.38874 EU
ELECTRONIC ENERGY        =          -11546.38462 EU POINT GROUP:   C2
CORE-CORE REPULSION       =           9475.99588 EU
COSMO AREA                 =           227.40 SQUARE ANGSTROMS
COSMO VOLUME               =           230.36 CUBIC ANGSTROMS

GRADIENT NORM             =           0.05185
IONIZATION POTENTIAL      =           9.500209 EU
HOMO LUMO ENERGIES (EU)   =           -9.500  1.168
NO. OF FILLED LEVELS     =           35
MOLECULAR WEIGHT          =           172.233

MOLECULAR DIMENSIONS (Angstroms)

  Atom      Atom      Distance
  H   27    H   15    10.86375
  H   26    H   18     4.71317
  H   13    H   24     3.79720

SCF CALCULATIONS          =           362
COMPUTATION TIME          =           4.886 SECONDS

```

Рисунок 3.2 – Оптимизация 3D-структуры лиганда в программе MOPAC2012 методом квантово-химической оптимизации конформации

Общее число обработанных конформеров составило 11 010. Для каждого изучаемого соединения из 10 оптимизированных таким образом конформеров с помощью оригинальной программы BestConf выбирали одну

лучшую конформацию с наименьшей общей энергией. Всего, после всех процедур по оптимизации, была получена 1101 структура в рабочем универсальном формате \*.pdbqt, готовая для проведения ансамблевого докинга.

Всего были обработаны: 537 соединений из созданной на предыдущем этапе верифицированной БД известных анксиолитиков; 387 уникальных соединений селективных лигандов, активных в отношении отдельных белков-мишеней, релевантных анксиолитической активности, и их неактивных структурных аналогов; 28 соединений известных референсных препаратов, применяемых в терапии тревожных расстройств; 42 соединения с установленной активностью, данные о которых опубликованы в открытой печати; 107 новых синтезированных соединений 26 структурно-разнородных химических рядов.

Таким образом, в настоящей работе, несмотря на сложности и ограничения, связанные с использованием полноценных квантово-химических расчетов крупных молекулярных систем, были применены полуэмпирические методы квантовой химии и молекулярной механики для оптимизации структур лигандов.

### **3.3 Биомишени, релевантные анксиолитической активности, поиск и валидация их 3D-моделей**

С помощью системы OpenTargets [Ochoa, 2023] к тревожным расстройствам было отнесено 2057 мишеней. Также использовался перечень 2657 белков-мишеней *Homo sapiens* из оригинальной QSAR базы данных системы Microcosm BioS [Vasilyev, 2019; Vassiliev, 2023], для которых имелись экспериментальные данные по различным видам таргетной активности химических соединений. В результате сопоставления этих двух списков был сформирован перечень из 92 биомишеней человека, в наибольшей степени ассоциированных с тревожными расстройствами. Затем из созданной БД были выделены основные хемотипы следующих соединений: диазепинобензимидазолы, хиноксалины, бензоимидазопиразины,

меркаптобензимидазолы, хиназолины, тиазолобензодиазепины, бензоимидазодиазепины, аминоэтилфенилтиазолы, триазабензоциклопентаазуленниумы. Используя эти хемотипы, с помощью систем IT Microcosm [Vassiliev, 2014] и Microcosm BioS [Vasilyev, 2019; Vassiliev, 2023], на основе прогноза спектра таргетной активности методом максимального сходства к эталонам по QL-модифицированному коэффициенту сходства Танимото  $T_{mean}$ , были предварительно установлены 14 биомишеней, наиболее коррелирующие с высоким уровнем анксиолитической активности производных анализируемых хемотипов. Значение коэффициента сходства Танимото находится в интервале от 0 (абсолютная структурная несхожесть) до 1 (полное структурное сходство). Всего по всем хемотипам и каждой из 92 релевантных анксиолитической активности биомишеней были вычислены 15468 средних оценок уровня таргетной активности. Уровень активности изменялся в интервале от  $Ind=-5.0$  (неактивно) до  $Ind=+5$  (очень высокая). Средние значения этого показателя  $IndMean$  послужили метрикой для отбора биомишеней, которые соотносятся с высоким уровнем анксиолитической активности производных анализируемых хемотипов. Итог выполненного прогноза можно увидеть на рисунке 3.3.

Прогноз спектра таргетной активности методом максимального сходства к эталонам			
Эталонный набор: Microcosm BioS		Структур: 625888	
Прогнозируемый набор: Anxiolytic Chemotypes v02		Структур: 15	
Число ближайших эталонов: 10			
Сортировка по средним индексам активности			
Расчеты выполнены 20 мая - 06 июня 2020			
Target	Organism	Tmean	IndMean
synaptic vesicular amine transporter	homo sapiens	0.148	2.50
5-hydroxytryptamine receptor 1a (5-ht1a)	homo sapiens	0.142	1.95
gaba receptor alpha-6/beta-3/gamma-2 subunit	homo sapiens	0.243	1.67
melatonin receptor	homo sapiens	0.375	1.15
gaba receptor beta-3 subunit	homo sapiens	0.208	1.14
glutamate [nmda] receptor subunit epsilon 2/zeta 1	homo sapiens	0.253	1.09
adrenergic, alpha-2b-, receptor [homo sapiens]	homo sapiens	0.324	1.04
gaba receptor alpha-1/beta-3/gamma-2 subunit	homo sapiens	0.286	1.03
5-ht7s	homo sapiens	0.210	1.00
adrenergic receptors; alpha-1 a & b	homo sapiens	0.099	1.00
alpha-2a adrenergic receptor [homo sapiens]	homo sapiens	0.172	1.00
angiotensin ii type 1a (at-1a)/1b (at-1b) receptor	homo sapiens	0.173	1.00
glutamate [nmda] receptor subunit epsilon 4	homo sapiens	0.141	1.00
sodium channel protein type xi alpha subunit	homo sapiens	0.093	1.00
adrenergic receptor	homo sapiens	0.388	0.98
gaba a receptor alpha-1/beta-1/gamma-2	homo sapiens	0.281	0.84
5-hydroxytryptamine receptor 1d	homo sapiens	0.237	0.80
cannabinoid cb1 receptor	homo sapiens	0.225	0.59
carbonic anhydrase 4	homo sapiens	0.217	0.48
gaba a alpha4beta2gamma2	homo sapiens	0.236	0.42
adrenergic receptor alpha-1	homo sapiens	0.229	0.26
voltage-gated l-type calcium channel	homo sapiens	0.201	0.25
gaba receptor alpha-3/beta-3/gamma-2 subunit	homo sapiens	0.288	0.22
adrenergic beta-2 receptor (beta2)	homo sapiens	0.341	0.16
adrenergic alpha1	homo sapiens	0.290	0.16
alpha-1a adrenergic receptor	homo sapiens	0.287	0.12
5-hydroxytryptamine receptor 1b	homo sapiens	0.235	0.10
cannabinoid cb1 receptor/orexin receptor 1 complex	homo sapiens	0.213	0.04
5-ht4b	homo sapiens	0.237	0.03
5-ht7b	homo sapiens	0.203	0.00
secretin receptor	homo sapiens	0.107	0.00
vasopressin v1 receptor	homo sapiens	0.000	0.00

Рисунок 3.3 – Итог прогноза наиболее релевантных белков-мишеней человека на основе максимального сходства к эталонам

Примечание – Target – название белка-мишени; Tmean – средний показатель коэффициента сходства Танимото; IndMean – средняя оценка уровня таргетной активности.

В процессе работы, при анализе литературы и консультаций с экспертами фармакологами, были добавлены дополнительные белки, релевантные анксиолитической активности. Окончательный список из 22 белков, включающий их названия и общепринятые сокращения их генов, приведен в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Список кодов генов и рекомендованных общепринятых названий белков, релевантных анксиолитической активности

<b>Ген, кодирующий соответствующий белок</b>	<b>Название белка</b>	<b>Ген, кодирующий соответствующий белок</b>	<b>Название белка</b>
ADRA1A	Альфа-1А адренорецептор	HTR1D	Рецептор 5-гидрокситриптамина 1D
ADRA1B	Альфа-1В адренорецептор	HTR2A	Рецептор 5-гидрокситриптамина 2А
ADRA2A	Альфа-2А адренорецептор	HTR2B	Рецептор 5-гидрокситриптамина 2В
ADRA2B	Альфа-2В адренорецептор	HTR2C	Рецептор 5-гидрокситриптамина 2С
AGTR1	Рецептор ангиотензина II типа 1	HTR4	Рецептор 5-гидрокситриптамина 4
CA2	Карбоангидраза 2	HTR7	Рецептор 5-гидрокситриптамина 7
CA4	Карбоангидраза 4	MTNR1A	Мелатониновый рецептор типа 1А
CNR1	Каннабиоидный рецептор 1	MTNR1B	Мелатониновый рецептор типа 1В
GABAAR	Рецептор $\gamma$ -аминомасляной кислоты типа А – $2\alpha 1$ - $2\beta 2$ - $\gamma 2$	NMDAR	Ионотропный глутаматный рецептор – GRIN1(2x)-GRIN2A-

			GRIN2B
HTR1A	Рецептор 5-гидрокситриптамина 1A	SCN11A	Альфа-субъединица типа XI белка натриевых каналов
HTR1B	Рецептор 5-гидрокситриптамина 2B	SLC18A2	Синаптический везикулярный транспортер аминов

После получения списка белков-мишеней, наиболее связанных с анксиолитической активностью химических соединений и включенных в патогенетические пути тревожных расстройств, было необходимо отобрать 3D-модели этих белков. Для этого была разработана процедура валидации 3D-моделей.

Каждый белок был проанализирован с помощью открытых источников, таких как UniProt [Coudert, 2023; UniProt Consortium, 2023], SWISS-MODEL [Waterhouse, 2018], PDBe [Armstrong, 2020], а также публикаций, связанных с молекулярным моделированием соответствующего белка. На основе полученных данных были составлены списки ключевых связывающих аминокислот сайтов релевантных биомишеней. Пример 3D-модели 5-НТ<sub>1A</sub>-рецептора с отмеченной областью специфического сайта связывания приведен на рисунке 3.4. Все 3D-модели изучаемых белков приведены в электронном приложении к настоящей диссертации. В трех релевантных биомишенях выявлено несколько разных или одинаковых симметричных сайтов связывания: для ГАМК<sub>A</sub>-рецептора определены бензодиазепиновый сайт и два ГАМК-связывающих сайта; для 5-НТ<sub>2A</sub>-рецептора выделены серотонин-связывающий сайт и аллостерический сайт; для NMDA-рецептора выделены блокирующий кальциевый канал сайт, два глутамат-связывающих сайта и два глицин-связывающих сайта. Таким образом, для 22 биомишеней было определено 29 сайтов связывания различного вида. Все ключевые аминокислоты этих сайтов приведены в таблице 3.3.

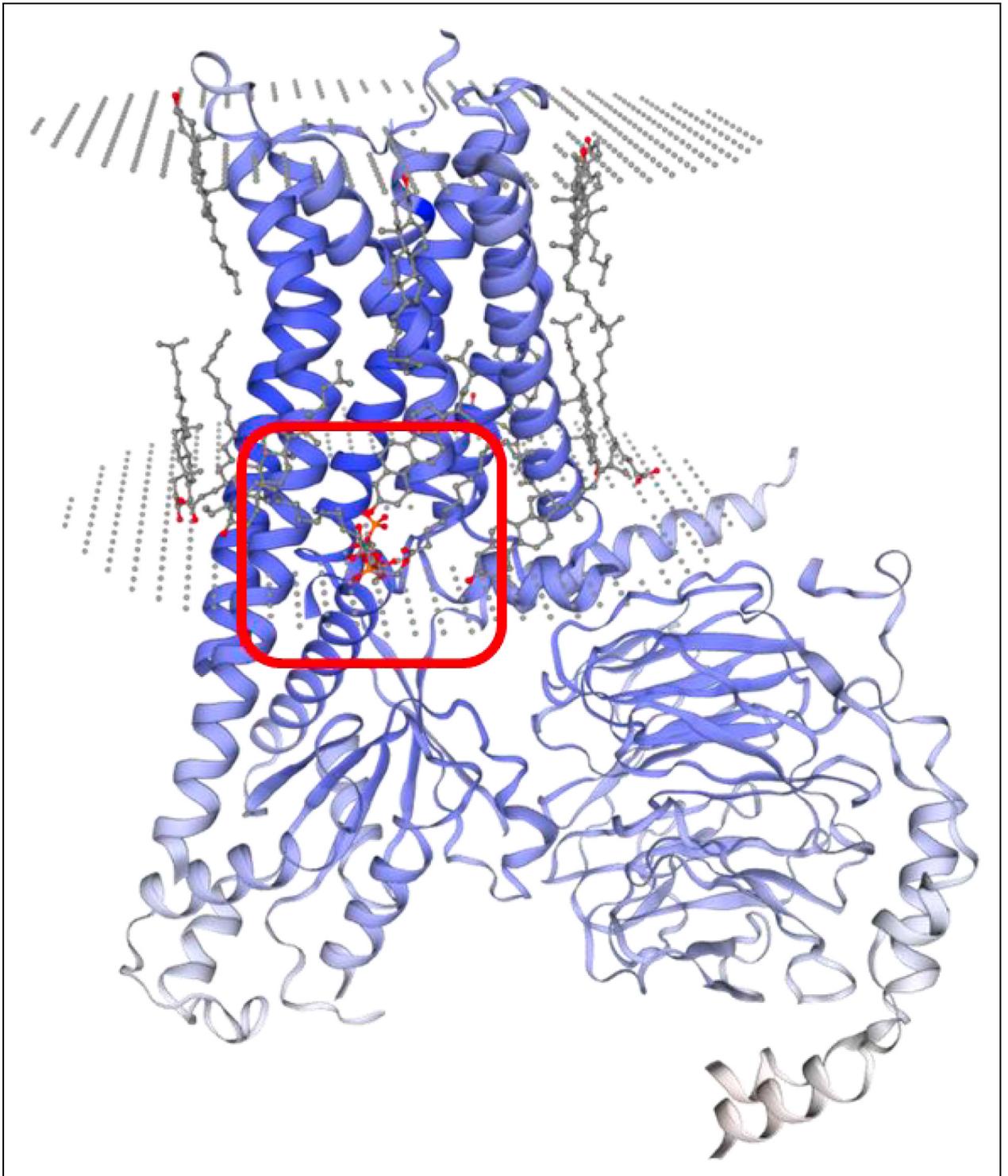


Рисунок 3.4 – 3D-модель 5-НТ<sub>1А</sub>-рецептора с отмеченной областью специфического сайта связывания, PDBe код-идентификатор модели – 7e2x

Таблица 3.3 – Перечень ключевых связывающих аминокислот активных сайтов изучаемых белков-мишеней, релевантных анксиолитической активности

<b>Обозначение сайта</b>	<b>Ключевые аминокислоты</b>
ADRA1A	ASN44, ASP72, SER83, PHE86, TRP102, ASP106, VAL107, CYS110, THR111, ILE157, SER158, PRO161, GLN167, ILE178, TYR184, SER188, ALA189, SER192, PHE193, LEU290, PHE288, PHE289, PHE308, LYS309, PHE312, TYR316, ASN322, TYR326, SER330
ADRA1B	ASN63, ASP91, ARG143, ARG288, LYS291, THR295, ASN344, TYR348, SER352
ADRA2A	ASP113, VAL114, CYS117, CYS188, GLU189, ILE190, SER204, TRP387, PHE390, PHE391, TYR394, PHE408, PHE412, TYR416
ADRA2B	ASP92, VAL93, CYS96, THR97, LEU166, TRP384, PHE387, PHE388, TYR391, PHE412, TYR416
AGTR1	TYR35, PHE77, TRP84, TYR87, SER105, VAL108, SER109, LEU112, ARG167, ASN174, ASN176, PHE182, ILE288, TYR292
CA2	GLU69, ILE91, GLN92, HIS94, HIS96, HIS119, VAL121, PHE131, VAL135, THR198, THR199, THR200, PRO202, TRP209
CA4	TRP5, ASN62, HIS64, SER65, MET67, LYS91, GLN92, HIS94, HIS96, HIS119, VAL121, ILE141, LEU198, THR199, THR200
CNR1	PHE102, MET103, ASP104, ILE105, PHE108, ILE119, SER123, GLY166, PHE170, PHE174, LEU193, VAL196, THR197, PHE268, LEU276, TRP279, TRP356, LEU359, MET363, PHE379, ALA380, SER383, MET384, CYS386, LEU387
GABAAR-Benz	PHE99D, HIS101D, TYR159D, PHE77E, MET130E, THR142E
GABAAR-GABA-1	PHE65B, ARG67B, TYR97A, THR129B, ARG131B, GLU155A, TYR157A, THR 202A, TYR205A
GABAAR-GABA-2	PHE65D, ARG67D, THR130D, TYR157C, TYR205C
HTR1A	ALA93, TYR96, GLN97, PHE112, ASP116, VAL117, CYS120, THR121, ILE189, SER199, THR200, ALA203, PHE361, PHE362, THR379, ASN386, TYR390
HTR1B	TYR109, TRP125, LEU126, ASP129, ILE130, CYS133, THR134, ILE137, CYS199, VAL200, VAL201, THR203, THR209, SER212, THR213, ALA216, TRP327, PHE330, PHE331, ILE333, SER334, MET337, LEU348, PHE351,

	ASP352, THR355, TYR359, TRP367, PHE370, PHE371, PHE391, ASP392, TYR399
HTR1D	ASP118, ILE119, CYS122, THR123, VAL190, SER201, ALA205, PHE317, PHE318, SER321
HTR2A-Allo	PHE225, VAL252, TRP222, ILE96, PHE218, PHE226
HTR2A-Spec	ALA207, TYR266, VAL210, VAL214, LEU211, LEU46, THR42
HTR2B	ASP135, VAL136, LEU209, PHE217, PHE340, PHE341, LEU362
HTR2C	TRP130, ASP134, VAL135, SER138, THR139, VAL208, GLY218, ALA222, PHE328, LEU350, ASN351
HTR4	ASP99, VAL100, THR103, THR104, PHE185, CYS195, ALA199, PHE274, PHE275, ASN278, LEU297
HTR7	ASP162, VAL163, CYS166, ILE213, SER243, ALA247, PHE343, PHE344, SER347
MTNR1A	MET107, GLY108, VAL111, ILE112, LEU168, PHE179, GLN181, VAL192, LEU254
MTNR1B	ALA117, MET120, GLY121, VAL124, ILE125, ASN175, LEU181, PHE192, GLN194, VAL204, VAL205, PHE264, LEU267, ASN268, TYR294, ALA297, TYR298
NMDAR-Ca	LEU630, ALA631, THR634, LEU636, ALA637, THR640, THR646, LEU649
NMDAR-Glut*	HIS473, THR501, GLY676, SER677, THR678, ASP719, GLU1101
NMDAR-Gly*	PRO516, THR518, ARG523, SER688
SCN11A	GLN355, LYS799, ASN1139, LEU1143, PHE1592, TYR1599, THR1658, SER1660, ILE1706, SER1709, PHE1710, TYR1717
SLC18A2	PHE 135, LYS 138, VAL 232, GLU 312, TYR 341, ASP 426, TYR 433

Примечание – \* – в структуре рецептора имеется второй такой же сайт; ADRA1A – альфа-1A адренорецептор; ADRA1B – альфа-1B адренорецептор; ADRA2A – альфа-2A адренорецептор; ADRA2B – альфа-2B адренорецептор; AGTR1 – рецептор ангиотензина II типа 1; CA2 – карбоангидраза 2; CA4 – карбоангидраза 4; CNR1 – каннабиоидный рецептор 1; GABAAR – рецептор  $\gamma$ -аминомасляной кислоты типа A –  $2\alpha 1$ - $2\beta 2$ - $\gamma 2$ ; HTR1A – рецептор 5-гидрокситриптамина 1A; HTR1B – рецептор 5-гидрокситриптамина 2B; HTR1D – рецептор 5-гидрокситриптамина 1D; HTR2A – рецептор 5-гидрокситриптамина 2A; HTR2B – рецептор 5-гидрокситриптамина 2B; HTR2C – рецептор 5-гидрокситриптамина 2C; HTR4 – рецептор 5-гидрокситриптамина 4; HTR7 – рецептор 5-гидрокситриптамина 7; MTNR1A – мелатониновый рецептор типа 1A; MTNR1B – мелатониновый рецептор типа 1B; NMDAR – ионотропный глутаматный рецептор, GRIN1(2x)-

GRIN2A-GRIN2B; SCN11A – альфа-субъединица типа XI белка натриевых каналов; SLC18A2 – синаптический везикулярный транспортер аминов.

Из БД Uniprot [Coudert, 2023; UniProt Consortium, 2023], PDBe [Armstrong, 2020], SWISS-MODEL [Waterhouse, 2018] было получено 277 3D-структур релевантных биомишеней. Отбор проводился по наличию наиболее полной экспериментальной 3D-модели, разрешению структуры, а также по числу разрешенных фрагментов в модели. При отсутствии данных об экспериментальных структурах белков использовались теоретические модели сервиса AlphaFold2 [Jumper, 2021] и ModBase [Pieper, 2013]. В связи с использованием технологии построения моделей по гомологии некоторые 3D-модели оказались определенными для нескольких белков. С помощью ресурса IUPHAR для каждой изучаемой мишени были составлены списки селективных высокоактивных лигандов. В оригинальной системе Microcosm BioS [Vasilyev, 2019] и ее QSAR-базе, с использованием системы IT Microcosm [Vassiliev, 2014], были найдены структурно сходные с активными неактивные лиганды соответствующих мишеней; пример отбора неактивных лигандов можно увидеть в таблице 3.4. В ходе прогноза некоторые неактивные лиганды были определены для валидации 3D-моделей сразу нескольких биомишеней. Все полученные таким путем лиганды были оптимизированы по описанным выше схемам.

Таблица 3.4 – Пример отбора неактивных лигандов 5-HT<sub>1A</sub>-рецептора на основе структурно сходных эталонов с помощью системы Microcosm BioS

Шифр активного соединения	Название мишени	Организм	Tmax	Monomer ID	Index
CID_163091	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.603	50162962	1
CID_163091	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.603	50167766	1
CID_163091	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.737	50162965	2
CID_163091	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.737	50167755	2
CID_163091	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.603	50162958	2
CID_163091	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.737	50162961	3
CID_163091	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.737	50167760	3
CID_163091	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	1.000	84994	4
CID_163091	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.603	50167768	4
CID_163091	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	1.000	84994	5
CID_125564	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.916	50160810	2
CID_125564	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.904	50160806	2
CID_125564	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.904	50160809	2
CID_125564	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.458	50371677	2
CID_125564	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.458	50371667	2
CID_125564	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.455	50371673	2
CID_125564	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.916	50160808	3
CID_125564	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.464	50371680	3
CID_125564	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.464	50371664	3

CID_125564	5-hydroxytryptamine receptor 1A (5-HT1A)	Homo sapiens	0.983	50160807	4
------------	--	--------------	-------	----------	---

Примечание – Tmax – степень сходства найденной химической структуры со структурой лиганда по QL-модифицированному коэффициенту сходства Танимото; Index – индекс активности найденного соединения по сравнению с селективным высокоактивным лигандом.

После чего были проведены процедуры простого докинга, сформированы матрицы аффинности и рассчитаны характеристики на основе разностей минимальных энергий докинга. Примеры с данными по аффинности селективных соединений в отношении 3D-моделей серотонинового 5-HT<sub>1A</sub>-рецептора приведены в таблице 3.5.

Полные таблицы расчетов характеристик на основе разностей минимальных энергий докинга  $\Delta E$  по каждой паре «активный-неактивный лиганд» всех изучаемых в настоящей работе релевантных биомишеней приведены в электронном приложении к настоящей диссертации.

Всего на этапе валидации было составлено 22 таблицы в виде книг Excel с тремя листами в каждой (минимальные значения энергий докинга активных лигандов; минимальные значения энергий докинга неактивных лигандов; расчет характеристик на основе разностей минимальных энергий докинга). В ходе валидации 3D-моделей биомишеней, релевантных анксиолитической активности, было обработано 387 уникальных структур химических соединений-лигандов и найдены по три наилучших 3D-модели для каждого белка-мишени (с учетом вида сайта).

Таблица 3.5 – Фрагмент таблицы с расчетами характеристик на основе разностей минимальных энергий докинга  $\Delta E$  по каждой паре «активный-неактивный лиганд»

Шифр лиганда	Минимальная энергия докинга в 3D-модель, $\Delta E$ ккал/моль						
	3eml	5zkb	6k1q	6mh8	7e2y	7e2x	AF-P08908
<i>Активные лиганды</i>							
S-14506	-10.5	-9.5	-9.4	-7.5	-10.0	-9.1	-9.3

S-14671	-9.3	-8.4	-7.5	-7.3	-9.0	-8.2	-8.3
L-694,247	-10.2	-8.4	-8.2	-8.1	-9.4	-9.2	-9.0
LY293284	-8.1	-7.3	-6.5	-7.1	-8.0	-7.8	-6.8
Asenapine	-8.4	-8.1	-7.4	-6.9	-8.3	-7.7	-8.0
Lisuride	-8.4	-8.0	-7.3	-6.4	-8.9	-7.7	-7.9
Flibanserin	-10.1	-9.8	-9.1	-6.9	-10.6	-9.0	-8.5
U92016A	-7.4	-7.2	-6.6	-6.2	-8.1	-7.6	-7.1
<b>Неактивные лиганды</b>							
50012980	-7.6	-8.2	-7.8	-7.3	-8.5	-7.7	-7.3
50012981	-7.7	-8.7	-7.9	-7.4	-7.9	-7.7	-7.5
50012982	-8.6	-7.8	-7.5	-6.9	-9.1	-7.3	-7.4
50012983	-8.4	-8.6	-7.8	-7.2	-9.4	-7.3	-7.5
50054711	-8.4	-7.8	-7.5	-7.1	-8.9	-8.6	-8.4
50080797	-9.4	-8.1	-8.6	-7.8	-8.4	-7.9	-8.1
50387566	-8.8	-8.0	-7.5	-7.5	-8.3	-7.1	-7.1
50408236	-8.4	-8.0	-7.2	-7.0	-8.9	-8.4	-8.3

Итоговый перечень валидных 3D-моделей белков, релевантных анксиолитической активности, продемонстрирован в таблице 3.6. Ссылки на авторов моделей приведены в электронном приложении к настоящей диссертации.

Таблица 3.6 – Валидные 3D-модели изучаемых в настоящей работе белков, ассоциированных с анксиолитической активностью

<b>Ген, кодирующий соответствующий белок</b>	<b>Модель</b>	<b>Ген, кодирующий соответствующий белок</b>	<b>Модель</b>
ADRA1A	2rh1, 3p0g, 7b6w	HTR1D	4iar, 5d5a, 6ol9
ADRA1B	4amj, 6ps2, AF-P35368	HTR2A	4amj, 6wgt, 7vod, 7wc4, 7wc9
ADRA2A	2rh1, 3pbl, 6kuy	HTR2B	2rh1, 6j20, AF-

			P41595
ADRA2B	3pbl, 4iaq, 6kuw	HTR2C	3pbl, 4amj, 6bqg
AGTR1	4mbs, 4yay, 6osl	HTR4	2rh1, 4amj, 4uhr
CA2	1lug, 2weg, 4fpt	HTR7	2r4r, 2rh1, 7e2z
CA4	5jn9, 5jna, 5jnc	MTNR1A	6me2, 7vgz, AF- P48039
CNR1	7fee, 7v3z, AF- P21554	MTNR1B	6me6, AF- P49286, 7vh0
GABAAR	6d6u, 6x3u, 6x3v, 6x3w, 6x3x	NMDAR	5uow, 6irf, 6irg, 6irh, 7eoq, 7eou, 7eu7, 7eu8
HTR1A	3eml, 7e2x, AF- P08908	SCN11A	5xsy, 6a90, 6uz0
HTR1B	4djh, 4iar, 5v54	SLC18A2	1pw4, 3o7q, 3wdo

Примечание – ADRA1A – альфа-1A адренорецептор; ADRA1B – альфа-1B адренорецептор; ADRA2A – альфа-2A адренорецептор; ADRA2B – альфа-2B адренорецептор; AGTR1 – рецептор ангиотензина II типа 1; CA2 – карбоангидраза 2; CA4 – карбоангидраза 4; CNR1 – каннабиоидный рецептор 1; GABAAR – рецептор  $\gamma$ -аминомасляной кислоты типа A –  $2\alpha 1$ - $2\beta 2$ - $\gamma 2$ ; HTR1A – рецептор 5-гидрокситриптамина 1A; HTR1B – рецептор 5-гидрокситриптамина 2B; HTR1D – рецептор 5-гидрокситриптамина 1D; HTR2A – рецептор 5-гидрокситриптамина 2A; HTR2B – рецептор 5-гидрокситриптамина 2B; HTR2C – рецептор 5-гидрокситриптамина 2C; HTR4 – рецептор 5-гидрокситриптамина 4; HTR7 – рецептор 5-гидрокситриптамина 7; MTNR1A – мелатониновый рецептор типа 1A; MTNR1B – мелатониновый рецептор типа 1B; NMDAR – ионотропный глутаматный рецептор – GRIN1(2x)-GRIN2A-GRIN2B; SCN11A – альфа-субъединица типа XI белка натриевых каналов; SLC18A2 – синаптический везикулярный транспортер аминов.

В этой части работы, в соответствии с принципами SBDD, был выполнен поиск биомишеней, релевантных анксиолитической активности. Проведена валидация 3D-моделей отобранных белков и получены структуры для дальнейшей работы с использованием методов молекулярного моделирования.

### 3.4 Простой и множественный ансамблевый докинг известных и новых соединений

На данном этапе выполнения настоящей диссертации был проведен молекулярный докинг 714 оптимизированных 3D-моделей изучаемых соединений в 29 сайтов связывания 22 валидных 3D-моделей белков-мишеней, релевантных анксиолитической активности. Соответствующие пространства для докинга были построены с помощью программ PyRx [Dallakyan, 2015] и LigPlot+ [Laskowski, 2011]. Файлы формата \*.pdbqt соответствующих химических соединений-лигандов и белков-мишеней подготовлены для докинга с помощью оригинальной программы PrepDock. Простой монотаргетный ансамблевый докинг проводили в каждое соответствующее пространство при пятикратном повторении в программе AutoDock Vina [Trott, 2010] с рассмотрением 10 конформаций лиганда в сайте биомисени. Таким образом, для каждого отдельного докируемого соединения в каждом сайте связывания получали 50 значений энергий докинга, на основе которых определяли минимальную энергию.

Всего на этом этапе был обработан массив из 3 105 900 значений энергий простого докинга. Результаты по каждому белку-мишени приведены в электронном приложении к настоящей диссертации.

Согласно разрабатываемой методологии [Васильев, 2021], в настоящей работе выполнен множественный докинг отдельно в ГАМК<sub>A</sub>-рецептор (экспериментальная рентгеноструктурная модель 6d6t), а также во все 3D-модели отобранных релевантных белков-мишеней. 27 пространств для множественного докинга (сетка разметкой 3x3x3 с постоянным шагом) построены с помощью оригинальной программы MSite.

Дальнейшая процедура соответствовала технологической схеме простого варианта. В настоящей работе по методологии множественного докинга были получены значения энергии связывания 714 соединений в 27 пространств каждой из трех валидированных 3D-моделей 22 белков-мишеней релевантных анксиолитической активности при 50-кратном повторении.

Всего обработано 63 617 400 значений энергии докинга.

В таблице 3.7 показаны значения минимальных энергий, полученные в результате множественного докинга некоторых соединений и одного из референсов (диазепама) в 27 пространств по всему объему ГАМК<sub>A</sub>-рецептора. Полные таблицы с результатами множественного докинга во все изучаемые биомишени приведены в электронном приложении к настоящей диссертации.

Таблица 3.7 – Спектры энергий множественного докинга в ГАМК<sub>A</sub>-рецептор

Показатель	Энергия докинга соединения, ккал/моль					
	1	2	3	4	5	Диазепам
$\Delta E_1$	-4.9	-5.4	-5.7	-5.0	-6.3	-5.3
$\Delta E_2$	-6.2	-7.0	-7.3	-6.6	-7.8	-6.3
$\Delta E_3$	-5.9	-7.0	-7.3	-6.7	-7.8	-6.6
$\Delta E_4$	-5.5	-5.8	-6.3	-5.6	-6.6	-5.2
$\Delta E_5$	-7.0	-7.2	-7.4	-6.7	-8.0	-6.9
$\Delta E_6$	-6.8	-7.5	-7.5	-6.7	-7.6	-6.9
$\Delta E_7$	-5.7	-5.9	-6.4	-5.6	-6.6	-5.5
$\Delta E_8$	-6.8	-7.1	-7.3	-6.7	-7.6	-6.9
$\Delta E_9$	-6.8	-7.6	-7.6	-6.6	-7.6	-6.9
$\Delta E_{10}$	-6.4	-6.6	-6.9	-6.4	-7.0	-6.5
$\Delta E_{11}$	-7.8	-8.2	-8.4	-7.8	-9.0	-7.5
$\Delta E_{12}$	-7.7	-8.1	-8.4	-8.0	-9.0	-7.6
$\Delta E_{13}$	-6.5	-7.1	-7.3	-6.5	-7.7	-7.4
$\Delta E_{14}$	-8.3	-8.5	-9.5	-8.0	-9.0	-9.5
$\Delta E_{15}$	-8.0	-8.7	-8.2	-7.9	-9.1	-7.6
$\Delta E_{16}$	-6.7	-7.1	-8.0	-6.6	-7.6	-6.9
$\Delta E_{17}$	-7.1	-7.8	-7.9	-6.9	-7.7	-7.1
$\Delta E_{18}$	-7.1	-7.4	-7.9	-7.0	-7.9	-6.9
$\Delta E_{19}$	-6.3	-6.5	-6.9	-6.5	-7.3	-6.7
$\Delta E_{20}$	-8.0	-8.3	-8.4	-7.8	-9.0	-7.7
$\Delta E_{21}$	-8.2	-8.0	-8.5	-8.0	-9.0	-7.7
$\Delta E_{22}$	-6.8	-8.8	-7.9	-6.6	-9.3	-7.5
$\Delta E_{23}$	-8.3	-8.8	-8.6	-8.8	-10.0	-7.6
$\Delta E_{24}$	-7.8	-8.6	-8.1	-7.9	-9.1	-7.6
$\Delta E_{25}$	-6.8	-7.9	-9.6	-8.8	-9.3	-7.5
$\Delta E_{26}$	-10.2	-10.0	-9.6	-9.5	-9.3	-7.5
$\Delta E_{27}$	-7.2	-7.2	-7.6	-7.1	-7.9	-7.2
$\Delta E_{min}$	-10.2	-10.0	-9.6	-9.5	-10.0	-9.5

Таким образом, для получения дескрипторов межмолекулярного взаимодействия в настоящей работе были применены методики молекулярного докинга. Были рассчитаны 3 105 900 значений энергии простого классического докинга, при котором с сайтом биомишени одновременно связывается одна молекула лиганда. В дополнение, по качественно новой оригинальной методологии, был проведен множественный докинг и получено 63 617 400 значений аффинности соединений-лигандов по всему объему изучаемых белков-мишеней.

### **3.5 Расчет энергий молекулярных орбиталей и фрагментных дескрипторов известных и новых соединений**

Для полного представления всей возможной информации обо всех исследуемых химических соединениях было выполнено подробное дескрипторное описание изучаемых структур.

В дополнение к дескрипторам межмолекулярного взаимодействия, полученным в ходе молекулярного докинга, в программе HyperChem (URL: <http://www.hypercubeusa.com/>) были рассчитаны значения энергии 20 верхних заполненных и 20 нижних пустых молекулярных орбиталей (МО). Для расчета энергии МО  $E_{\text{HOMO}}$ ,  $E_{\text{LUMO}}$  предварительно, с использованием программы OpenBabel [O'Boyle, 2011], было обработано 714 файлов в формате \*.pdbqt с описанием 3D-структур химических соединений. Эти файлы были конвертированы в файлы формата \*.hin – коммуникативного формата программы HyperChem. Методом PM3 был выполнен расчет значений энергий верхних заполненных и нижних пустых МО для 714 соединений, с записью этих данных в файлы текстового формата \*.ext. Полученные файлы обработаны с использованием специального скрипта, с целью последующего импорта в программу Excel. Для дальнейшей работы с помощью Excel (URL: <http://www.microsoft.com/>) из полученных текстовых файлов были отобраны по 20 значений энергии для  $E_{\text{HOMO}}$  и по 20 значений для  $E_{\text{LUMO}}$ . Пример с фрагментом полученного набора данных приведен в таблице 3.8. Полные таблицы в составе обучающих, тестовых и прогнозных

выборки приведены в электронном приложении к настоящей диссертации.

Таблица 3.8 – Фрагмент таблицы с полученными значениями энергий молекулярных орбиталей нескольких референсных соединений – препаратов для терапии тревожных расстройств

Название соединения	Значения энергий молекулярных орбиталей				
	ОМО-01	ОМО-02	ОМО-03	ОМО-04	ОМО-05
Alprazolam	-9.90	-10.23	-10.46	-10.54	-10.78
Aviandr	-5.13	-5.93	-6.30	-6.82	-8.60
Buspirone	-10.14	-10.41	-10.56	-10.64	-10.86
Clobazam	-10.04	-10.23	-10.31	-10.80	-11.01
Clonazepam	-5.82	-5.98	-7.72	-7.80	-7.97
Doxepin	-5.20	-5.47	-5.53	-6.21	-7.26
Flunitrazepam	-10.45	-10.93	-10.97	-11.05	-11.27
Ketazolam	-9.61	-9.68	-10.28	-10.34	-10.54
Lorpiprazole	-56.25	-58.23	-77.72	-78.39	-79.31
Mebutamate	-4.58	-4.79	-5.95	-7.25	-9.38

Примечание – ОМО – значения энергии верхних заполненных МО.

Также с помощью системы ИТ Microcosm были рассчитаны 75 различных структурных фрагментных дескрипторов первого ранга языка QL [Vassiliev, 2014]. Пример с фрагментом полученного набора данных приведен в таблице 3.9. Полные таблицы в составе обучающих, тестовых и прогнозных выборок приведены в электронном приложении к настоящей диссертации.

Таблица 3.9 – Фрагмент таблицы с QL-дескрипторным описанием нескольких соединений из обучающей выборки – препаратов для терапии тревожных расстройств

Название соединения	Дескриптор				
	-NH2	>NH	-N<	-N=	#N
CHEMBL99259	0	0	2	3	0
CHEMBL513136	0	0	1	0	0
CHEMBL3410223	0	0	1	2	0
CHEMBL323519	0	1	2	0	0
CHEMBL204240	0	0	2	1	0

Таким образом, в ходе работы над представленным научно-квалификационным исследованием было выполнено подробное описание химической структуры изучаемых известных и новых синтезированных соединений. Для каждого соединения-лиганда получено по 40 дескрипторов МО, отражающих их реакционную способность, а также 75 различных структурных дескрипторов.

### 3.6 Обучающие, тестовые и прогнозные выборки

Для последующего нейросетевого моделирования были сформированы обучающие выборки на основе 2 335 950 значений ансамблевого мультидескрипторного простого докинга. Были составлены матрицы аффинности из 15573 значений минимальных энергий простого докинга  $\Delta E$  всех 537 известных по химической структуре и градуированному уровню анксиолитической активности соединений из созданной верифицированной БД. Фрагмент обучающей выборки можно увидеть в таблице 3.10.

Таблица 3.10 – Фрагмент таблицы с обучающей выборкой на основе простого мультитаргетного докинга

Mol_ID	Code	Levels	LevH	LevHM	LevA	ADRA1A	ADRA1B
1	CHEMBL99259	high	h	hm	a	-10.10	-9.40
2	CHEMBL513136	high	h	hm	a	-9.20	-8.80
3	CHEMBL3410223	high	h	hm	a	-9.70	-9.10
4	CHEMBL323519	high	h	hm	a	-8.80	-8.10
5	CHEMBL204240	high	h	hm	a	-7.80	-7.40
6	CHEMBL314608	high	h	hm	a	-7.60	-7.80
7	CHEMBL319178	high	h	hm	a	-9.90	-9.10

8	CHEMBL101045	high	h	hm	a	-8.70	-7.60
9	CHEMBL543621	high	h	hm	a	-8.60	-7.80
10	CHEMBL545731	high	h	hm	a	-8.60	-8.10
11	CHEMBL3409256	high	h	hm	a	-9.60	-8.90
12	CHEMBL153823	high	h	hm	a	-9.20	-7.60
13	CHEMBL466847	high	h	hm	a	-8.60	-10.30
14	CHEMBL3084529	high	h	hm	a	-8.70	-9.90

Всего, учитывая все варианты полученных дескрипторов химических соединений, было построено 14 обучающих выборок, на которых с помощью программы Statistica построено 14 соответствующих нейросетевых моделей анксиолитической активности. Было разработано 3 блока нейросетевых моделей.

**I.** Первый блок составляют зависимости, рассчитанные на основе малых локальных БД. **1.** Первой моделью (Docking-178) в первом блоке стала нейросетевая зависимость, полученная на значениях минимальных энергий простого докинга. Изначально локальная БД, основанная на известных хемотипах, состояла из 216 соединений, однако после удаления записей с неопределенной меткой уровня активности «active» в обучающей выборке осталось 178 записей. Такая процедура удаления соединений с неопределенным уровнем активности была выполнена для всех обучающих выборок, с целью повышения точности обучаемых нейросетевых моделей. **2.** Вторая модель (New Chemotypes) была обучена на основе новых хемотипов, которые соответствуют скаффолдам всех прогнозируемых соединений. Во вторую локальную БД отобрано 208 соединений. **3.** Третий вариант обучающей выборки (Docking-178+OmoUmo) включал дополнительное представление структуры с помощью энергетических дескрипторов – 40 энергий МО. Для третьей нейросетевой модели обучающая выборка была собрана из матрицы аффинности, полученной в процессе простого докинга самой первой локальной БД и значений энергий МО соответствующих химических соединений. **4.** Четвертый вариант модели прогноза анксиолитической активности (Structures Similar to Predict) был

обучен на новой, уже третьей локальной БД, которая была получена путем выбора структур, наиболее схожих с прогнозируемыми соединениями с выраженным уровнем активности. Для четвертой модели также был выполнен простой докинг, в обучающую выборку вошли 175 соединений.

**II.** Второй блок составляет единственная нейросетевая модель (GABAR-x27), которая основана на спектре энергий множественного докинга в ГАМК<sub>A</sub>-рецептор. Обучающая выборка этой модели состоит из 191 известного соединения с установленным типом активности в отношении ГАМК<sub>A</sub>-рецептора, которые были взяты из оригинальной QSAR-базы системы Microcosm BioS [Vasilyev, 2019], содержащей структурированную и обработанную информацию по химической структуре и уровню активности 625888 известных соединений, изученных мировым научным сообществом на 11509 различных видов таргетной биологической активности. Для каждого из них, а также каждого соединения для тестирования и прогноза, был выполнен множественный докинг в 27 пространств по всему объему ГАМК<sub>A</sub>-рецептора. Код используемой экспериментальной 3D-модели белка – 6d6t, выбрана наиболее распространенная разновидность ГАМК<sub>A</sub>-рецептора с набором субъединиц 2 $\alpha$ 1-2 $\beta$ 2- $\gamma$ 2.

**III.** В третьем блоке консенсусных нейросетевых моделей находятся искусственные нейронные сети (ИНС), обученные на основе полной верифицированной БД известных соединений с анксиолитической активностью. Изначально в этой базе было 663 соединения, в процессе было принято решение удалить все записи соединений с меткой уровня активности «active». Нейросетевые модели с метками «active» в записях показывают значительно меньшую точность прогноза, в сравнении с моделями без них.

**1.** Первой моделью (Dock-All) в блоке стала зависимость анксиолитической активности от значений энергии простого докинга. Обучающая выборка состояла из 537 соединений. **2.** Для второй модели (Dock-All+QL-1) была составлена объединенная выборка, куда вошли значения энергии простого докинга из предыдущей модели, а также структурные дескрипторы первого

ранга языка QL. 3. Третья модель (Dock-All-Targets+Part Test) стала результатом объединения обучающей выборки первой модели третьего блока (Dock-All) и значений энергии простого докинга части соединений из тестовой выборки. Так как данные об уровне активности соединений, составивших используемую тестовую выборку, известны и опубликованы в открытой печати, то было предложено внести часть этих данных в обучающую выборку. Из 42 соединений тестовой выборки, в обучающий набор данных было внесено 32 соединения, таким образом, обучение было выполнено на выборке из 569 соединений. 4. В четвертую модель (Dock-All-Targets+Part Test+OmoUmo), дополнительно к значениям энергии простого докинга из предыдущей выборки были добавлены энергетические дескрипторы 40 значений энергии МО. 5. Пятая нейросетевая модель (Dock-All-Targets+OmoUmo) является структурным аналогом четвертой, но без дополнительных соединений из тестовой выборки.

Отдельно была сформирована обучающая выборка, основанная на матрице аффинности энергий множественного мультитаргетного докинга в 22 релевантных анксиолитической активности белка-мишени. Из-за весьма большого размера массива данных была применена процедура свертки на основе корреляции. Были составлены 22 файла в текстовом формате \*.z27, содержащие в общем 785400 значений энергий докинга. С помощью оригинальной программы CorrConv на основе полученных данных сформированы 22 файла в формате \*.cor, содержащие матрицы корреляций энергий множественного докинга в соответствующие белки-мишени. Пример матрицы корреляций для энергий множественного докинга в 5-HT<sub>1A</sub>-рецептор приведен на рисунке 3.5.

0.000000	0.900289	0.841814	0.788706	0.863694	0.866702	0.796948	0.864363
0.843437	0.728439	0.849503	0.752455	0.824146	0.861701	0.894199	0.800892
0.851815	0.889904	0.727711	0.861202	0.791870	0.783011	0.852311	0.897143
0.892017	0.888970	0.877222					
0.900289	0.000000	0.840448	0.767376	0.832196	0.844557	0.771692	0.827962
0.823213	0.694490	0.813580	0.698006	0.795757	0.844046	0.850375	0.771286
0.832591	0.843211	0.688532	0.823633	0.734610	0.761064	0.816434	0.849886
0.852238	0.845095	0.822203					
0.841814	0.840448	0.000000	0.815347	0.878037	0.781034	0.825826	0.875247
0.716061	0.620938	0.782220	0.641368	0.827979	0.865177	0.857071	0.823321
0.871485	0.834850	0.612193	0.780956	0.713264	0.725471	0.798261	0.856359
0.808396	0.829257	0.808870					
0.788706	0.767376	0.815347	0.000000	0.905975	0.725173	0.939170	0.907334
0.693271	0.597294	0.747633	0.625880	0.905714	0.884032	0.817088	0.919138
0.906970	0.821427	0.607904	0.730287	0.722220	0.754024	0.774599	0.824094
0.777229	0.815652	0.832119					
0.863694	0.832196	0.878037	0.905975	0.000000	0.807164	0.928353	0.994677
0.765475	0.634830	0.807487	0.637342	0.902946	0.961630	0.904050	0.917859
0.975257	0.891985	0.635371	0.804832	0.728480	0.739894	0.828943	0.908251
0.822653	0.890046	0.896697					
0.866702	0.844557	0.781034	0.725173	0.807164	0.000000	0.730827	0.809748
0.917553	0.721028	0.824774	0.702460	0.779689	0.812050	0.835711	0.735551
0.794944	0.826470	0.741579	0.831039	0.739274	0.732015	0.807442	0.845982
0.843267	0.828080	0.820651					
0.796948	0.771692	0.825826	0.939170	0.928353	0.730827	0.000000	0.929044
0.693699	0.593256	0.752545	0.620478	0.904319	0.911693	0.831393	0.934744
0.939392	0.825829	0.609087	0.737280	0.708184	0.735855	0.773269	0.837073
0.770676	0.819898	0.838624					
0.864363	0.827962	0.875247	0.907334	0.994677	0.809748	0.929044	0.000000
0.765813	0.634161	0.808341	0.639123	0.905113	0.959005	0.900943	0.920838
0.974308	0.893605	0.636650	0.802654	0.735376	0.737724	0.821036	0.907471

Рисунок 3.5 – Фрагмент матрицы корреляций минимальных значений энергий множественного докинга, полученной с помощью оригинальной программы CorrConv

Итогом свертки спектра энергий множественного докинга стал файл Anxio.cd27, который содержит 11814 значений корреляционных свертки исходных данных. Фрагмент обучающей выборки, полученной с использованием корреляционной свертки результатов множественного мультитаргетного ансамблевого докинга, показан в таблице 3.11.

Таблица 3.11 – Фрагмент таблицы с обучающей выборкой на основе множественного мультитаргетного докинга

Mol ID	Code	Levels	LevH	LevHM	LevA	ADRA1A 3p0g
1	CHEMBL99259	high	h	hm	a	16278
2	CHEMBL513136	high	h	hm	a	14868
3	CHEMBL3410223	high	h	hm	a	11852
4	CHEMBL323519	high	h	hm	a	10932
5	CHEMBL204240	high	h	hm	a	10088
6	CHEMBL314608	high	h	hm	a	10056
7	CHEMBL319178	high	h	hm	a	15755
8	CHEMBL101045	high	h	hm	a	10159
9	CHEMBL543621	high	h	hm	a	10644
10	CHEMBL545731	high	h	hm	a	10239
11	CHEMBL3409256	high	h	hm	a	16332
12	CHEMBL153823	high	h	hm	a	12616
13	CHEMBL466847	high	h	hm	a	14466

14	CHEMBL3084529	high	h	hm	a	13034
15	CHEMBL3410224	high	h	hm	a	11747

Были сформированы общие для всех нейросетевых моделей две внешние тестовые выборки: первая из 28 референсных соединений, которые представляют собой известные лекарственные препараты для терапии тревожных расстройств; вторая из 42 соединений с опубликованными в открытой печати данными по химической структуре и анксиолитической активности. В ходе подготовки тестовых выборок для составления матриц аффинности рассчитаны 2030 минимумов из 304500 значений энергий докинга. Соединения из референсной выборки приведены в таблице 3.12.

Таблица 3.12 – Названия известных лекарственных препаратов, применяемых для лечения тревожных расстройств и используемых в настоящей работе в качестве внешней референсной тестовой выборки

<b>Названия референсных препаратов</b>	
Фабомотизол	Мебутамат
Алпразолам	Мепробамат
Авиандр <sup>©</sup>	Мидазолам
Буспирон	Нитразепам
Клобазам	Феназепам
Клоназепам	Аминофенилмасляная кислота
Диазепам	Празепам
Доксепин	Прегабалин
Этифоксин	Сертралин
Флунитразепам	Тиотиксен
Флуоксетин	Тофизопам
Флувоксамин	Венлафаксин
Кетазолам	Золпидем
Лорпипразол	Зопиклон

Примечание – © – приведено торговое название референсного лекарственного препарата с химической формулой 2,8-диметил-5-(2-фенилэтил)-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-*b*]индола гидрохлорид (авиандр).

Данные по тестовым соединениям, информация о которых получена из открытых источников, приведены в таблице 3.13.

Таблица 3.13 – Коды соединений, для которых опубликованы данные о химической структуре и уровне анксиолитической активности, используемых в настоящей работе в качестве внешней дополнительной тестовой выборки

Код соединения	Метка уровня активности	Публикация
AZH-0055	high	Спасов, 2020
AZH-0057	high	Спасов, 2020
AZH-0061	high	Спасов, 2020
AZH-0062	high	Спасов, 2020
BIF-0066	high	Спасов, 2020
DAB-0007	high	Таран, 2017
DAB-0019	high	Таран, 2017
DAB-0021	high	Maltsev, 2021, Мирошников, 2020
DAB-0029	high	Спасов, 2018
RD-0004	high	Скрипка, 2021
RD-0012	high	Скрипка, 2021
RD-0013	high	Скрипка, 2021
ZDM-0004	high	Скрипка, 2022
ZDM-0081	high	Скрипка, 2022
BIF-0059	moderate	Спасов, 2020
BIF-0069	moderate	Спасов, 2020
DAB-0020	moderate	Maltsev, 2021
DAB-0023	moderate	Maltsev, 2021
DAB-0041	moderate	Мирошников, 2020
DAB-0045	moderate	Мирошников, 2020
RD-0014	moderate	Скрипка, 2021
ZDM-0005	moderate	Скрипка, 2022
AZH-0054	low	Спасов, 2020
AZH-0056	low	Спасов, 2020
AZH-0063	low	Спасов, 2020
DAB-0010	low	Мирошников, 2020
DAB-0016	low	Мирошников, 2020
DAB-0022	low	Maltsev, 2021
DAB-0033	low	Мирошников, 2020
DAB-0034	low	Maltsev, 2021, Мирошников, 2020
DAB-0035	low	Мирошников, 2020
DAB-0036	low	Мирошников, 2020
DAB-0038	low	Maltsev, 2021
DAB-0040	low	Мирошников, 2020
DAB-0043	low	Мирошников, 2020
DAB-0044	low	Мирошников, 2020
BIF-0060	inactive	Спасов, 2020

DAB-0027	inactive	Спасов, 2018
DAB-0028	inactive	Спасов, 2018
DAB-0046	inactive	Спасов, 2018
RD-0005	inactive	Skripka, 2021
RD-0010	inactive	Skripka, 2021

Прогнозная выборка составлена из 107 новых синтезированных соединений. При этом было обработано 465450 энергий докинга и составлена матрица аффинности из 3103 минимальных значений энергии простого докинга. Полные таблицы с обучающими, тестовыми и прогнозной выборками приведены в электронном приложении к настоящей диссертации.

### **3.7 Обучение искусственных нейронных сетей и оценка их точности**

Каждая нейросетевая модель была обучена в итеративном режиме. Сначала было обучено по 2000 нейронных сетей на каждом из семи вариантов сэмплинга – способа формирования рабочих обучающих, тестовых и валидационных подвыборок, в которых химические соединения разделялись на три категории: train, test, validation, в отношении 5:1:1 соответственно. Затем проводился отбор нейросетей по качеству классификации на этих внутренних тестовой и валидационной подвыборках. Настройки отобранных нейронных сетей фиксировались для последующего итеративного обучения в пользовательском режиме и среди обученных нейросетей отбиралась лучшая для данного сэмплинга. Пример настроек для обучения можно увидеть на рисунке 3.6. Для выявления каждой найденной лучшей нейронной сети, входящей в консенсусную модель, обучалось от 2000 до 4000 нейросетей.

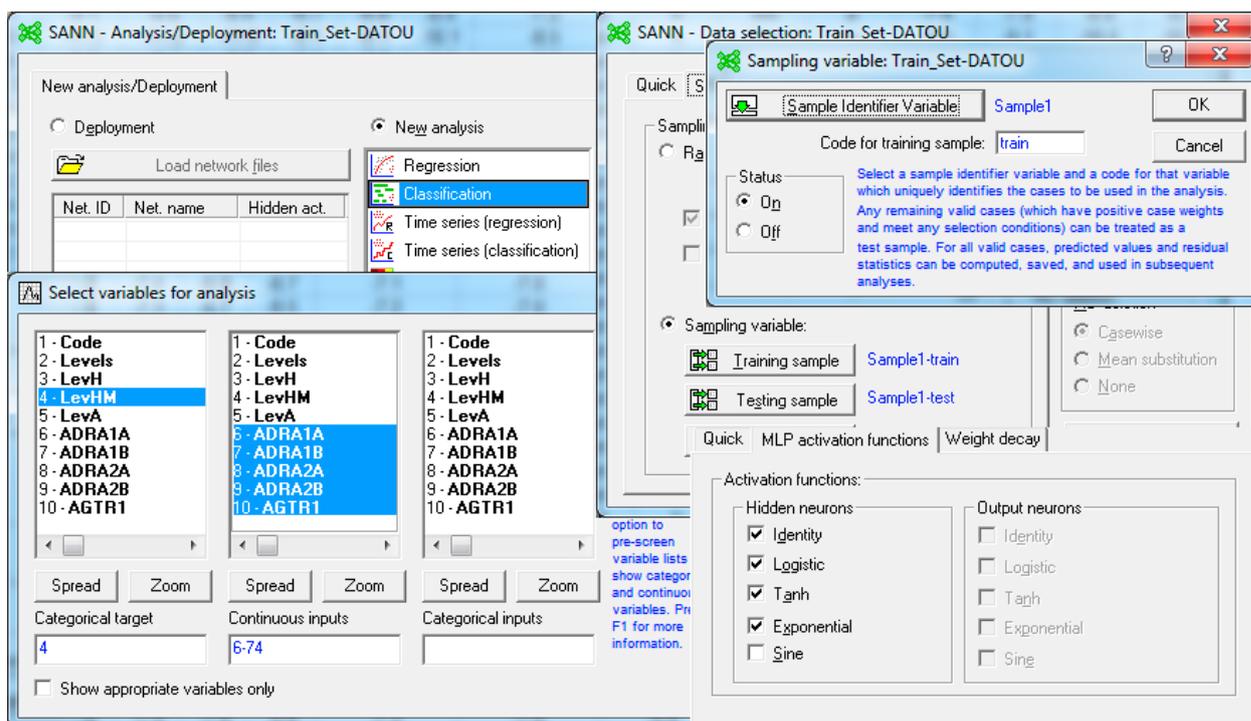


Рисунок 3.6 – Интерфейс программы Statistica с настройками обучения искусственной нейронной сети

Все ИНС, составляющие полученные нейросетевые модели, обучались на соответствующих наборах данных, описанных ранее, и имеют аналогичные названия. Первую модель в первом блоке (Docking-178), несмотря на удовлетворительную точность классификации на тестовой выборке, отличало очень низкое качество прогноза референсных соединений. Поэтому было выполнено повторное обучение на некоторых сэмпингах, выбор которых был сделан на основе проведенного анализа результатов консенсусного прогноза. Были повторно обучены нейросети на 3, 4 и 6 сэмпингах, полученная модель стала пятой в первом блоке (Docking-178 V2). Благодаря повторному обучению удалось повысить точность прогноза референсов на 28%, при этом точность прогноза на тестовом наборе, упала в среднем на 2,4%.

Точность классификации для всех наборов соединений у модели второго блока (GABAR-x27), построенной на основе множественного докинга в ГАМК<sub>A</sub>-рецептор, самая высокая: 97,4% – на обучающей выборке; 90,9% – на внешней тестовой выборке из референсных соединений,

препаратах, применяемых в терапии тревожных расстройств; 57,1% – на внешней тестовой выборке из опубликованных соединений.

Показатели точности классификации для нейросетевых моделей в третьем блоке оказались самыми непредсказуемыми. Так, несмотря на детальное описание структуры химических соединений в модели (Dock-All+QL-1), которое было составлено на расширенной выборке из значений энергии простого докинга полной БД и структурных QL-дескрипторов (в этой модели 102 входных нейрона), точность прогноза оказалась самой низкой, в случае с внешней тестовой выборкой из опубликованных соединений точность составила 16,7%. Пятая нейросетевая модель (Dock-All-Targets+OmoUmo) продемонстрировала наибольшую точность: 89,9% – на объединенной обучающей выборке; 67,0% – на внешней тестовой выборке из референсных препаратов; 54,8% – на внешней тестовой выборке из известных соединений.

Три нейросетевые модели (Conv, Conv11, QL-1), построенные только на различных вариантах комбинации структурных QL-дескрипторов первого ранга, не вошли в какой-либо блок, точность прогноза для них приведена ниже. В таблице 3.14 приведены значения общей точности прогноза, чувствительность и специфичность 14 нейросетевых моделей. Уровень значимости всех нейросетевых моделей по биномиальному критерию составляет  $p < 1 \cdot 10^{-15}$  [Глотов, 1982]. Детальное описание архитектуры моделей приведено в электронном приложении к настоящей диссертации.

Показатели точности автопрогноза нейросети на основе корреляционной свертки и множественного мультитаргетного докинга составляет Acc=90,7%, Sens=90,9%, Spec=90,5%. Однако точность на референсной выборке составила всего 12,5%.

Таким образом, в ходе диссертационного исследования было составлено подробное описание химических структур изучаемых соединений. Были сформированы соответствующие обучающие выборки и применены несколько принципиально отличных архитектур ИНС. Всего в работе было

обучено около 300 000 нейронных сетей и получено 15 классификационных моделей.

Таблица 3.14 – Показатели точности нейросетевых моделей при классификации соединений с анксиолитической активностью

Модель	Точность, %		
	Train Set	Ref Set	Test Set
<b>БЛОК 1</b>			
Docking-178	98.9	36.0	50.0
New Chemotypes	100.0	63.6	45.2
Docking-178+OmoUmo	99.4	48.0	42.9
Structures Similar to Predict	99.4	64.0	45.2
Docking-178 V2	98.9	59.0	47.6
<b>БЛОК 2</b>			
<b>GABAR-x27</b>	<b>97.4</b>	<b>90.9</b>	<b>57.1</b>
<b>БЛОК 3</b>			
Dock-All	97.4	59.0	45.2
Dock-All+QL-1	99.8	36.0	16.7
Dock-All-Targets+Part Test	94.7	68.0	50.0
Dock-All-Targets+Part Test+OmoUmo	100.0	57.0	40.0
<b>Dock-All-Targets+OmoUmo</b>	<b>89.9</b>	<b>67.0</b>	<b>54.8</b>
<b>Дополнительные модели</b>			
Conv	78.0	25.0	54.8
Conv11	67.8	25.0	47.6
QL-1	98.9	100.0	23.8

Примечание – Train Set – результаты общей точности прогноза на объединенной обучающей выборке (автотестирование); Ref Set – результаты общей точности прогноза на внешней тестовой выборке известных препаратов, применяемых в терапии тревожных расстройств; Test Set – результаты общей точности прогноза на внешней тестовой выборке известных соединений с опубликованными данными об активности. Полужирным шрифтом выделены модели, отобранные для проведения консенсусного виртуального скрининга.

### 3.8 Виртуальный скрининг новых соединений на анксиолитическую активность

С помощью построенных нейросетевых моделей был выполнен виртуальный скрининг изучаемых соединений перспективных химических классов. Лучшая из 14 построенных нейросетевых моделей впервые была применена для прогноза активности шести соединений класса 2-замещенных 8-амино-1,2,3,4-тетрагидро-пиразино[1,2-а]бензимидазолов. В ходе консенсусного прогноза на семи вариантах сэмплинга три соединения из шести в классе предположительно обладают анксиолитическим действием. В таблице 3.15 представлен фрагмент результатов прогноза активности конденсированных производных бензимидазола на основе консенсуса из семи оценок, полученных в семи вариантах сэмплинга. Полную таблицу можно увидеть в электронном приложении к настоящей диссертации.

Таблица 3.15 – Фрагмент результатов прогноза анксиолитической активности конденсированных производных бензимидазола

Шифр соединения	Сэмплинг 1		Сэмплинг 2		...	Сэмплинг 7		Консенсус
	LevHM	$F_m$	LevHM	$F_m$		LevHM	$F_m$	
<b>VI1</b>	<b>hm</b>	<b>0.808</b>	<b>hm</b>	<b>1.000</b>	...	<b>hm</b>	<b>0.998</b>	<b>hm</b>
VI2	nhm	0.983	hm	1.000	...	hm	0.921	nhm
VI3	nhm	0.513	nhm	1.000	...	nhm	0.524	nhm
<b>VI4</b>	<b>nhm</b>	<b>0.502</b>	<b>hm</b>	<b>1.000</b>	...	<b>hm</b>	<b>0.685</b>	<b>hm</b>
VI5	nhm	0.744	hm	0.698	...	hm	0.826	nhm
<b>VI6</b>	<b>nhm</b>	<b>0.909</b>	<b>hm</b>	<b>0.737</b>	...	<b>hm</b>	<b>0.964</b>	<b>hm</b>

Примечание – LevHM – уровень активности: hm – высокая или умеренная; nhm – низкая или отсутствие активности.  $F_m$  – функция принадлежности, у.е.

Полужирным шрифтом выделены соединения, отнесенные по прогнозу к классу соединений с выраженной активностью.

Модель на основе множественного докинга в ГАМК<sub>A</sub>-рецептор сначала была применена в прогнозе активности пяти соединений класса ацетамидных производных 1-метилхиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-диона. Исходя из данных *in silico* прогноза, одно из пяти соединений должно обладать выраженной

анксиолитической активностью, сопоставимой с препаратом сравнения диазепамом (таблица 3.16).

Таблица 3.16 – Результаты нейросетевого прогноза анксиолитической активности новых производных хиназолинов

Соединение	LevHM	$F_m$
VMA-20-25	nhm	0.978
VMA-20-26	nhm	0.845
<b>VMA-20-27</b>	<b>hm</b>	<b>0.997</b>
VMA-20-34	nhm	0.999
VMA-20-37	nhm	0.995
<b>Диазепам</b>	<b>hm</b>	<b>0.999</b>

Примечание – LevHM – уровень активности: hm – высокая или умеренная; nhm – низкая или отсутствие активности.  $F_m$  – функция принадлежности, у.е.

Полужирным шрифтом выделены соединения, отнесенные по прогнозу к классу соединений с выраженной активностью.

Впоследствии было решено использовать третий фильтр прогноза в виде системы IT Microcosm [Vassiliev, 2014], дополняя обе лучшие нейросетевые модели («Dock-All-Targets+OmoUmo» и «GABAR-x27»). Для последующих 14 классов 23 рядов химических соединений прогноз был осуществлен на основе применения описанных лучших нейросетевых моделей, а также прогноза с помощью IT Microcosm. Пример результатов прогноза, выполненного с помощью IT Microcosm, можно увидеть в таблице 3.17.

Таблица 3.17 – Пример результатов прогноза анксиолитической активности новых синтезированных соединений с помощью системы IT Microcosm

Code	High	Fm	HighMod	Fm	Active	Fm	Consensus	Fm
AS-612	N	0.773	N	0.773	N	0.750	inactive	0.765
AS-616	N	0.727	N	0.705	N	0.727	inactive	0.720
LK-13	N	0.750	N	0.818	N	0.841	inactive	0.803
AS-617	N	0.795	N	0.750	N	0.750	inactive	0.765
AS-620	N	0.705	N	0.773	N	0.773	inactive	0.750
AS-622	N	0.682	N	0.705	N	0.659	inactive	0.682

AS-624	N	0.705	N	0.795	N	0.682	inactive	0.727
AS-626	N	0.705	N	0.750	N	0.659	inactive	0.705
LK-17	N	0.841	N	0.795	N	0.818	inactive	0.818
SHE-240	A	0.568	A	0.886	A	0.955	high	0.803
SHE-282	N	0.500	A	0.886	A	0.932	moderate	0.773
SHE-273	N	0.818	A	0.909	A	0.977	moderate	0.901
SHE-70	N	0.955	A	0.750	A	0.886	moderate	0.864
SHE-75	A	0.523	A	0.909	A	0.909	high	0.780
SHE-76	N	0.795	A	0.750	A	0.909	moderate	0.818
SHE-267	N	0.545	A	0.864	A	0.909	moderate	0.773
BM-706	N	0.909	A	0.545	A	0.682	moderate	0.712
BM-708	N	0.795	A	0.523	N	0.523	—	0.614
BM-738	N	0.795	A	0.659	A	0.636	moderate	0.697
BM-740	N	0.864	N	0.545	A	0.591	low	0.667
BM-418	N	0.886	A	0.750	A	0.705	moderate	0.780
BM-378	N	0.795	A	0.545	A	0.545	moderate	0.629
BM-461	N	0.886	A	0.659	A	0.682	moderate	0.742
AT-20	N	0.727	A	0.591	A	0.795	moderate	0.705
AF-209-5	N	0.750	N	0.591	A	0.682	low	0.674
AF-557-1	N	0.705	A	0.795	A	0.977	moderate	0.826
OL-Atr	N	0.750	N	0.636	A	0.568	low	0.652
AD-BDA	N	0.659	N	0.795	N	0.568	inactive	0.674
ss-77	N	0.932	A	0.523	N	0.500	—	0.652

Примечание – Code – шифр соединений; High, HighMod, Active – метки прогноза наличия (A) или отсутствия (N) высокой, выраженной или наличия активности соответственно;  $F_m$  – функция принадлежности соответствующей прогнозной оценки уровня активности, у.е.; Consensus – итоговая оценка активности, полученная основе соотнесения друг с другом предыдущих полученных меток уровня активности.

Кроме того, был использован прогнозный фильтр в виде учета проницаемости соединений через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Соответствующие расчеты были выполнены с помощью нейросетевых

зависимостей. В качестве входных данных были использованы физико-химические параметры, полученные с помощью программы DruLiTo (NIPER S.A.S. Nagar, India). С помощью технологий ИНС установлено, что все соединения предположительно проникают через ГЭБ.

Для соединений, спрогнозированных как обладающие выраженной анксиолитической активностью по описанному консенсусному подходу, были рассчитаны значения  $LD_{50}$  для мышей с помощью программы Microcosm ADMET. Результаты прогноза  $LD_{50}$  соединений, отобранных для экспериментального тестирования, приведены в таблице 3.18.

Таблица 3.18 – Прогнозные значения острой пероральной токсичности для мышей новых синтезированных веществ с возможной анксиолитической активностью

Шифр соединения	Среднее $LD_{50}$ (мг/кг)	Класс токсичности (OECD)*
BI-1	530	IV (Малотоксично)
BI-2	530	IV (Малотоксично)
BI-3	443	IV (Малотоксично)
BI-4	447	IV (Малотоксично)
BI-5	249	IV (Малотоксично)
BI-6	1616	IV (Малотоксично)
VMA-20-25	2998	VI (Относительно безвредно)
VMA-20-26	849	IV (Малотоксично)
VMA-20-27	581	IV (Малотоксично)
VMA-20-34	2268	IV (Малотоксично)
VMA-20-37	1283	V (Практически нетоксично)
sh-New-0178-N2	3933	VI (Относительно безвредно)
sh-adr01-N8	518	IV (Малотоксично)
sh-New-0156-N19	4935	V (Практически нетоксично)
sh-New-0156-N20	2672	VI (Относительно безвредно)
VOL-0002	1488	V (Практически нетоксично)
VOL-0005	7382	VI (Относительно безвредно)
VOL-0010	4538	VI (Относительно безвредно)
VOL-0018	1488	V (Практически нетоксично)
VOL-0019	2078	V (Практически нетоксично)
VOL-0020	2325	V (Практически нетоксично)
SHE-70	1136	V (Практически нетоксично)
SHE-75	1245	V (Практически нетоксично)
SHE-240	492	IV (Малотоксично)

BM-418	1094	V (Практически нетоксично)
Маа-730	1175	V (Практически нетоксично)

Примечание – \* – классы токсичности веществ в соответствии с модифицированной классификацией Организации экономического сотрудничества и развития (OECD).

Всего через виртуальный скрининг прошло 107 соединений 26 различных химических рядов. На рисунке 3.7 показан пример консенсусного прогноза анксиолитической активности новых синтезированных соединений. Полные результаты прогнозов, выполненных с помощью построенных нейросетевых моделей, приведены в электронном приложении к настоящему научно-квалификационному исследованию.

Code	MC	F <sub>m</sub>	Rank	Dock27	F <sub>m</sub>	Rank	DockTarg	F <sub>m</sub>	Rank	MeanRank	BBB	F <sub>m</sub>	Rank	LD50-mouse-oral
sh-adr01-N8	moderate	0.818	1	hm	1.000	2	hm	0.749	3	2.00	1	0.999	1	518
sh-New-0156-N19	moderate	0.674	4	hm	0.993	4	hm	0.466	4	4.00	1	0.992	3	4935
sh-New-0157-N20	moderate	0.773	2	hm	0.998	3	hm	0.825	1	2.00	1	0.999	2	2672
sh-New-0178-N2	moderate	0.697	3	hm	1.000	1	hm	0.809	2	2.00	1	0.848	4	3933
sh-New-0152-N16	moderate	0.689	6	hm	0.999		nhm	0.143			1	0.999		
sh-New-0158-N21	moderate	0.727	4	hm	0.996		nhm	0.143			1	0.999		
sh-New-0160-N22	moderate	0.636	9	hm	0.993		nhm	0.286			1	0.999		
sh-New-0161-N18	moderate	0.636	9	hm	0.970		nhm	0.143			1	0.999		
sh-New-0162-N23	moderate	0.652	8	hm	0.999		nhm	0.142			1	0.999		
vass-007-N14	moderate	0.735	3	hm	0.999		nhm	0.294			1	0.977		
sh-a22-N15	low	0.644		hm	0.999		hm	0.578						
sh-New-0174-N4	low	0.667		hm	1.000		hm	0.855						
sh-i10-N13	inactuve	0.659		hm	0.999		hm	0.492						
vass-009-N3	inactuve	0.667		hm	1.000		nhm	0.183						
vass-012-N11	inactuve	0.689		hm	0.954		hm	0.441						
sh-i12-N24	—	0.606		nhm	0.855		hm	0.866						
sh-New-0153-N17	—	0.644		hm	0.992		nhm	0.143						
vass-017-N1	—	0.652		hm	0.746		hm	0.938						

Рисунок 3.7 – Пример результатов итогового консенсусного прогноза анксиолитической активности новых синтезированных соединений

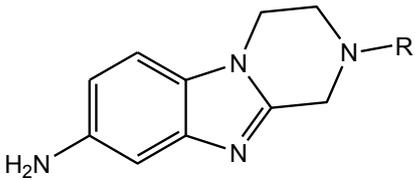
Примечание – Code – шифр изучаемых соединений; MC – уровень активности, полученный с помощью IT Microsoft;  $F_m$  – соответствующая функция принадлежности, у.е.; Rank – ранг соответствующей функции принадлежности; Dock27 – метка уровня активности, полученная с помощью множественного докинга в ГАМК<sub>A</sub>-рецептор (hm – высокая или умеренная; nhm – низкая или отсутствие активности); DockTarg – метка уровня активности, полученная с помощью мультитаргетного докинга в релевантные анксиолитической активности биомишени (hm – высокая или умеренная; nhm – низкая или отсутствие активности); MeanRank – среднее значение ранга; BBB – индекс проницаемости через ГЭБ, полученный с помощью нейросетевого прогноза (1 – соединение проникает через ГЭБ; 0 – соединение не проникает через ГЭБ); LD<sub>50</sub>-mouse-oral – рассчитанный

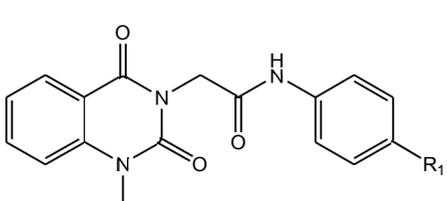
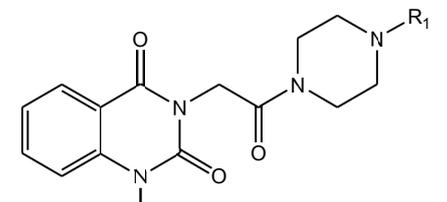
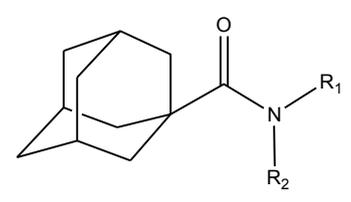
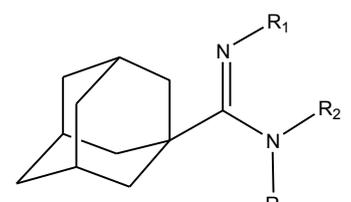
показатель острой пероральной токсичности в мг/кг. Зеленым выделены соединения, прошедшие виртуальный скрининг.

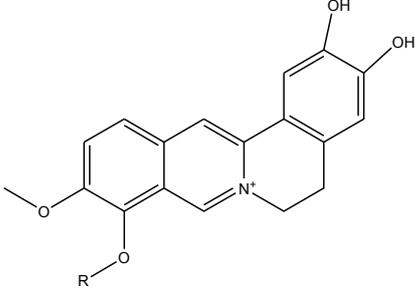
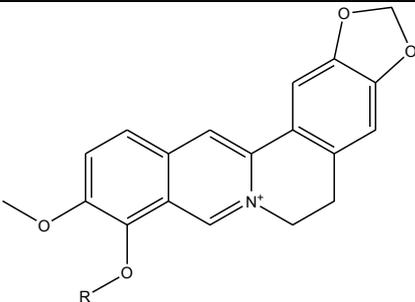
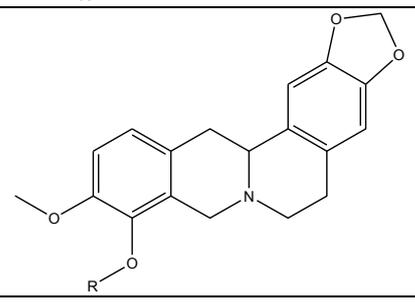
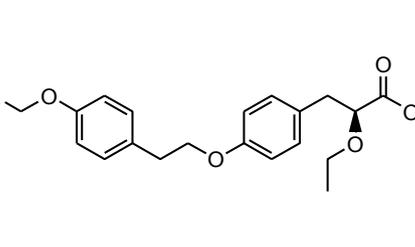
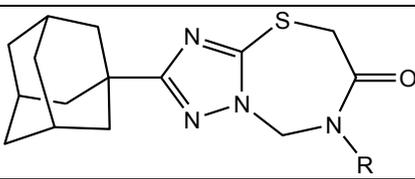
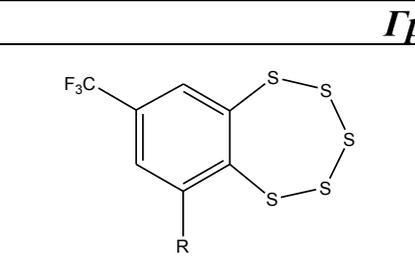
### 3.9 Экспериментальное тестирование соединений, перспективных по результатам виртуального скрининга

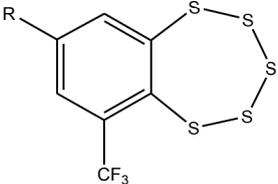
По результату *in silico* прогноза выраженного уровня психотропной активности для экспериментального тестирования было выделено 25 веществ из 107 соединений. Все изучаемые соединения принадлежат 12 рядам химических соединений, которые были объединены в пять укрупненных химических групп (таблица 3.19): 2-замещенные 8-амино-1,2,3,4-тетрагидропиразино[1,2-а]бензимидазолы; ацетамидные производные 1-метилхиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-диона; группа производных адамантана; группа различных природных производных, куда вошли ряды производных берберинов, моно-, ди- и три-терпеноидных производных (*S*)-2-этокси-3-фенилпропановой кислоты и 6-замещенных 2-(1-адамантил)-5,6,7,8-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[5,1-*b*][1,3,5]тиадиазепинов; группа пентатиепинов.

Таблица 3.19 – Перечень базовых скаффолдов, классов, шифров и их соответствующих радикалов, отобранных по виртуальному прогнозу для экспериментального тестирования

Формула скаффолда	Название класса	Шифр соединения	Радикалы отобранных соединений
<b>Группа бензимидазолов</b>			
	2-замещенные 8-амино-1,2,3,4-тетрагидропиразино[1,2-а]бензимидазолы	VI-1	R = метил
		VI-2	R = изопропил
		VI-3	R = изобутил
		VI-4	R = 2-метоксиэтил
		VI-5	R = 3-гидроксипроп

			ил
		VI-6	R = 2-гидроксиэтил
<b>Группа хиназолинов</b>			
	ацетамидные производные 1-метилхиназолин-2,4(1H,3H)-диона	VMA-20-25	R <sub>1</sub> = 4-метоксифенил
		VMA-20-34	R <sub>1</sub> = этокси
		VMA-20-37	R <sub>1</sub> = нитро
	ацетамидные производные 1-метилхиназолин-2,4(1H,3H)-диона	VMA-20-26	R <sub>1</sub> = метил
		VMA-20-27	R <sub>1</sub> = фенил
<b>Группа адамантанов</b>			
	амиды и имидады адамантан-1-карбоновой кислоты	sh-New-0156-N19	R <sub>1</sub> = 4-нитрофенил; R <sub>2</sub> = H.
		sh-New-0157-N20	R <sub>1</sub> = 4-бромфенил; R <sub>2</sub> = H.
	амиды и имидады адамантан-1-карбоновой кислоты	sh-New-0178-N2	R <sub>1</sub> = 2-изопропилфенил; R <sub>2</sub> = 2-изопропилфенил; R <sub>3</sub> = H.
		sh-adr01-N8	R <sub>1</sub> = фенил; R <sub>2</sub> = фениламино; R <sub>3</sub> = H. Дополнительно в положении 3 адамантана присоединен

			такой же фрагмент, как и в положении 1.
<b>Группа различных терпеноидных производных</b>			
		SHE-70	R = метил
	производные берберина	SHE-75	R = бутилсульфонил.
		SHE-240	R = метил
	моно-, ди- и три-терпеноидные производные (S)-2-этокси-3-фенилпропановой кислоты	BM-418	R = дигидробетулоновая кислота
	монотерпеноидсодержащие производные адамантана	Маа-718	R = 3,7-диметилоктил.
<b>Группа пентатиепинов</b>			
	производные бензо[f][1,2,3,4,5]пентатиепина	VOL-0002	R = 2,2,2-трифторацетиламино

		VOL-0005	R = 2-(пирролидин-1-ил)ацетиламино
		VOL-0019	R = 4-хлорбензоиламно
		VOL-0020	R = бензоиламино
		VOL-0010	R = 2,2,2-трифтороацетиламино

Полученные результаты по фиксируемым показателям в ходе выполнения базовых поведенческих тестов «Темная/светлая камера» и «Открытое поле», при введении животным исследуемых субстанций, были статистически обработаны. Эти данные индексировались с учетом положительного или отрицательного влияния соответствующего показателя, отражающего изменение эффекта данного химического соединения в поведенческом тесте в сравнении с контрольной группой, и затем суммировались по совокупности всех регистрируемых показателей. Первый интегральный индекс Инд1 показывает только статистическую значимость, выраженную в баллах в одном тесте, а второй интегральный индекс Инд2 учитывает значение каждого показателя в соответствующем эксперименте. Пример индексации приведен в таблице 3.20, полные результаты индексации находятся в электронном приложении к настоящей диссертации.

Таблица 3.20 – Фрагмент расчетов результирующих индексов наличия психотропного эффекта на основе показателей поведенческой активности в ходе экспериментального исследования в тесте «Темная/светлая камера» новых синтезированных соединений, активных по результатам виртуального прогноза

Шифр	ЛП			Переходы			ВрвСК			Выгл			Инд1	Инд2
	X	S	P	X	S	P	X	S	P	X	S	P		
SHE-70	-62	1	1	44	1	3	61	1	1	-29	-1	0	5	256
SHE-75	-36	1	0	44	1	3	107	1	4	1	1	0	7	561
SHE-240	-43	1	0	37	1	3	71	1	3	28	1	0	6	324
BM-418	-69	1	2	61	1	3	161	1	4	-65	-1	4	5	707
Маа-730	-42	1	0	1	1	0	75	1	4	-38	-1	2	2	224
Диазепам	-53	1	1	5	1	0	90	1	4	6	1	0	5	413

Примечание – ЛП – латентный период; Переходы – переходы между камерами установки; ВрвСК – время нахождения в светлой камере установки; Выгл – выглядывания из темной камеры установки; X – разность значения соответствующего параметра в сравнении с контролем; S – индекс положительного +1 или отрицательного -1 влияния соответствующего параметра; P – индекс достоверности влияния соответствующего параметра, принимает значения от 0 (не достоверен) до 5 (очень высоко достоверен) при парных сравнениях по отношению к контролю по U-критерию Манна-Уитни; Инд1 и Инд2 – интегральные индексы оценки психотропного эффекта химических соединений, у.е.

При обработке данных наличия или отсутствия психотропного эффекта эти индексы были рассчитаны для всех отобранных по результатам виртуального прогноза химических соединений и препарата сравнения. Были получены итоговые общие индексы, представляющие собой сумму соответствующих индексов по двум базовым поведенческим тестам ИндОбщ1 и ИндОбщ2. К соединениям, проявляющим психотропный эффект, были отнесены вещества с итоговым индексом  $\text{ИндОбщ1} \geq 2$ , так как это минимальный достоверный балл значимости. ИндОбщ2 учитывался в дальнейшем при экспертной оценке конкретной фармакологической активности (таблица 3.21). Полные таблицы по всем изученным соединениям показаны в электронном приложении к настоящей диссертации. Наибольшее значение ИндОбщ1 было у препарата сравнения диазепама и составило 16 единиц. Сходными по уровню проявляемого эффекта после статистической обработки данных были соединения SHE-75, SHE-240 и BM-418, для

которых ИндОбщ1 был равен 18, 16 и 15 соответственно. При этом, согласно ИндОщб2 SHE-75 превосходило препарат сравнения на 112 единиц, а ВМ-418 – на 381 единицу. Всего, на основе полученных индексов, только пять соединений под шифрами sh-New-0178-N2, SHE-75, SHE-240, ВМ-418 и VOL-0020 были наиболее близки к препарату сравнения. Остальные соединения уступали по ИндОбщ1 в полтора и более раза, и по ИндОбщ2 в два и более раза. Например, для вещества с шифром sh-adr01-N8 ИндОбщ1 равен 13, однако ИндОбщ2 составляет только 664 единицы, что почти в два с половиной раза меньше, чем у препарата сравнения. При этом стоит отметить, что соединение с шифром ВМ-418, которое находилось на третьем месте при индексации с использованием первого индекса (ИндОбщ1=15), в сравнении с диазепамом (ИндОбщ1=16), показывало наиболее высокий результат по ИндОбщ2, превосходя диазепам на 381 единицу. Кроме того, соединение VOL-0020 согласно ИндОбщ2 уступало препарату сравнения всего на одну единицу и было меньше на семь единиц по ИндОбщ1.

Таблица 3.21 – Фрагмент расчетов результирующих общих индексов наличия психотропного эффекта в ходе экспериментального исследования в двух базовых поведенческих тестах новых синтезированных соединений, активных по результатам виртуального прогноза

Шифр	Тест «Темная/светлая камера»		Тест «Открытое поле»		ИндОбщ1	ИндОбщ2
	Инд1	Инд2	Инд1	Инд2		
SHE-70	5	256	7	681	12	937
<b>SHE-75</b>	<b>7</b>	<b>561</b>	<b>11</b>	<b>1201</b>	<b>18</b>	<b>1762</b>
<b>SHE-240</b>	<b>6</b>	<b>324</b>	<b>10</b>	<b>1173</b>	<b>16</b>	<b>1497</b>
<b>ВМ-418</b>	<b>5</b>	<b>707</b>	<b>10</b>	<b>1324</b>	<b>15</b>	<b>2031</b>
Маа-730	2	224	5	239	7	463
Диазепам	<b>5</b>	<b>413</b>	<b>11</b>	<b>1237</b>	<b>16</b>	<b>1650</b>

Примечание – Инд1 и Инд2 – индексы оценки психотропного эффекта химических соединений; ИндОбщ1 и ИндОбщ2 – общие индексы, представляющие собой сумму отдельных индексов, у.е. Полужирным шрифтом выделены вещества, отнесенные согласно проведенному анализу к соединениям, обладающим выраженной психотропной активностью.

Статистические различия ценивались в парных сравнениях по отношению к контролю по U-критерию Манна-Уитни.

Используя полученные общие индексы, основанные на статистической обработке экспериментальных данных, были определены значения точности виртуального прогноза анксиолитической активности новых синтезированных химических соединений. Химические соединения из класса 2-замещенных 8-амино-1,2,3,4-тетрагидро-пиразино[1,2-а]бензимидазолов были спрогнозированы с помощью одной нейросетевой модели, обученной на основе простого мультитаргетного докинга и значений энергий граничных MO (DATOU). Из шести соединений три спрогнозированы как обладающие активностью: VI1, VI4, VI6. Согласно полученным индексам, активными оказались VI1, VI4, VI5; неактивными – VI2, VI3, VI6. При этом стоит отметить, что наиболее активными были вещества с шифрами VI4 и VI5, ИндОбщ<sup>1</sup> которых составил 7 и 4 соответственно. Таким образом, результаты виртуального прогноза и экспериментального скрининга не совпали только у двух соединений (VI5 и VI6) из шести. Следовательно, точность прогноза в классе 2-замещенных 8-амино-1,2,3,4-тетрагидро-пиразино[1,2-а]бензимидазолов составляет 66,7%.

Для прогноза соединений с высоким уровнем активности из группы хиназолинов была использована нейросетевая модель на основе множественного докинга (GABAR-x27). По виртуальному прогнозу одно соединение из класса ацетамидных производных 1-метилхиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-диона должно обладать высокой активностью. В настоящей работе эта нейросетевая модель использовалась в контексте прогноза выраженной психотропной активности. Таким образом, несмотря на то, что согласно полученным экспериментальным данным, четыре соединения обладают выраженным психотропным эффектом, строго высоким уровнем активности обладает только одно вещество с шифром VMA-20-27. При этом было правильно спрогнозировано одно неактивное соединение VMA-20-25. Исходя из полученных результатов, по которым активность двух соединений

из пяти подтвердилась в эксперименте, точность компьютерного прогноза в классах 3-(2-фениламинооксоэтил) производных 1-метилхиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-дионов и 3-(2-(1-пиперазинил)оксоэтил) производных 1-метилхиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-дионов составляет 40%. Если рассматривать прогноз высокого уровня психотропной активности данных соединений, то точность составляет 100%.

Три последние укрупненные группы были спрогнозированы с помощью консенсусного подхода. Так, 75%-ная точность виртуального прогноза показана для соединений из группы производных адамантана, правильно классифицированы вещества с шифрами sh-N2, sh-N8 и sh-N20. 100% точность прогноза показана для различных природных соединений, куда вошли ряды производных берберинов, моно-, ди- и три-терпеноидных производных (*S*)-2-этокси-3-фенилпропановой кислоты и 6-замещенных 2-(1-адамантил)-5,6,7,8-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[5,1-*b*][1,3,5]тиадиазепинов, что согласуется с литературными данными, в которых подчеркивается высокий потенциал терпеноидных производных [de Sousa, 2015; Dragomanova, 2023], берберина [Peng, 2004] и производных адамантана [Ковалев, 2021], как обладающих психотропной активностью. Среди пентатиепинов, согласно полученным индексам, активными оказались соединения с шифрами VOL-0002, VOL-0010 и VOL-0020, таким образом, точность прогноза составила 60%.

В итоге, при подсчете общей результативности совокупности построенных нейросетевых моделей прогноза активности соединений из структурно-разнообразных химических рядов было показано, что 17 соединений спрогнозировано корректно, а для 8 веществ прогноз не оправдался. Следовательно, общая точность *in silico* прогноза наличия психотропного эффекта составила 68%.

Перспективные вещества присутствуют в следующих химических рядах: 2-замещенных 8-амино-1,2,3,4-тетрагидро-пиразино[1,2-*a*]бензимидазолов; 3-(2-(1-пиперазинил)оксоэтил) производных 1-

метилхиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-дионов; амидоимидов адамантан-1-карбоновой кислоты; амидов адамантан-1-карбоновой кислоты; тетрагидроберберинов; 17-замещенных берберинов; деметиленберберинов; моно-, ди- и три-терпеноидных производных (*S*)-2-этоксипропановой кислоты; 6-замещенных 2-(1-адамантил)-5,6,7,8-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[5,1-*b*][1,3,5]тиадиазепинов; 6-трифтометил-бензо[*f*][1,2,3,4,5]пентатиепинов; 8-трифтометил-бензо[*f*][1,2,3,4,5]пентатиепинов.

Полученные данные свидетельствуют о достаточно высокой точности проведенного виртуального скрининга, которая составляет 68%. При этом были применены несколько подходов по компьютерному прогнозу с использованием одиночных нейросетевых моделей и с применением консенсусной методологии. В отдельных укрупненных группах производных адамантана, различных терпеноидных производных показана точность направленного поиска, приближающаяся к 100%.

### **3.10 Анксиолитическая активность новых синтезированных соединений и поиск соединения-лидера**

Для последующей оценки анксиолитического действия изученных соединений преимущественное внимание отдавалось следующим параметрам: число пересечений квадратов установки и число выходов в центр установки в тесте «Открытое поле» [Шабанов, 2016; Бандура, 2014] и число переходов между камерами установки и время нахождения в светлой камере установки в тесте «Темная/светлая камера» [Миронов, 2012; Шабанов, 2016]. При обработке данных в укрупненных химических группах установлено, что пять соединений показали статистически значимый эффект на уровне препарата сравнения (рисунки 3.8-3.11).

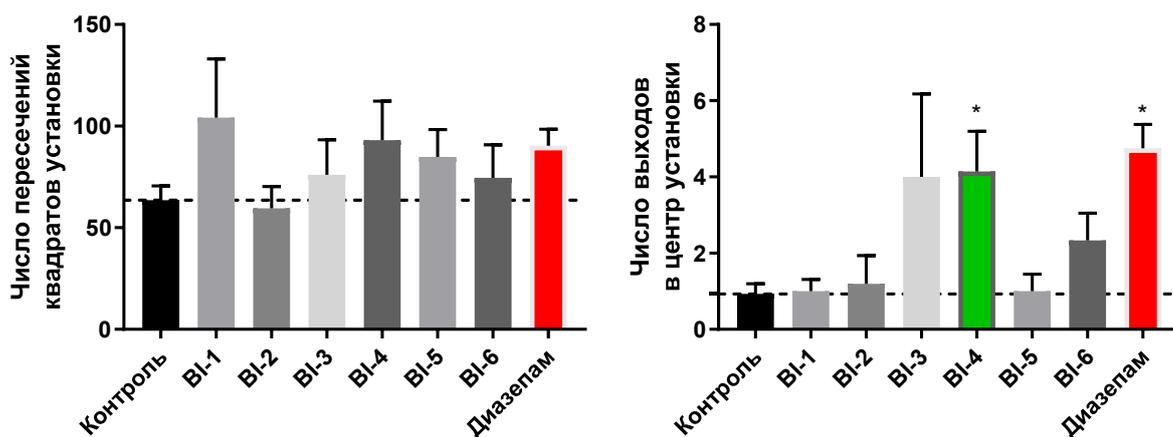


Рисунок 3.8 – Параметры поведенческой активности изучаемых производных пиразинобензимидазола (класс 1) в дозе, эквивалентной диазепаму (диазепам – 1 мг/кг, в/ж), в тесте «Открытое поле» ( $M \pm SEM$ )

Примечание – \* – отличия статистически значимы по отношению к контролю (критерий Краскела-Уоллиса с посттестом Данна,  $p < 0,05$ ).

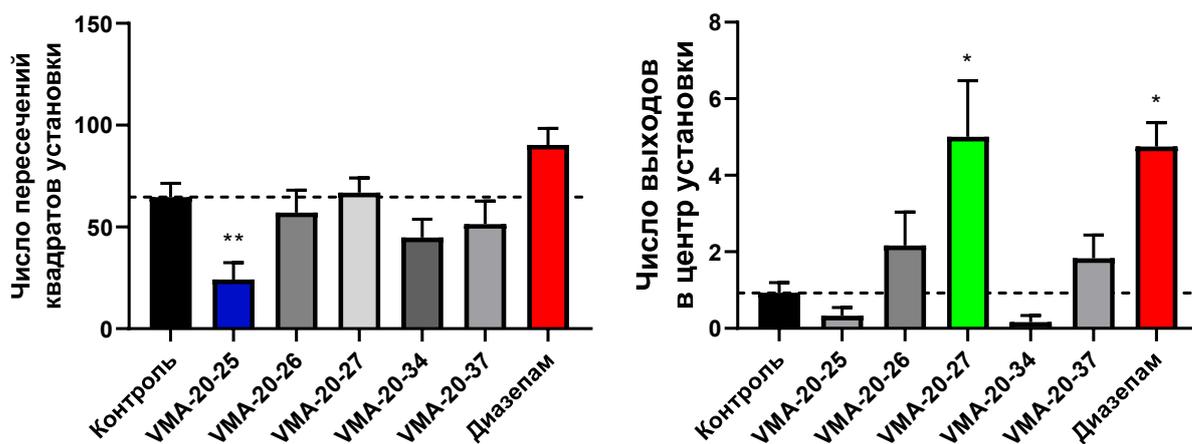


Рисунок 3.9 – Параметры поведенческой активности изучаемых производных хиназолиндиона (класс 2) в дозе, эквивалентной диазепаму (диазепам – 1 мг/кг, в/ж), в тесте «Открытое поле» ( $M \pm SEM$ )

Примечание – \* – отличия статистически значимы по отношению к контролю (критерий Краскела-Уоллиса с посттестом Данна,  $p < 0,05$ ).

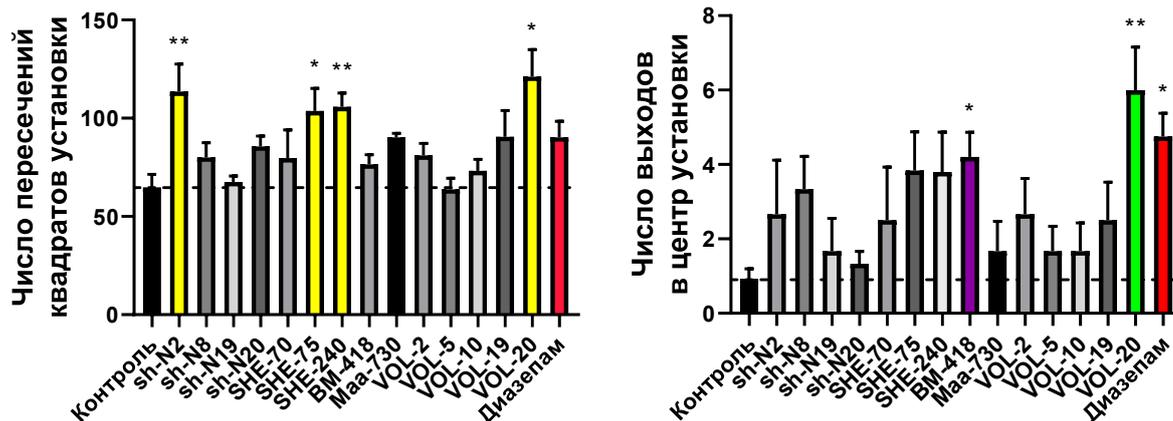


Рисунок 3.10 – Параметры поведенческой активности изучаемых веществ (классы 3, 5, 6, 12, 16) в дозе, эквивалентной диазепаму (диазепам – 1 мг/кг, в/ж), в тесте «Открытое поле» ( $M \pm SEM$ )

Примечание – \* – отличия статистически значимы по отношению к контролю (критерий Краскела-Уоллиса с посттестом Данна,  $p < 0,05$ ).

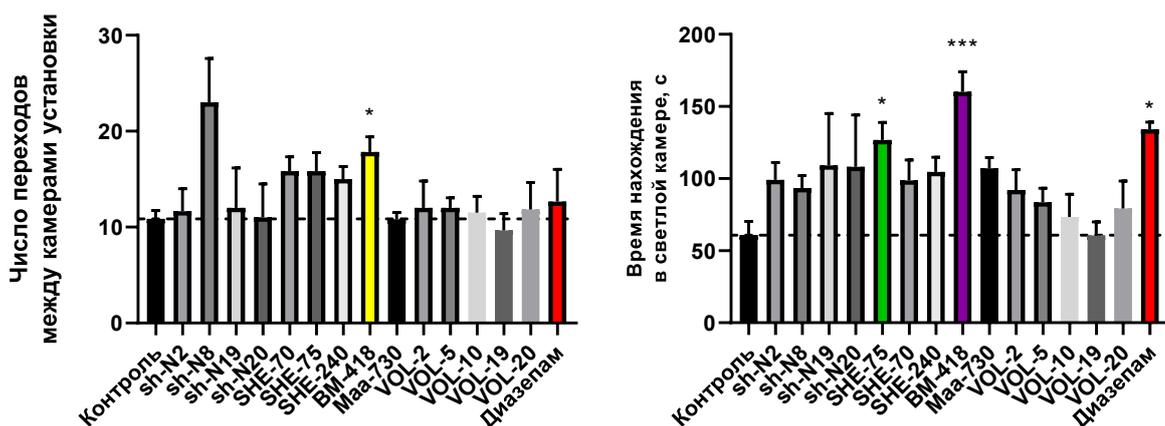


Рисунок 3.11 – Параметры поведенческой активности изучаемых веществ (классы 3, 5, 6, 12, 16) в дозе, эквивалентной диазепаму (диазепам – 1 мг/кг, в/ж), в тесте «Темная/светлая камера» ( $M \pm SEM$ )

Примечание – \* – отличия статистически значимы по отношению к контролю (критерий Краскела-Уоллиса с посттестом Данна,  $p < 0,05$ ).

По результатам проведенных экспериментов были получены следующие данные. Препарат сравнения диазепам не повышал число переходов между отсеками установки «Темная/светлая камера» в сравнении с группой контроля, при этом животные находились в светлом отсеке почти в два раза дольше. В тесте «Открытое поле», при введении диазепам, животные в пять раз чаще выходили в центр установки и в полтора раза чаще заглядывали в отверстия, чем при введении растворителя. Этот факт, в

совокупности с отсутствием значимых изменений по числу пересеченных квадратов установки, свидетельствует о преимущественном повышении поисковой активности, а не просто повышении двигательной активности, которая могла вырасти за счет психостимулирующего компонента. Таким образом, данные по препарату сравнения могут свидетельствовать о наличии анксиолитического действия, что согласуется с литературными данными [Скрипка, 2022].

Как было указано ранее, только пять соединений по уровню активности не уступали диазепаму. При этом проявление их эффектов было неоднородным. Так, соединения sh-New-0178-N2, SHE-75, SHE-240 и VOL-0020 статистически значимо повышали число пересечений квадратов установки в тесте «Открытое поле» относительно контрольной группы животных. Из этих веществ только у субстанции с шифром SHE-75 показано сопоставимое с препаратом сравнения диазепамом время нахождения животных в светлой камере установки в тесте «Темная/светлая камера».

Наиболее интересным соединением по полученным результатам является **BM-418** – (*S*)-(5-(4-(2-(4-(2-карбокси-2-этоксиэтил)фенокси)этил)фенокси)пентил)амид дигидробетулоновой кислоты, которое продемонстрировало наибольшую активность (рисунок 3.11). Структурная формула соединения BM-418 приведена на рисунке 3.12.

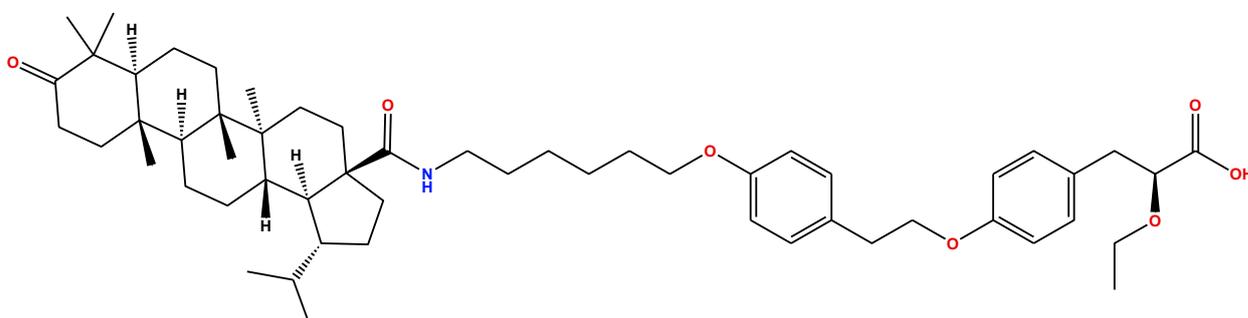


Рисунок 3.12 – Химическая формула соединения (*S*)-(5-(4-(2-(4-(2-карбокси-2-этоксиэтил)фенокси)этил)фенокси)пентил)амид дигидробетулоновой кислоты

Воздействие данного соединения также способствовало проявлению у мышей бóльшей активности в тесте «Открытое поле», они проводили больше времени в центре установки (рисунок 3.10). При этом двигательная активность, согласно числу пересечений квадратов установки (показатель «горизонтальная двигательная активность»), сохранялась у животных на уровне контрольных значений, что говорит о вероятном отсутствии психостимулирующего действия. Таким образом, только вещество VM-418 показало соответствующий положительный эффект в двух используемых поведенческих тестах, что стало решающим фактором в выборе соединения VM-418 как лидера.

Согласно руководству по проведению доклинических исследований новых лекарственных средств [Миронов, 2012] для подтверждения анксиолитического действия требуется использование трех моделей, одна из которых имеет характер конфликтной ситуации. В связи с этим, активность соединения VM-418 была изучена в конфликтном тесте «Наказуемое взятие воды по Vogel». В указанной методике, диазепам статистически значимо повышал число подходов к поилке в сравнении с контролем, что согласуется с литературными данными [Султанова, 2018]. Соединение VM-418 продемонстрировало статистически значимый отличный эффект от группы контроля и по уровню эффекта несколько превосходило препарат сравнения диазепам (рисунок 3.13).

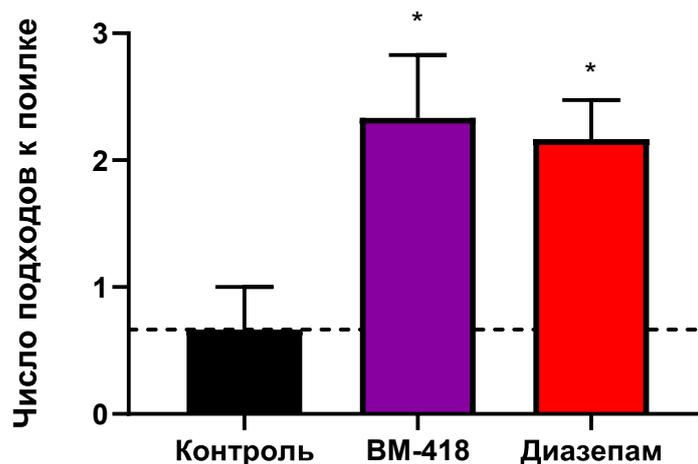


Рисунок 3.13 – Влияние соединения-лидера (ВМ-418) в дозе, эквимолярной диазепаму (диазепам – 1 мг/кг, в/ж), на число подходов к поилке в конфликтном тесте «Наказуемое взятие воды по Vogel» ( $M \pm SEM$ )

Примечание – \* – данные достоверны по отношению к контролю (критерий Краскела-Уоллиса с посттестом Данна,  $p < 0,05$ ).

Суммируя все выше изложенное, необходимо указать следующее. Был проведен экспериментальный скрининг новых химических соединений для подтверждения результатов *in silico* прогноза. Показана работоспособность методологии применения нейросетевых моделей в поиске химических соединений с психотропной активностью. Продемонстрирована достаточно высокая точность компьютерного поиска в 68% по сравнению с классическим фармакологическим скринингом, при котором точность поиска может составлять от 10 до 40% [Vassiliev, 2014]. Стоит обратить внимание, что при использовании консенсусного подхода в прогнозе точность в отдельных укрупненных группах выростала до 100%. По результатам экспериментального скрининга, было обнаружено пять соединений, по разным показателям не уступающим в активности препарату сравнения диазепаму в дозе 1 мг/кг. Наиболее перспективным было соединение ВМ-418, для которого доказано анксиолитическое действие в дозе, эквимолярной дозе препарата сравнения диазепам (1 мг/кг) на трех моделях в поведенческих тестах «Открытое поле», «Темная/светлая камера» и «Наказуемое взятие

воды по Vogel». Это соединение может быть рекомендовано для дальнейшего углубленного изучения его фармакологических свойств.

### 3.11 Анализ *in silico* фармакологического механизма действия соединения-лидера

Для соединения-лидера был выполнен анализ *in silico* фармакологического механизма действия на основе определения чувствительности нейронов лучшей нейросетевой модели (Dock-All-Targets+OmoUmo), обученной на данных значений простого мультитаргетного докинга и значений энергий граничных МО. Анализ чувствительности нейронов был выполнен в программе Statistica [Hilbe, 2007] (таблица 3.22, полная таблица приведена в электронном приложении к настоящей диссертации).

Таблица 3.22 – Фрагмент таблицы с результатами анализа чувствительности нейросетевой модели анксиолитической активности химических соединений

Вариант сэмплинга	ADRA1A	ADRA1B	ADRA2A	ADRA2B	AGTR1	CA2	CA4
Sample1	1.005	2.300	1.415	1.089	1.852	1.681	2.374
Sample2	1.537	2.874	1.717	1.557	2.966	2.159	1.596
Sample3	1.000	1.010	0.998	1.001	1.002	1.000	1.009
Sample4	1.329	1.843	1.523	0.996	1.615	1.185	1.781
Sample5	1.048	1.079	1.206	1.073	1.349	1.178	1.113
Sample6	1.003	1.259	1.109	1.135	1.223	1.021	1.203
Sample7	1.039	2.566	1.155	1.088	2.056	2.033	1.536

Примечание – Значения чувствительности приведены в безразмерных условных единицах; зеленым цветом выделены ячейки, соответствующие наиболее чувствительным нейронам, с самым большим значением чувствительности; голубым цветом выделены ячейки со вторым по величине значением чувствительности; желтым – с третьим по величине значением чувствительности.

Согласно полученным данным, наибольший вклад при классификации соединений, обладающих выраженным уровнем анксиолитической активности, вносит ГАМК<sub>A</sub>-рецептор. Наибольшая чувствительность обнаружена на нейронах, соответствующих бензодиазепиновому сайту и одному из ГАМК-связывающих сайтов ГАМК<sub>A</sub>-рецептора.

В дополнение, были проанализированы результаты множественного докинга в ГАМК<sub>A</sub>-рецептор для уточнения возможного механизма действия соединения-лидера VM-418 методами *in silico*. Были обнаружены области с минимальной рассчитанной энергией взаимодействия белка и лиганда, которые совпадают с расположением ионного канала в ГАМК<sub>A</sub>-рецепторе. Значения минимальных энергий определены при докинге в модели ГАМК<sub>A</sub>-рецептора с кодами бх3и и бх3х, и составили -10.1 ккал/моль и -10.3 ккал/моль соответственно. Положение соединения-лидера в наиболее энергетически выгодных обнаруженных сайтах показано на рисунке 3.14. На рисунках 3.15 и 3.16 показано предполагаемое положение соединения-лиганда в сайте связывания, с отображением восьми фрагментов, которые участвуют в неспецифических гидрофобных взаимодействиях. Аминокислоты сайтов связывания показаны на рисунке 3.17.

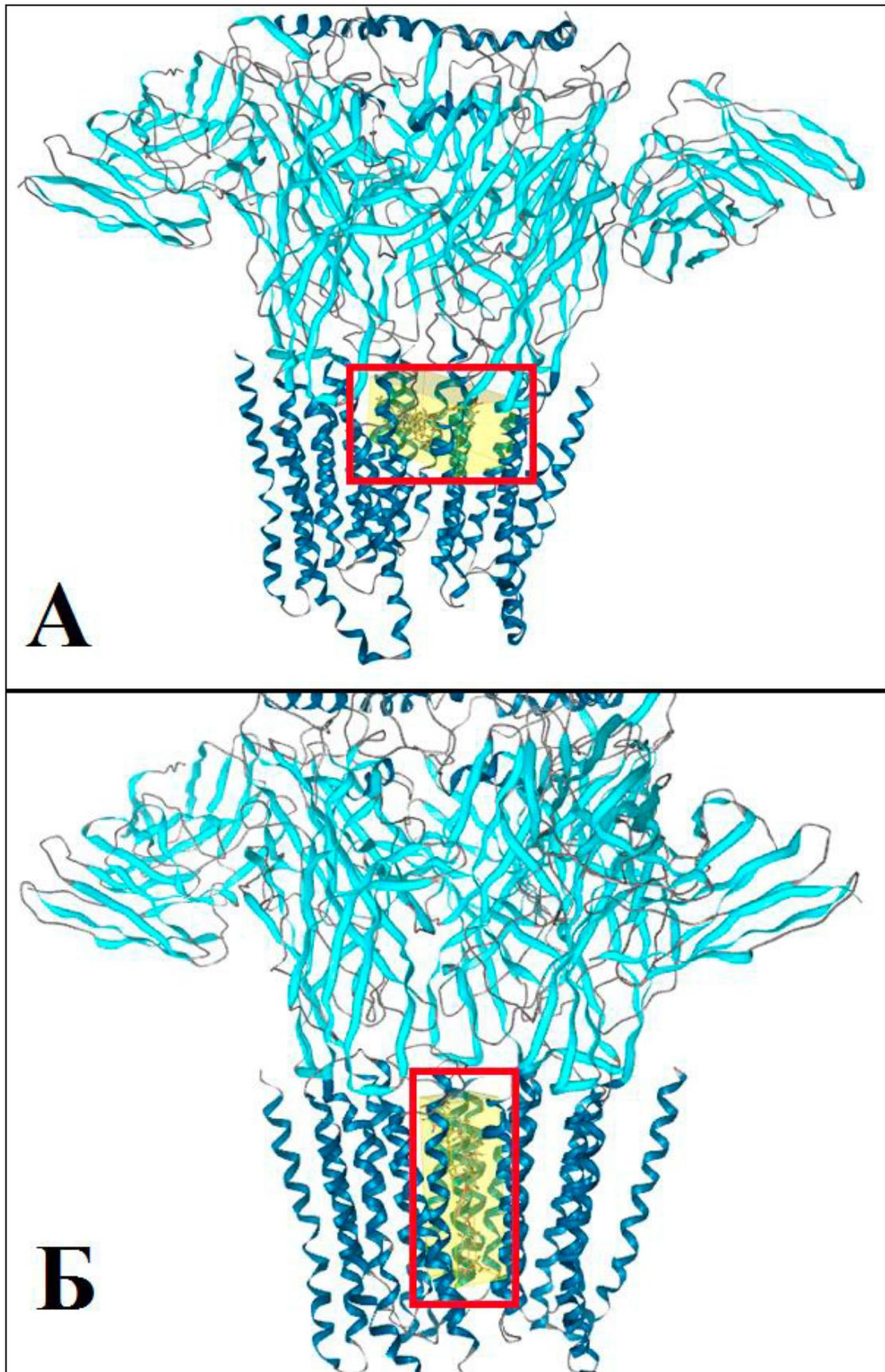


Рисунок 3.14 – Положение соединения-лидера BM-418 в наиболее энергетически выгодном сайте связывания GABAR модели: А – 6x3ц; Б – 6x3х

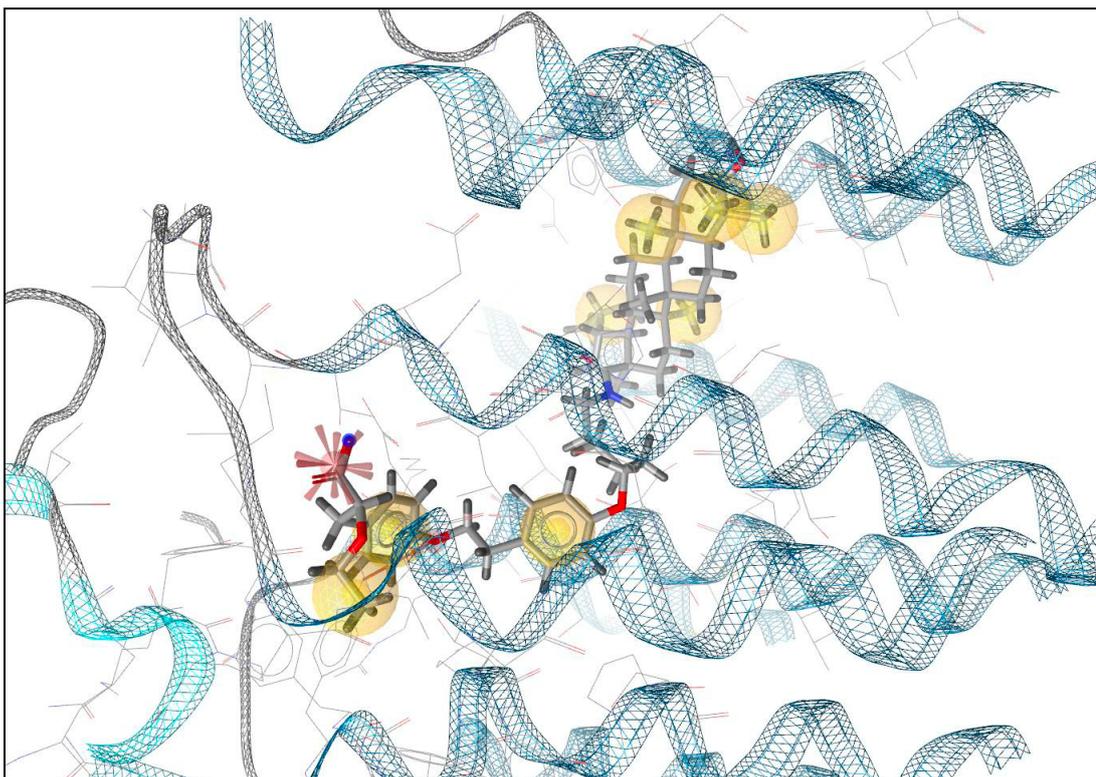


Рисунок 3.15 – Особенности взаимодействия соединения-лидера BM-418 с наиболее энергетически выгодным сайтом связывания GABA<sub>A</sub> модели 6x3u

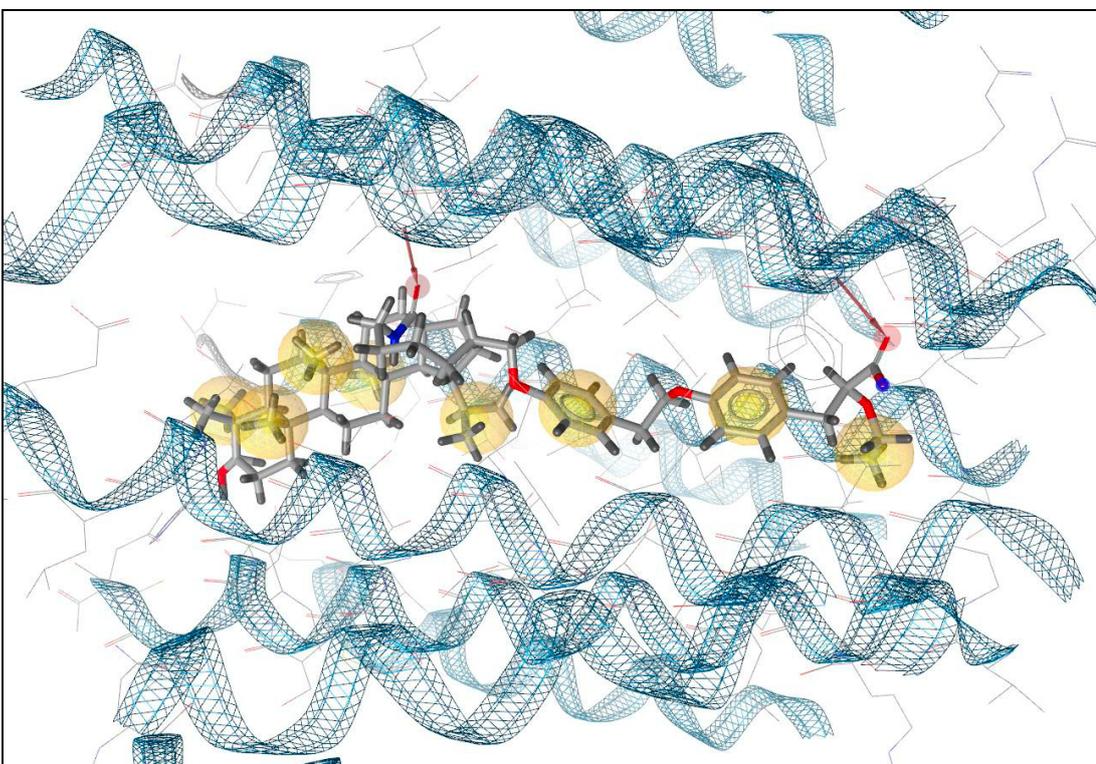


Рисунок 3.16 – Особенности взаимодействия соединения-лидера BM-418 с наиболее энергетически выгодным сайтом связывания GABA<sub>A</sub> модели 6x3x

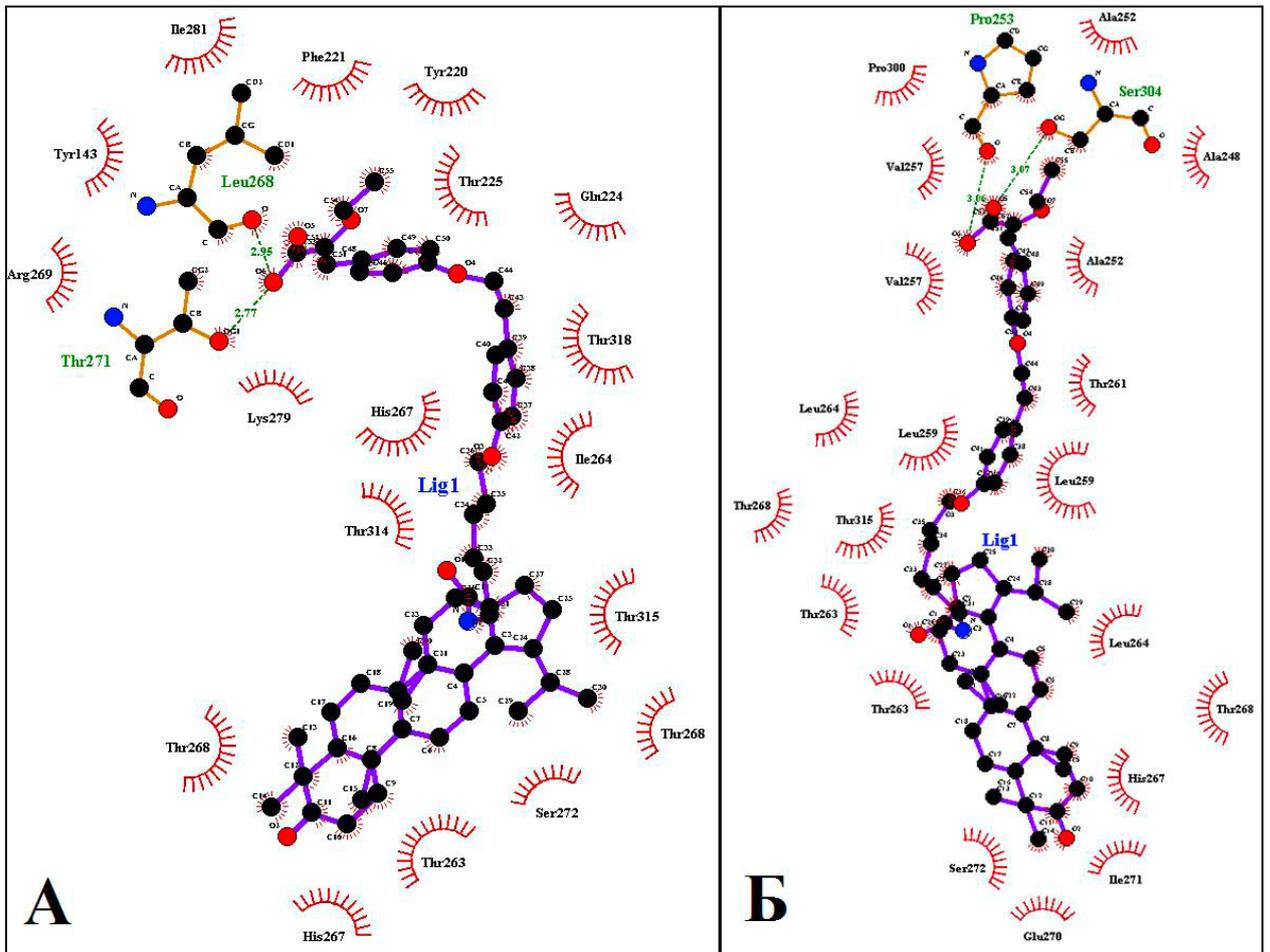


Рисунок 3.17 – Ключевые связывающие аминокислоты при взаимодействии соединения-лидера с наиболее энергетически выгодным сайтом связывания GABAR модели: А – 6x3u; Б – 6x3x

Таким образом, методами *in silico* было установлено, что наибольшее влияние при классификации соединения-лидера как вещества с выраженным анксиолитическим эффектом оказывает нейрон, соответствующий сайтам ГАМК<sub>A</sub>-рецептора. С помощью подхода множественного докинга было выявлено, что соединение VM-418 обладает высоким аффинитетом с аминокислотами, составляющими ионный канал ГАМК<sub>A</sub>-рецептора.

### 3.12 Оценка *in silico* ADMET-характеристик соединения-лидера

Для соединения-лидера были определены *in silico* основные показатели ADMET с использованием моделей на основе ИНС. Были рассчитаны следующие основные фармакокинетические показатели: всасываемость в желудочно-кишечном тракте; объем распределения; печеночный клиренс; почечный клиренс; общий клиренс; период полувыведения. Также с

помощью нейросетевых моделей были получены индексы некоторых токсикологических параметров: эндокриноксичности; мутагенности; генотоксичности; канцерогенности (таблица 3.23). Вместе с ранее показанными результатами прогноза проницаемости соединения через ГЭБ и его показателя острой пероральной токсичности для мышей, получено 12 фармакокинетических и токсикологических характеристик соединения ВМ-418.

Таблица 3.23 – Расчетные ADMET характеристики соединения-лидера

<b>ADMET-характеристики</b>					
<b>HIA</b>	<b>VD</b>	<b>Clhepatic</b>	<b>Clrenal</b>	<b>Cltotal</b>	<b>Half-life</b>
19.01	2.83	12.51	2.46	0.30	13.85
<b>ED</b>	<b>T_AMES</b>	<b>Gentox Index</b>		<b>Carcinogenic Index</b>	
0	0	0		0	

Примечание – HIA (Human Intestinal Absorption) – всасываемость в желудочно-кишечном тракте, %; VD – объем распределения, л/кг; Clhepatic – печеночный клиренс, мл/мин/кг; Clrenal – почечный клиренс, мл/мин/кг; Cltotal – общий клиренс, мл/мин/кг; Half-life – период полувыведения, час; ED – эндокриноксичность, у.е.; T\_AMES – мутагенность, у.е.; Gentox\_Index – генотоксичность, у.е.; Carcinogenic\_Index – канцерогенность, у.е.

Согласно полученным по прогнозу ADMET характеристикам, соединение ВМ-418 обладает достаточно низкой всасываемостью через желудочно-кишечный тракт; в работе [Pérez, 2004] значение <30% соответствует низкому, «плохому», уровню всасываемости лекарств в кишечнике. Вероятный объем распределения (volume of distribution – VD) ВМ-418 достаточно низкий, более чем в 14 раз ниже среднего объема воды в организме человека, при котором VD считается средним или высоким [Powite, 2011]. Период полувыведения соединения-лидера соответствует группе средней продолжительности действия (6-24 часа), которая считается оптимальной для препаратов, требующих приема дважды в день или один раз в день при хронических состояниях, что обеспечивает баланс эффективности и удобства. К такой группе также относятся препараты лоразепам и

альпразолам. Индексы основных токсикологических характеристик у соединения-лидера соответствуют отсутствию этих видов токсичности. Используемая в настоящей работе классификация характеристик токсичности химического соединения аналогична подходам, представленным в открытых источниках [Banerjee, 2024].

В качестве сравнения были рассчитаны показатели ADMET препарата диазепама. Результаты расчетов приведены в таблице 3.24.

Таблица 3.24 – Расчетные ADMET характеристики препарата сравнения

<b>ADMET-характеристики</b>					
<b>HIA</b>	<b>VD</b>	<b>Clhepatic</b>	<b>Clrenal</b>	<b>Cltotal</b>	<b>Half-life</b>
97.97	1.44	5.52	0.07	3.58	3.83
<b>ED</b>	<b>T_AMES</b>	<b>Gentox Index</b>		<b>Carcinogenic Index</b>	
0	1	0		0	

Примечание – HIA (Human Intestinal Absorption) – всасываемость в желудочно-кишечном тракте, %; VD – объем распределения, л/кг; Clhepatic – печеночный клиренс, мл/мин; Clrenal – почечный клиренс, мл/мин; Cltotal – общий клиренс, мл/мин; Half-life – период полувыведения, часы; ED – эндокринологическая токсичность, у.е.; T\_AMES – мутагенность, у.е.; Gentox\_Index – генотоксичность, у.е.; Carcinogenic\_Index – канцерогенность, у.е.

Согласно полученным данным, диазепам обладает значительно более высокой всасываемостью в ЖКТ – около 98%. При этом, объем распределения у препарата сравнения почти в два раза ниже, чем у соединения-лидера ВМ-418. Диазепам, вероятно, обладает меньшим печеночным и почечным клиренсом, а также меньшим временем полувыведения. Стоит отметить, что согласно полученным расчетным токсикологическим индексам, у диазепама присутствуют мутагенные свойства. Генотоксичность диазепама отмечалась в литературных данных [Lafi, 1988], кроме того было отмечено появление хромосомных мутаций у людей при отравлении диазепамом [Czeizel, 1994]. В отличие от этого, по прогнозным данным, мутагенный эффект у вещества ВМ-418 отсутствует.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При выполнении настоящей работы на этапе подготовки исходных данных были соблюдены принципы подходов, основанных на структуре лиганда (Ligand Based Drug Design – LBDD) и основанных на структуре мишени (Structure Based Drug Design – SBDD). Так, впервые была сформирована верифицированная база данных известных по структуре и градируемому уровню анксиолитической активности химических соединений, изученных в различных экспериментальных методиках мировым научным сообществом. Впоследствии эти данные о малых молекулах были использованы для создания нейросетевых моделей по прогнозу анксиолитической активности новых химических соединений.

Структуры всех изучаемых соединений были оптимизированы с помощью методов молекулярной механики и полуэмпирических методов квантовой химии. Это позволило нивелировать вычислительную сложность полноценных квантово-химических расчетов крупных молекулярных систем и множества отдельных соединений-лигандов. В качестве примера, в настоящей работе используется создание моделей анксиолитической активности. В соответствии с принципами SBDD, был выполнен поиск биомишеней, релевантных анксиолитической активности. Разработана и проведена процедура валидации 3D-моделей отобранных белков. Были получены наиболее адекватные 3D-структуры релевантных биомишеней для дальнейшей работы с использованием методов молекулярного моделирования.

Для получения дескрипторов межмолекулярного взаимодействия в настоящей работе были применены методики молекулярного докинга. Были рассчитаны 3 105 900 значений энергии простого классического докинга, при котором с биомишенью в строго определенном специфическом сайте одновременно связывается одна молекула лиганда. В дополнение, по

качественно новой оригинальной методологии, был проведен множественный докинг и получено 63 617 400 значений аффинности соединений-лигандов по всему объему изучаемых белков-мишеней. В качестве вспомогательных способов описания были рассчитаны разнообразные индексы структурных дескрипторов. Также были рассчитаны квантово-химические энергетические дескрипторы. Всего для каждого соединения лигандов получено по 40 дескрипторов энергий граничных молекулярных орбиталей (МО), отражающих их реакционную способность, а также 75 различных фрагментных структурных дескрипторов. И, таким образом, получено подробное описание химической структуры изучаемых известных и новых синтезированных соединений. На основе полученных данных было создано 14 обучающих, две тестовые и одна прогнозная выборки. Изначально для валидации полученных нейросетевых моделей была собрана внешняя тестовая выборка из 28 препаратов, используемых в терапии тревожных расстройств. Впоследствии для внешнего тестирования было предложено использовать также неактивные соединения для оценки чувствительности полученных классификационных правил. Для этого была составлена вторая внешняя тестовая выборка, куда вошли 42 соединения с опубликованными в открытой печати данными по химической структуре и уровню анксиолитической активности. Стоит отметить, что для уровня активности некоторых соединений из второй тестовой выборки в исходных источниках приведены противоречивые данные. Так, в работе [Спасов, 2018] показано достоверное проявление эффекта при введении животным вещества с шифром ДАБ-0036 на уровне препарата сравнения диазепама. Однако, у [Мирошников, 2020] соединение ДАБ-0036 проявляет низкую анксиолитическую активность. При составлении тестовой выборки было принято решение придерживаться подхода, описанного в разделе о создании верифицированной БД известных соединений с анксиолитической активностью. При наличии в дублирующих записях нескольких противоречащих друг другу меток уровня активности, за итоговую метку

брался меньший уровень из двух. Например, упомянутое вещество с шифром ДАБ-0036 в тестовой выборке было отмечено меткой «low».

В ходе диссертационной работы было обучено свыше 300 тыс. искусственных нейронных сетей (ИНС) различной архитектуры и построено 15 нейросетевых моделей зависимости анксиолитической активности от структуры химических соединений, описанных различными способами. По показателям точности классификации на тестовых выборках отобраны две наилучшие модели ( $p < 1 \cdot 10^{-15}$ ). Наиболее точной является нейросетевая модель прогноза анксиолитической активности, построенная на основе спектра энергий множественного докинга в ГАМК<sub>A</sub>-рецептор. Среди моделей, в основе которых лежит простой докинг, самой точной и универсальной является ансамбль ИНС, обученных на полной базе данных соединений известных по химической структуре и уровню анксиолитической активности, с дополнительным к энергиям докинга описанием показателями энергий MO  $E_{\text{HOMO}}$ ,  $E_{\text{LUMO}}$ . При отборе лучших нейросетевых моделей в первую очередь учитывалась точность прогноза референсных соединений из внешней тестовой выборки. Согласно этому подходу, наименее приемлемыми оказались модели, основанные на корреляционной свертке индексов фрагментных структурных дескрипторов (Conv, Conv11). Вероятно, низкая точность этих моделей связана с потерей значимой информации о химической структуре на этапе свертки. Интересный результат был получен при использовании модели QL-1, основанной на матрице структурных дескрипторных индексов языка QL первого ранга. Эта модель показала 100% точность при классификации референсов и всего 23,8% на тестовой выборке из опубликованных соединений. Возможно, низкая точность при классификации второй тестовой выборки связана с различными условиями проведения экспериментов, описанных в используемых при составлении выборки публикациях. В дальнейшем рекомендовано изучить модель QL-1 на новом наборе тестовых соединений.

Следующим этапом стало проведение виртуального скрининга, в ходе которого было изучено 107 новых соединений структурно-разнородных химических рядов. Был применен консенсусный подход второго уровня: на первом уровне были сопоставлены оценки, полученные при использовании семи вариантов сэмплинга; на втором уровне были использованы несколько моделей прогноза анксиолитической активности. Дополнительно к двум лучшим нейросетевым моделям (GABAR-x27 и Dock-All-Targets+OmoUmo) была применена система IT Microcosm [Vassiliev, 2014] на основе только химической структуры, чтобы отбросить заведомо неактивные соединения. Также при виртуальном скрининге использовался фильтр в виде оценки проницаемости веществ через ГЭБ, построенный с применением ИНС. Согласно результатам проведенного прогноза проницаемости веществ через ГЭБ, три соединения были исключены из исследования (AT-20, VM-461, VM-738). Всего из 107 соединений для экспериментального изучения были отобраны 25 веществ из 12 различных химических рядов, которые были объединены в пять укрупненных групп: 2-замещенные 8-амино-1,2,3,4-тетрагидро-пиразино[1,2-а]бензимидазолы; ацетамидные производные 1-метилхиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-диона; группа производных адамантана; группа различных природных производных, куда вошли ряды производных берберинов, моно-, ди- и три-терпеноидных производных (*S*)-2-этокси-3-фенилпропановой кислоты и 6-замещенных 2-(1-адамантил)-5,6,7,8-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[5,1-*b*][1,3,5]тиадиазепинов; группа пентатиепинов.

В ходе проверки результатов виртуального скрининга были проведены экспериментальные тесты с использованием базовых методик «Открытое поле» и «Темная/светлая камера». Была проведена математическая обработка данных *in vivo* скрининга, были проиндексированы следующие параметры. В тесте «Темная/светлая камера»: время первого выхода животных из темной камеры установки (латентный период); число переходов животных между камерами установки; время, проведенное животными в светлой камере установки; выглядывания из темной камеры установки. В тесте «Открытое

поле» были обработаны следующие показатели: время первого выхода животных из центра установки (латентный период); число пересечений животными квадратов установки (горизонтальная двигательная активность); число стоек животных на задних лапах (вертикальная двигательная активность); число выходов животных в центр установки; время, проведенное животными в центре установки; число заглядываний в отверстия установки; число коротких и длительных грумингов; число болюсов. Вещества вводились в дозе, рассчитанной эквимолярно дозе препарата сравнения диазепам (1 мг/кг веса животных) [Спасов, 2020].

При выполнении экспериментов среди класса и ряда 2-замещенных 8-амино-1,2,3,4-тетрагидро-пиразино[1,2-а]бензимидазолов была установлена активность трех соединений. Стоит обратить внимание, что *in silico* оценки анксиолитической активности не совпали с результатами экспериментального тестирования только для соединений VI-5 и VI-6.

В классе ацетамидных производных 1-метилхиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-диона, по результатам *in silico* скрининга спрогнозирована активность только у одного соединения. В ряду 3-(2-(1-пиперазинил)оксоэтил) производных 1-метилхиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-дионов показано наличие наиболее выраженного эффекта у вещества VMA-20-27 с фенильным радикалом в 4 положении пиперазинового цикла. Введение животным соединения VMA-20-25 из ряда 3-(2-фениламинооксоэтил) производных 1-метилхиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-дионов с 4-метоксифенилом в R<sub>1</sub> не привело к достоверным отличиям наблюдаемых показателей от контрольной группы животных. Остальные соединения в группе продемонстрировали не столь выраженный психотропный эффект: больше всего были показатели вертикальной двигательной активности (у VMA-20-26 и VMA-20-34) и числа выходов в центр (у VMA-20-26 и VMA-20-37) в тесте «Открытое поле». Нейросетевая модель, которая была использована для прогноза этой группы соединений, была обучена для поиска веществ с высоким уровнем ГАМК-ергической активности, из-за чего полученная точность прогноза выраженной

анксиолитической активности оказалась меньше. Полученные данные в целом подтверждают, что класс хиназолинов является перспективным в поиске психотропных веществ, в том числе анксиолитических соединений [Azevedo, 2019].

В классе амидов и имидов адамантан-1-карбоновой кислоты выявлена активность соединений, принадлежащих двум рядам. Указанный класс был предложен для изучения благодаря известным, показанным в работе [Ковалев, 2021], психотропным свойствам производных адамантана, в частности антидепрессивным, анксиолитическим и ноотропным эффектам адамантановых производных ГАМК. Среди амидоимидов адамантан-1-карбоновой кислоты эффект проявили вещества с шифрами sh-New-0178-N2 ( $R_1 = 2$ -изопропилфенил;  $R_2 = 2$ -изопропилфенил;  $R_3 = H$ ) и sh-adr01-N8 ( $R_1 =$  фенил;  $R_2 =$  фениламино;  $R_3 = H$ ; дополнительно в положении 3 адамантана присоединен такой же фрагмент, как и в положении 1). В ряду амидов адамантан-1-карбоновой кислоты найдено одно активное вещество – sh-New-0157-N20 с единственным радикалом – 4-бромифенилом у карбоксамида.

Класс производных берберина представлен в настоящей работе тремя соединениями, проявившими активность, что подтверждает известные данные о наличии психотропных, анксиолитических свойств у берберина [Peng, 2004]. Первое соединение – это деметиленберберин с шифром SHE-240, выделенный химиками-синтетиками в отдельный ряд. Вторым является вещество с кодом SHE-75 ( $R =$  бутилсульфонил) из ряда 17-замещенных берберина. Третьим соединением с установленным эффектом стало производное тетрагидроберберина – SHE-70, с метильным радикалом.

Среди класса моно-, ди- и три-терпеноидных производных (*S*)-2-этокси-3-фенилпропановой кислоты найдено вещество (*S*)-(5-(4-(2-(4-(2-карбоксо-2-этоксиэтил)фенокси)этил)фенокси)пентил)амид дигидробетулоновой кислоты (BM-418), проявившее наиболее выраженный анксиолитический эффект среди всех отобранных по результатам виртуального скрининга химических соединений. Интересно, что два

соединения из этого ряда, ВМ-461 и ВМ-738, были исключены из-за неудовлетворительного прогноза проницаемости через ГЭБ. Вместо дигидробетулоновой кислоты у ВМ-461 в качестве радикала находится дегидроабиетиновая кислота, а радикал ВМ-738 представлен гераниолом.

В литературных данных описывается высокий потенциал монотерпеноидных производных в качестве соединений с психотропной, в том числе анксиолитической активностью [de Sousa, 2015; Dragomanova, 2023]. В настоящей работе в классе монотерпеноидсодержащих производных адамантана установлено наличие психотропных эффектов у вещества с шифром Маа-730 ( $R = \alpha$ -пинен). Кроме того, соединение ВМ-418 принадлежит классу моно-, ди- и три-терпеноидных производных (*S*)-2-этокси-3-фенилпропановой кислоты.

Среди класса монотерпеноидсодержащих производных адамантана, в ряду 6-замещенных 2-(1-адамантил)-5,6,7,8-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[5,1-*b*][1,3,5]тиадиазепинов, проявило активность вещество с шифром Маа-730, где в качестве радикала находится  $\alpha$ -пинен.

Наиболее активным среди пентатиепинов, в классе производных бензо[*f*][1,2,3,4,5]пентатиепина, ряд 6-трифтометил-бензо[*f*][1,2,3,4,5]пентатиепинов, оказалось соединение VOL-0020 с бензоиламидным радикалом в восьмом положении и, значительно менее активное, соединение VOL-0002 ( $R = 2,2,2$ -трифторацетиламин). В ряду производных ряд 8-трифтометил-бензо[*f*][1,2,3,4,5]пентатиепинов было найдено активное соединение с шифром VOL-0010 и радикалом 2,2,2-трифторацетиламино.

Для последующей оценки анксиолитического действия изученных соединений были оценены преимущественные показатели, определяющие наличие или отсутствие анксиолитического эффекта у исследуемого соединения. В тесте «Темная/светлая камера» были оценены показатели, определяющие, по литературным данным, наличие анксиолитического эффекта у исследуемого соединения: время, проведенное животным в

светлой камере, а также число переходов между камерами установки [Шабанов, 2016]. Увеличение времени пребывания в светлой камере и числа переходов дает основание считать исследовательское поведение у животного как превалирующее над тревожно-фобическим паттерном поведения [Nascoet, 1998; Bourin, 2003].

В тесте «Открытое поле» увеличение числа стоек животных и пересеченных квадратов установки, в сравнении с контрольной группой, свидетельствует об активирующем, стимулирующем действии вещества, а их уменьшение – о седации [Наркевич, 2020]. Основными критериями оценки наличия анксиолитического эффекта были выбраны показатели числа пересечений квадратов установки и времени, проведенного животным в центре установки в ходе эксперимента [Бандура, 2014; Шабанов, 2016].

Введение веществ В15 и В16 дало наиболее значимое повышение показателя времени в светлой камере установки «Темная/светлая камера» и времени в центре установки «Открытое поле», в сравнении с показателями контрольной группы животных. Однако, один из ключевых параметров «выходы в центр установки» «Открытое поле» [Seibenhener, 2015], увеличение которого относительно контрольной группы животных свидетельствует о противотревожном эффекте исследуемого вещества, статистически значимо отличается от контроля только у соединений В14 и В16. Таким образом, несмотря на наличие какого-либо психотропного эффекта у трех соединений, только одно вещество с шифром В14 может считаться потенциальным соединением для изучения его анксиолитических свойств. Наконец, согласно общим индексам наличия психотропной активности, соединение В16 было показано, как неактивное.

Полученные результаты в целом подтверждают перспективность соединений из группы производных бензопентатиепинов, что согласуется с известными данными [Khomenko, 2009]. Отдельного внимания заслуживают зафиксированные значения показателей горизонтальной двигательной активности и времени в центре установки «Открытое поле». Большинство

отобранных соединений пентатиепинов, показавшие наличие слабо или умеренно выраженного психотропного эффекта в эксперименте, не продемонстрировали повышения двигательной активности у животных, что подтверждает данные литературы [Kulikov, 2012], посвященные изучению бензопентатиепинов как потенциального класса для поиска соединений с психотропной активностью.

Из пяти отобранных соединений пентатиепинов только у вещества с шифром VOL-0020 наблюдалось выраженное увеличение двигательной активности в тесте «Открытое поле» без увеличения продолжительности пребывания мышей в центре установки. Также в ходе изучения действия VOL-0020 показано отсутствие различий по всем показателям в сравнении с контрольной группой животных в тесте «Темная/светлая камера». Эти данные, несмотря на высокий общий расчетный индекс психотропной активности, свидетельствуют об отсутствии анксиолитического эффекта и могут являться предположительным фактором наличия психостимулирующего действия.

Соединение ВМ-418 – (S)-(5-(4-(2-(4-(2-карбокси-2-этоксиэтил)фенокси)этил)фенокси)пентил)амид дигидробетулоновой кислоты – продемонстрировало наибольшую активность в тесте «Темная/светлая камера» по отобранным показателям. В то же время, двигательная активность ВМ-418, согласно параметру «горизонтальная двигательная активность», не изменялась по сравнению с группой контроля, что может показывать вероятное отсутствие психостимулирующего действия. Благодаря проведенному анализу профиля активности вещества ВМ-418, оно было выбрано как соединение-лидер. Для подтверждения установленной анксиолитической активности, согласно [Миронов, 2012] был выполнен конфликтный тест «Наказуемое взятие воды по Vogel», где соединение-лидер продемонстрировало статистически значимо отличный от контроля эффект на уровне препарата сравнения диазепама.

Методами *in silico* было установлено, что наибольшее влияние при классификации соединения-лидера как вещества с выраженным анксиолитическим эффектом оказывает нейрон, соответствующий сайтам ГАМК<sub>A</sub>-рецептора. С помощью подхода множественного докинга было выявлено, что соединение VM-418 обладает высоким аффинитетом к аминокислотам, составляющим ионный канал ГАМК<sub>A</sub>-рецептора. В работах [Chen, 2012; Alvarez, 2015] показаны сайты связывания нейростероидов с ГАМК<sub>A</sub>-рецептором в области трансмембранных доменов. К числу таких соединений относится аллопрегнанолон, обладающий анксиолитическим эффектом. Однако полученные данные о связывании VM-418 с ГАМК<sub>A</sub>-рецептором дают основание считать, что установленные позиции лиганда не соответствуют аминокислотам нейростероидных сайтов связывания, описанных в литературе. Конформации VM-418, расположенные в области трансмембранных доменов в модели 6x3x, не соответствуют физиологической функции ГАМК<sub>A</sub>-рецептора. По всей видимости, согласно полученным данным на основе анализа чувствительности нейронов и множественного докинга, соединение-лидер может блокировать ионный канал. Согласно имеющимся данным, диаметр этого канала в ГАМК<sub>A</sub>-рецепторе 2 $\alpha$ 1-2 $\beta$ 2- $\gamma$ 2 типа может составлять примерно от одного до пяти Å, в зависимости от положения канала в закрытом, открытом или десенсibilизированном состоянии [Xie, 2013]. В структуре гомопентамерного рецептора  $\beta$ 3 типа, схема которого приведена на рисунке 4.1, минимальный диаметр поры может составлять около 3,15 Å [Miller, 2014].

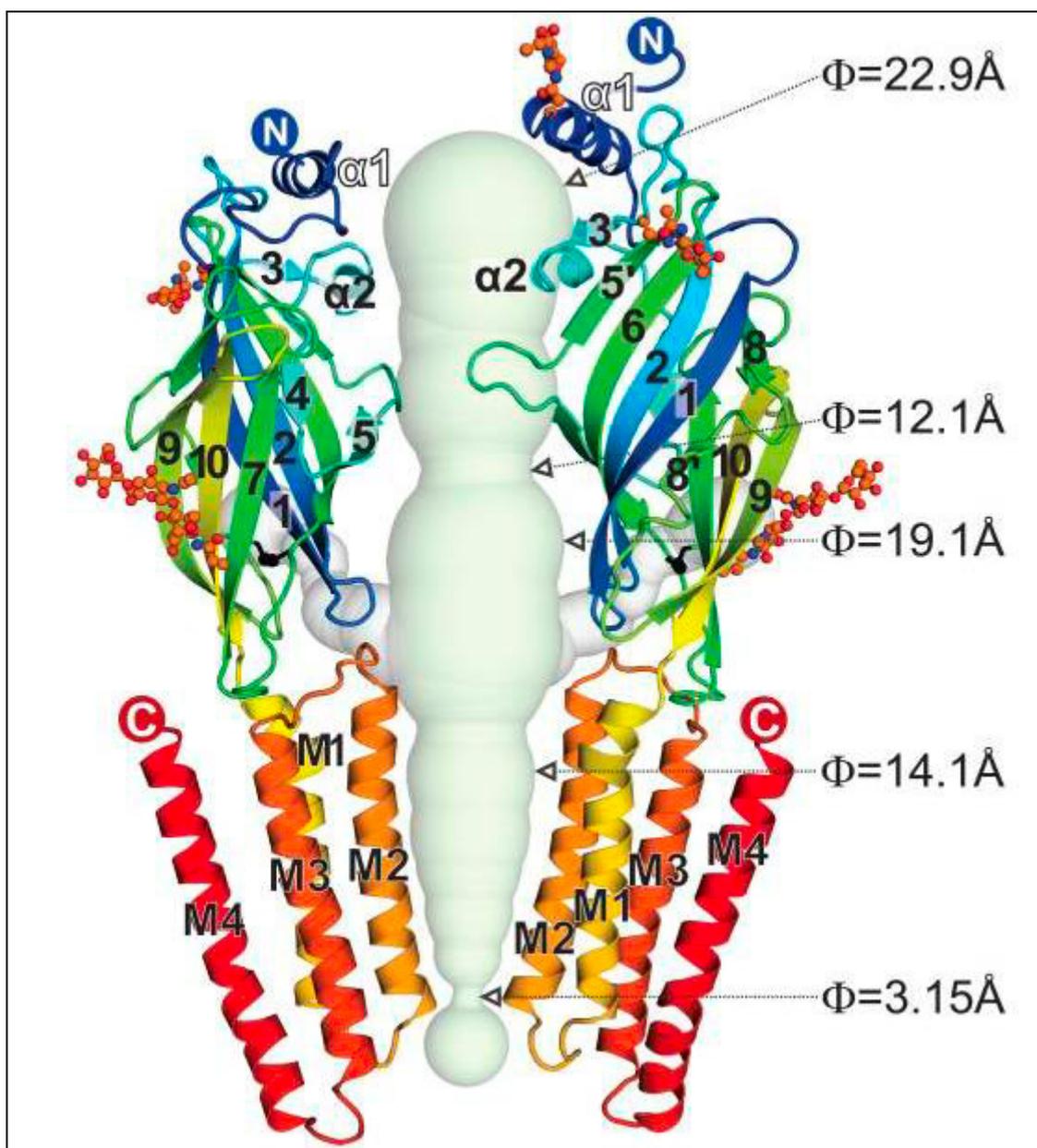


Рисунок 4.1 – структура ГАМК<sub>A</sub>-рецептора

Примечание – Приведена структура гомопентамерного ГАМК<sub>A</sub>-рецептора β3 типа [иллюстрация из статьи Miller, 2014].

Несмотря на большое число известных изоформ субъединиц ГАМК<sub>A</sub>-рецептора, в структуре рецепторов из наиболее известных основных изоформ субъединиц α, β и γ ионный канал существенно не изменяется [Sigel, 2012]. Кроме того, учитывая, что радиус дегидратированных ионов хлора составляет 1,8 Å [Miller, 2017], имеются основания считать, что положение соединения-лидера может не препятствовать току ионов хлора и при этом блокировать переход канала в закрытое состояние.

Полученные с помощью виртуальных методов данные также свидетельствуют о возможном двойном механизме действия соединения-лидера. Широко известно, что типичные анксиолитики, такие как препараты класса бензодиазепинов, усиливают ГАМК-ергическую активность. Возможно, что найденное наиболее активное соединение сильнее связывается с другими участками на рецепторе: это не противоречит данным об аффинитете соединения-лидера к бензодиазепиновому сайту. Кроме того, возможно, что ВМ-418 влияет на другие подтипы ГАМК-рецепторов, которые приводят к снижению выраженности тревожного состояния. Для анализа этого предположения целесообразным является дальнейшее исследование на основе подхода множественного докинга с 3D-моделями других подтипов ГАМК-рецептора.

Другое объяснение может включать модуляцию конформационных изменений других рецепторов, рассмотренных в настоящей диссертационной работе, которые могли вызывать анксиолитический эффект. Также вероятен компенсаторный механизм через другие сигнальные пути, несмотря на предполагаемую блокаду соединением ВМ-418 канала ГАМК<sub>A</sub>-рецептора или временное ингибирование тока ионов хлора. Более точно установить предположительный механизм действия можно с помощью электрофизиологических исследований.

Для соединения-лидера с помощью ИНС были рассчитаны основные ADMET-характеристики. На основе полученных данных можно предположить, что в качестве потенциального лекарственного препарата соединение ВМ-418, вероятно, будет обладать низкой биодоступностью и более высоким периодом полувыведения по сравнению с препаратом сравнения диазепамом.

Полученные результаты дают основание считать разработанную методологию компьютерного прогноза анксиолитической активности химических соединений адекватной и достоверной. Подтвержденная в экспериментах общая точность прогноза выраженной анксиолитической

активности среди отобранных химических соединений составила 68%. Всего было корректно спрогнозировано 17 соединений из 25. При анализе в укрупненных группах установлено, что среди производных бензимидазолов точность виртуального прогноза составила 66,7%; в группе производных хиназолинов – 40%; в группе соединений ряда адамантана – 75%; в группе природных производных (среди класса производных берберина, в ряду моно-, ди- и три-терпеноидных производных (*S*)-2-этокси-3-фенилпропановой кислоты, а также в ряду 6-замещенных 2-(1-адамантил)-5,6,7,8-тетрагидро-[1,2,4]триазоло[5,1-*b*][1,3,5]тиадиазепинов) точность составила 100%; в группе производных бензопентатиепинов – 60%. Согласно проведенному анализу, установлена активность пяти соединений на уровне активности диазепама. Показаны наиболее перспективные классы для поиска анксиолитических соединений: ацетамидные производные 1-метилхиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-диона, производные амидов и имидов адамантан-1-карбоновой кислоты, производные берберина и производные бензо[*f*][1,2,3,4,5]пентатиепина.

На основании результатов проведенных экспериментальных тестов согласно рекомендациям по проведению доклинических исследований лекарственных средств [Миронов, 2012] было найдено соединение-лидер с шифром ВМ-418. В трех обязательных тестах, два из которых являются общими неконфликтными методами исследования противотревожной активности и один, представляющий собой конфликтную методику, было доказано, что вещество ВМ-418 обладает анксиолитической активностью в дозе, эквимолярной дозе препарата сравнения диазепама (1 мг/кг, в/ж).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поиск химических соединений с психотропными видами фармакологической активности остается весьма актуальной задачей здравоохранения. Применение в поиске новых анксиолитических веществ современных методов ML, в частности технологий ИНС, способствует повышению эффективности и снижению стоимости проводимых фармакологических исследований.

В настоящей диссертационной работе была разработана и испытана качественно новая методология создания компьютерных моделей прогноза анксиолитической активности на основе технологий ИНС и различного описания химических структур несколькими видами дескрипторов. В работе был применен новый оригинальный подход по использованию множественного докинга, в котором анализируется спектр показателей аффинитета лигандов по всему объему релевантного белка. Нейросетевая модель на основе множественного докинга в ГАМК<sub>A</sub>-рецептор показала наибольшую точность прогноза на внешних независимых тестовых выборках из референсных препаратов и известных опубликованных соединений. Было продемонстрировано, что достаточно высокую точность прогноза имеют нейросетевые модели, которые содержат энергетические дескрипторы.

Разработанная методология консенсусного прогноза была использована для поиска активных соединений среди новых синтезированных химических соединений структурно-разнородных рядов. В поведенческих тестах была подтверждена возможность использования разработанной методологии для выявления веществ с выраженной анксиолитической активностью. Для обнаруженного соединения-лидера методами *in silico* был выполнен фармакологический анализ возможного механизма действия, а также рассчитаны некоторые основные ADMET-характеристики.

## ВЫВОДЫ

1. Сформирована верифицированная база данных по химической структуре и уровню анксиолитической активности 663 известных экспериментально изученных веществ. Выявлено 22 биомишени, релевантные анксиолитической активности химических соединений. Выполнен докинг в релевантные биомишени 663 соединений из созданной базы данных.

2. Обучено более 300 тыс. нейронных сетей, найдены 15 консенсусных мультитаргетных нейросетевых моделей зависимости анксиолитической активности от энергий докинга в релевантные биомишени и других структурных параметров химических соединений. Распознающая способность лучшей модели на основе энергий докинга и квантово-химических параметров составила 89,9%, прогностическая способность в независимом тестировании достигает 67,0%.

3. С использованием четырех различных моделей проведен консенсусный виртуальный скрининг анксиолитической активности 107 новых синтезированных веществ 26 структурно разнообразных химических рядов. Отобрано 25 веществ, наиболее перспективных по результатам прогноза *in silico*.

4. Выполнено экспериментальное изучение *in vivo* в тестах «Открытое поле» и «Темная/светлая камера» 25 перспективных веществ. Найдено 17 соединений с выраженным психотропным эффектом, из которых пять соединений сопоставимы по активности с диазепамом. Общая точность направленного поиска составила 68,0%.

5. Доказана анксиолитическая активность соединения-лидера производного дигидро-бетулоновой кислоты ВМ-418 в экспериментальных моделях неконфликтных и конфликтных ситуаций. По результатам ADMET-анализа показано отсутствие у ВМ-418 токсических эффектов, его умеренная

всасываемость через желудочно-кишечный тракт, достаточно высокое время полувыведения.

6. Разработана методология компьютерного поиска соединений с анксиолитической активностью в разнообразных по структуре химических рядах с использованием моделей на основе искусственных нейронных сетей, мультитаргетного докинга, различных способов представления структуры соединений и консенсусного подхода к прогнозу.

## ПОДДЕРЖКА РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке грантов и в рамках государственных заданий:

Грант РФФИ № 20-015-00164 «Создание с применением методов молекулярного моделирования и искусственных нейронных сетей системной мультитаргетной модели анксиолитической активности азотсодержащих гетероциклических соединений и поиск с ее использованием полифункциональных веществ с высокой анксиолитической активностью».

Грант РФФИ № 18-015-00499 «Разработка системных полифункциональных мультитаргетных ингибиторов рецепторов конечных продуктов гликирования для лечения патий при сахарном диабете и болезни Альцгеймера».

Грант Минобрнауки № 075-15-2020-777 «Медицинская химия в создании лекарств нового поколения для лечения социально-значимых заболеваний».

Государственное задание Минздрава России № 121060700050-2 «Разработка методологии компьютерного поиска фармакологически активных соединений на основе множественного докинга и технологии искусственных нейронных сетей».

Государственное задание Минздрава России № 23022400009-9 «Разработка методологии компьютерного поиска мультитаргетных фармакологически активных соединений на основе множественного докинга и технологии сверточных нейронных сетей различной архитектуры».

## БЛАГОДАРНОСТИ

- Автор выражает благодарность научному руководителю доктору биологических наук, старшему научному сотруднику ВАК (доцент), заведующему лаборатории информационных технологий в фармакологии и компьютерного моделирования лекарств НЦИЛС ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава РФ, профессору кафедры фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава РФ Васильеву Павлу Михайловичу за руководство на всех этапах исследования.

- Автор выражает благодарность научному руководителю доктору биологических наук, доценту кафедры фармакологии и биоинформатики ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава РФ Мальцеву Дмитрию Васильевичу за помощь на всех этапах исследования.

- Автор выражает благодарность системному администратору, инженеру-программисту Кочеткову Андрею Николаевичу за написание оригинального программного обеспечения.

- Автор выражает благодарность кандидату медицинских наук Скрипке Марии Олеговне за помощь в анализе исходных данных при формировании верифицированной базы данных известных химических соединений с анксиолитической активностью.

- Автор выражает благодарность доктору химических наук, главному научному сотруднику лаборатории органического синтеза НИИ ФОХ ЮФУ Анатолию Савельевичу Морковнику и кандидату химических наук, ведущему научному сотруднику лаборатории органического синтеза НИИ ФОХ ЮФУ Людмиле Николаевне Диваевой за проведение органического синтеза и предоставление веществ для исследований.

- Автор выражает благодарность доктору химических наук, заведующему кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава РФ, профессору Александру

Александровичу Озерову за проведение органического синтеза и предоставление веществ для исследований.

- Автор выражает благодарность доктору химических наук, доценту, заведующему кафедрой «Технология органического и нефтехимического синтеза» ФГБОУ ВО ВолгГТУ Минобрнауки РФ Евгению Вениаминовичу Шишкину за проведение органического синтеза и предоставление веществ для исследований.

- Автор выражает благодарность доктору химических наук, профессору РАН, главному научному сотруднику лаборатории физиологически активных веществ НИОХ СО РАН им. Н.Н. Ворожцова Константину Петровичу Волчо и доктору химических наук, ведущему научному сотруднику лаборатории физиологически активных веществ НИОХ СО РАН им. Н.Н. Ворожцова Ольге Анатольевне Лузиной за проведение органического синтеза и предоставление веществ для исследований.

- Отдельную благодарность автор выражает своей семье, которая поддерживала его на протяжении выполнения диссертационной работы.

## ИСПОЛЬЗОВАННЫЕ СОКРАЩЕНИЯ И УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

ПТСР – посттравматическое стрессовое расстройство

ИНС – искусственные нейронные сети

ML – машинное обучение (Machine Learning)

ЦНС – центральная нервная система

ИИ – искусственный интеллект

БД – база данных

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

ГТР – генерализованное тревожное расстройство

СТР – социальное тревожное расстройство

ГАМК -  $\gamma$ -аминомасляная кислота

СИОЗС – селективные ингибиторы обратного захвата серотонина

СИОЗСН – селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина

ПР – паническое расстройство

mGluR – метаботропные рецепторы глутамата (metabotropic Glutamate Receptor)

BDNF – нейротрофический фактор головного мозга (Brain Derived Neurotrophic Factor)

AP – адренергические рецепторы

LC – область голубого пятна (Locus Coeruleus)

НТР – неуточненное тревожное расстройство

ОКР – обсессивно-компульсивное расстройство

LBDD – методы основанные на структуре лиганда (Ligand Based Drug Design)

SBDD – методы основанные на структуре мишени (Structure Based Drug Design)

QSAR – методы количественного моделирования связи структура-активность (Quantitative Structure-Activity Relationship)

MLR – метод множественной линейной регрессии (Multiple Linear Regression)

SVM – метод опорных векторов (Support Vector Machine)

SAR – методы зависимости структура-активность (Structure-Activity Relationship)

RF – метод случайного леса (Random Forest)

GBM – метод градиентного бустинга (gradient boosting machine)

k-NN – метод k-ближайшего соседа (k-Nearest Neighbour)

ADMET – абсорбция, распределение, метаболизм, выведение и токсичность химического соединения (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity; обычно – методы оценки ADMET характеристик)

MSE – среднеквадратическая ошибка (Mean Square Error)

CNN – сверточные нейронные сети (Convolution Neural Networks)

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

SMILES – система упрощенного представления молекул в строке ввода (Simplified Molecular Input Line Entry System)

$E_{\text{HOMO}}$  – энергия самой высокой занятой молекулярной орбитали (Energy of Highest Occupied Molecular Orbital)

$E_{\text{LUMO}}$  – энергия самой низкой незанятой молекулярной орбитали (Energy of Lowest Unoccupied Molecular Orbital)

МО – молекулярные орбитали

в/ж – внутрижелудочный путь введения

СУБД – системы управления базами данных

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бандура, А.Ф. Молекулярное моделирование и анксиолитическая активность гетерилзамещенных 2,3-дигидро-1Н-хиназолин-4-она / А. Ф. Бандура, А. В. Арльт, А. В. Воронков, В. С. Сочнев, М. И. Кодониди, Д. С. Золотых, И. С. Луговой, А. Ю. Базганов // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 4. – С. 645.
2. Баскин, И. И. Введение в хемоинформатику: 4. Методы машинного обучения: учеб. пособие / И. И. Баскин, Т. И. Маджидов, А. А. Варнек. – Москва, Казань, Страсбург, 2020. – 321 с.
3. Баскин, И. И. Применение искусственных нейронных сетей в химических и биохимических исследованиях / И. И. Баскин, В. А. Палюлин, Н. С. Зефирова // Вестник МГУ. Серия 2. Химия. – 1999. – Т. 40. – № 5. – С. 323–326.
4. Бачурин, С. О. Молекулярное конструирование мультитаргетных нейропротекторов. Сообщение 1. Синтез и биологическая активность конъюгатов замещенных индолов и бис (диметиламино) фенотиазина / С. О. Бачурин, В. Б. Соколов, А. Ю. Аксиненко, Т. А. Епишина, Т. В. Горева, А. В. Габрельян, В. В. Григорьев // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2015. – № 6. – С. 1354-1354.
5. Бачурин, С. О. Мультифармакофорная стратегия медицинской химии в создании препаратов для лечения болезни Альцгеймера и некоторых других нейродегенеративных заболеваний / С. О. Бачурин, А. Ю. Аксиненко, Г. Ф. Махаева, Е. Ф. Шевцова // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2023. – Т. 72. № 1. – С. 130-147.
6. Васильев, П. М. Консенсусная ансамблевая нейросетевая мультитаргетная модель RAGE-ингибирующей активности химических соединений / П. М. Васильев, А. А. Спасов, А. Н. Кочетков, М. А. Перфильев,

- А. Р. Королева // Биомедицинская химия. – 2021. – Т. 67. – №. 3. – С. 268-277.
- А
7. Васильев, П. М. Прогноз *in silico* токсикологических и фармакокинетических характеристик лекарственных соединений / П. М. Васильев, А. В. Голубева, А. Р. Королева, М. А. Перфильев, А. Н. Кочетков // Безопасность и риск фармакотерапии. – 2023. – Т. 11. – №. 4. – С. 390-408.
  8. Васильев, П. М. Спектр энергий множественного докинга как многомерная метрика аффинности химических соединений к фармакологически релевантным биомишеням / П. М. Васильев, А. Н. Кочетков, А. А. Спасов, М. А. Перфильев // Вестник Волгоградского медицинского университета. – 2021. – Том. 3. – С. 57-61. В
  9. Глотов, Н.В. Биометрия / Н. В. Глотов, Л. А. Животовский, Н. В. Хованов, Н. Н. Хромов-Борисов – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – 264 с.
  10. Дашевский, В. Г. Конформационный анализ макромолекул / В. Г. Дашевский – М. Наука, 1987. – 288 с.
  11. Жмуров, В.А. Психиатрия. Энциклопедия / В.А. Жмуров – Т/О "Neformat", 2016. – 864 с.
  12. Ковалев, Н. С. Психотропная активность адамантановых производных ГАМК и альфа-пирролидона : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 3.3.6 / Ковалев Николай Сергеевич. – Волгоград, 2021. – 26 с.
  13. Колмогоров, А. Н. О представлении непрерывных функций нескольких переменных в виде суперпозиций непрерывных функций одного переменного и сложения / А. Н. Колмогоров // Доклады Академии наук СССР. – 1957. – Т. 114. – № 5. – С. 953–956.
  14. Миронов, А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А. Н. Миронов, Н. Д. Бунятян, А. Н. Васильев [и др.] – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
  15. Мирошников, М. В. Анксиолитическая активность новых производных диазепино-[1,2- $\alpha$ ]-бензимидазола : дис. ... канд. мед. наук: 14.03.06 / Мирошников Михаил Владимирович. – Волгоград, 2020. – 177 с.

16. Наркевич, В.Б. Анксиолитические и антидепрессивные свойства производных пиридо[1,2-А]пиримидина ПИОН-934 и ПИОН-935 в эксперименте / В. Б. Наркевич, П. Л. Наплёкова, С. В. Никитин, В. С. Кудрин, Т. А. Воронина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2020. – Т. 83. – № 11. – С. 8-11.
17. Окладников, С. М. Здоровоохранение в России. 2023 : Статистический сборник [Электронный ресурс] / С. М. Окладников // Федеральная служба государственной статистики – 2023. – 179 с. – Режим доступа: <https://rosstat.gov.ru/folder/210/document/13218>.
18. Патент № 2341521 С1 Российская Федерация, МПК С07D 341/00, А61К 31/385, А61Р 25/08. Производное бензопентатиепина, обладающее противосудорожной и противотревожной активностью : № 2007133066/04 : заяв. 03.09.2007; опубл. 20.12.2008 / Т. М. Хоменко, Д. В. Корчагина, А. В. Болкунов, М. П. Долгих, К. П. Волчо, Т. Г. Толстикова, Н. Ф. Салахутдинов; заявитель и патентообладатель Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН (НИОХ СО РАН)
19. Патент № 2453311 С1 Российская Федерация, МПК А61К 31/385, А61Р 29/00. 8-(трифторметил)бензо[F][1,2,3,4,5]пентатиепин-6-амин в качестве анальгезирующего средства : № 2011113135/15 : заяв. 05.04.2011; опубл. 20.06.2011 / Т. Г. Толстикова, А. В. Павлова, Е. А. Морозова, Т. М. Хоменко, К. П. Волчо, Н. Ф. Салахутдинов; заявитель и патентообладатель Учреждение Российской академии наук Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения РАН (НИОХ СО РАН)
20. Патент № 2507198 С1 Российская Федерация, МПК С07D 239/88, А61К 31/517, А61Р 25/28, А61Р 9/10. Производные хиназолина, обладающие ноотропной и антигипоксической активностью : № 2012138665/04: заявл. 10.09.2012; опубл. 20.02.2014 / В. И. Петров, И. Н. Тюренков, А. А. Озеров; заявитель и патентообладатель Петров В. И., Тюренков И. Н., Озеров А. А.

21. Патент № 2507199 С1 Российская Федерация, МПК С07D 239/88, А61К 31/517, А61Р 25/28, А61Р 25/22, А61Р 25/24. Производные хиназолина, обладающие антидепрессивной, анксиолитической и ноотропной активностью : № 2012138666/04 : заяв. 10.09.2012; опубл. 20.02.2014 / В. И. Петров, И. Н. Тюренков, А. А. Озеров; заявитель и патентообладатель Петров В. И., Тюренков И. Н., Озеров А. А. Б
22. Перфильев, М. А. Новые ацетамидные производные хиназолин-2,4(1Н,3Н)-диона: нейросетевой прогноз, синтез и психотропная активность / М. А. Перфильев, П. М. Васильев, А. А. Озеров, Д. В. Мальцев, А. Р. Плужникова, Д. В. Мережкина // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2023. – Т. 72. – № 4. – С. 1075-1082.
23. Перфильев, М.А. Детализация таргетного механизма действия RAGE-ингибиторов посредством консенсусного анализа чувствительности нейросетевых моделей / М. А. Перфильев, П. М. Васильев, А. Н. Кочетков // Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования: Сборник материалов международной научно-практической конференции, посвященной 30-летию юбилею Медицинского института ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет». – 2020. – С. 361-368.
24. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2022621744 Российская Федерация. Соединения с анксиолитической активностью: № 2022621682: заявл. 13.07.2022: опубл. 15.07.2022 / Васильев П. М., Мальцев Д. В., Перфильев М. А., Спасов А. А., Скрипка М. О., Кочетков А. Н.; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.
25. Синякова, Н. А. Эффекты флуоксетина и потенциального антидепрессанта гидрохлорида 8-трифторметил-1,2,3,4,5-пентатиепин-6-амин (ТС-2153) на поведение в тесте "новый резервуар", биогенные амины и их метаболиты в мозге рыбок *Danio rerio* / Н. А. Синякова, Е. А. Куликова, Н.

- А. Енглеvский, А. В. Куликов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 164. – № 11. – С. 573-576.
26. Скрипка, М. О. Нейропсихотропные свойства новых производных хиноксалина : дис. ... канд. мед. наук: 3.3.6 / Скрипка Мария Олеговна. – Волгоград, 2022. – 176 с.
27. Спасов, А. А. Анксиолитическая активность производных 11Н-2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола и 2-меркаптобензимидазола / А. А. Спасов, О. Н. Жуковская, Д. В. Мальцев, М. В. Мирошников, М. О. Скрипка, К. Т. Султанова, А. С. Морковник // Биоорганическая химия. – 2020. – Т. 46. – № 1. – С. 92-100.
28. Спасов, А. А. Анксиолитический потенциал нового ряда производных diaзепинобензимидазола / А. А. Спасов, Л. Н. Диваева, Д. В. Мальцев, Т. А. Кузьменко, А. С. Морковник, М. В. Мирошников, А. С. Таран, Е. А. Золотова // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2018. – Т. 3. – № 67. – С. 19-23.
29. Султанова, К. Т. Анксиолитические свойства соединения РУ-31 / К. Т. Султанова, Д. С. Яковлев, Д. В. Мальцев, М. В. Мирошников, Я. В. Морковина, В. А. Анисимова, А. С. Морковник // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2018. – Т. 3. – № 67. – С. 28-32.
30. Таран, А.С. Изучение анксиолитической активности в ряду новых производных diaзепинобензимидазола на установке "Приподнятый крестообразный лабиринт" / А.С. Таран, Д. В. Мальцев, Д. С. Яковлев, Т. В. Караваева, Ю. О. Ткаченко, Л. Н. Диваева, А. С. Морковник, Т. А. Кузьменко // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2017. – №. 1. – С. 24-26.
31. Тюренокv, И. Н. Ноотропная активность амидов хиназолинового ряда / И. Н. Тюренокv, А. А. Озеров, Е. Шматова, Ю. Арчакова// Химико-фармацевтический журнал. – 2015. – Т. 49. – №. 2. – С. 18-20.

32. Халимов, А. Р. Изучение механизмов стресс-протекторного действия бромантана и хлодантана : автореф. дис. ... канд. биол. наук: 3.00.04, 14.00.25 / Халимов Азат Рашидович. – Уфа, 1997. – 22 с.
33. Хамидова, Т. В. Влияние ладастена на репродуктивную функцию стрессированных крыс-самцов / Т. В. Хамидова, Ю. Л. Чигиринский, И. С. Морозов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005. – Т. 68. – №. 3. – С. 26-29.
34. Шабанов, П. Д. Экспериментальное исследование нового анксиолитика транквиридина / П. Д. Шабанов, А. И. Морозов, А. А. Лебедев, Е. Р. Бычков, А. И. Вислобоков // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2016. – Т. 15. – №. 2. – С. 5-14.
35. Abdolmaleki, A. Computer Aided Drug Design for Multi-Target Drug Design: SAR /QSAR, Molecular Docking and Pharmacophore Methods / A. Abdolmaleki, J. B. Ghasemi, F. Ghasemi // Current drug targets. – 2017. – Vol. 18. – №. 5. – P. 556–575.
36. Abela, A. R. Median raphe serotonin neurons promote anxiety-like behavior via inputs to the dorsal hippocampus / A. R. Abela, C. J. Browne, D. Sargin, T. D. Prevot, X. D. Ji, Z. Li, E. K. Lambe, P. J. Fletcher // Neuropharmacology. – 2020. – Vol. 168. – P. 107985.
37. Abramson, J. Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3 / J. Abramson, J. Adler, J. Dunger [et al.] // Nature. – 2024. – Vol. 630. – №. 8016. – P. 493–500.
38. Agatonovic-Kustrin, S. Basic concepts of artificial neural network (ANN) modeling and its application in pharmaceutical research / S. Agatonovic-Kustrin, R. Beresford // Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. – 2000. – Vol. 22. – Iss. 5. – P. 717–727.
39. Akinfiresoye, L. Antidepressant effects of AMPA and ketamine combination: role of hippocampal BDNF, synapsin, and mTOR / L. Akinfiresoye, Y. Tizabi // Psychopharmacology. – 2013. – Vol. 230. – Iss. 2. – P. 291–298.

40. Albert, P. R. The neurobiology of depression—revisiting the serotonin hypothesis. II. Genetic, epigenetic and clinical studies / P. R. Albert, C. Benkelfat // *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological sciences.* – 2013. – Vol. 368. – Iss. 1615. – P. 20120535.
41. Alvarez, L. D. Exploring the molecular basis of neurosteroid binding to the  $\beta 3$  homopentameric GABAA receptor / L. D. Alvarez, D. A. Estrin // *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology.* – 2015. – №. 154. – P. 159–167.
42. Arias, D. Quantifying the global burden of mental disorders and their economic value. / D. Arias, S. Saxena, S. Verguet // *EClinicalMedicine.* – 2022. – Vol. 54. – P. 101675.
43. Armstrong, D. R. PDBe: improved findability of macromolecular structure data in the PDB / D. R. Armstrong, J. M. Berrisford, M. J. Conroy [et al.] // *Nucleic Acids Research.* – 2020. – Vol. 48. – P. D335-D343.
44. Arnsten, A. F. T. Stress signalling pathways that impair prefrontal cortex structure and function / A. F. T. Arnsten // *Nature reviews. Neuroscience.* – 2009. – Vol. 10. – №. 6. – P. 410–422.
45. Atack, J. R. The benzodiazepine binding site of GABA(A) receptors as a target for the development of novel anxiolytics / J. R. Atack // *Expert opinion on investigational drugs.* – 2005. – Vol. 14. – №. 5. – P. 601–618.
46. Azevedo, H. Preclinical characterization of ACH-000029, a novel anxiolytic compound acting on serotonergic and alpha-adrenergic receptors / H. Azevedo, M. Ferreira, R. W. Costa, V. Russo, E. Russo, A. Mascarello, C. R. W. Guimarães // *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry.* – 2019. – Vol. 95. – P. 109707.
47. Bakker, A. SSRIs vs. TCAs in the treatment of panic disorder: a meta-analysis / A. Bakker, A. J. van Balkom, P. Spinhoven // *Acta psychiatrica Scandinavica.* – 2002. – Vol. 106. – Iss. 3. – P. 163–167.
48. Balon, R. Role of Benzodiazepines in Anxiety Disorders / R. Balon, V. Starcevic // *Advances in experimental medicine and biology.* – 2020. – Vol. 1191. – P. 367–388.

49. Banerjee, P. ProTox 3.0: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals / P. Banerjee, E. Kemmler, M. Dunkel, R. Preissner // *Nucleic Acids Research*. – 2024. – Vol. 52. – Iss. W1. – P. W513–W520.
50. Batool, M. A Structure-Based Drug Discovery Paradigm / M. Batool, B. Ahmad, S. Choi // *International journal of molecular sciences*. – 2019. – Vol. 20. – Iss. 11. – 2783.
51. Beaulieu, J. M. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors / J. M. Beaulieu, R. R. Gainetdinov // *Pharmacological reviews*. – 2011. – Vol. 63. – Iss. 1. – P. 182–217.
52. Bektas, N. The anxiolytic effect of perampanel and possible mechanisms mediating its anxiolytic effect in mice / N. Bektas, R. Arslan, F. Alyu // *Life sciences*. – 2020. – Vol. 261. – P. 118359.
53. Berdigaliyev, N. An overview of drug discovery and development / N. Berdigaliyev, M. Aljofan // *Future medicinal chemistry*. – 2020. – Vol. 12. – Iss. 10. – P. 939–947.
54. Berridge, C. W. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes / C. W. Berridge, B. D. Waterhouse // *Brain research. Brain research reviews*. – 2003. – Vol. 42. – №. 1. – P. 33–84.
55. Biasini, M. SWISS-MODEL: modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information / M. Biasini, S. Bienert, A. Waterhouse, K. Arnold, G. Studer, T. Schmidt, F. Kiefer, T. Gallo Cassarino, M. Bertoni, L. Bordoli, T. Schwede // *Nucleic acids research*. – 2014. – Vol. 42. – P. W252–W258.
56. Bourin, M. The mouse light/dark box test / M. Bourin, M. Hascoët // *European journal of pharmacology*. – 2003. – Vol. 463. – Iss. 1-3. – P. 55–65.
57. Bucinski, A. Pharmacological classification of drugs based on neural network processing of molecular modeling data / A. Bucinski, A. Nasal, R. Kaliszan // *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*. – 2000. – Vol. 3. – №. 6. – P. 525-533.

58. Camp, R. M. Repeated stressor exposure enhances contextual fear memory in a beta-adrenergic receptor-dependent process and increases impulsivity in a non-beta receptor-dependent fashion / R. M. Camp, J. D. Johnson // *Physiology & behavior*. – 2015. – Vol. 150. – P. 64–68.
59. Castro, L. H. E. Molecular Modeling Techniques Applied to the Design of Multitarget Drugs: Methods and Applications / L. H. E. Castro, C. M. R. Sant'Anna // *Current Topics in Medicinal Chemistry*. – 2022. – Vol. 22. – №. 5. – C. 333-346.
60. Charlson, F. New WHO prevalence estimates of mental disorders in conflict settings: a systematic review and meta-analysis / F. Charlson, M. van Ommeren, A. Flaxman, J. Cornett, H. Whiteford, S. Saxena // *Lancet*. – 2019. – Vol. 394. – Iss. 10194. – P. 240–248.
61. Chaudharya, A. P. Study of developments of biologically active Quinazolinones derivatives: A review. / A. P. Chaudharya, A. K. Shuklab, J. Pandeyb, P. Kanta // *Chemistry & Biology Interface*. – 2018. – Vol. 8. – Iss. 2. – P. 62-83.
62. Chavanne, A. V. The Overlapping Neurobiology of Induced and Pathological Anxiety: A Meta-Analysis of Functional Neural Activation / A. V. Chavanne, O. J. Robinson // *The American journal of psychiatry*. – 2021. – Vol. 178. – Iss. 2. – P. 156–164.
63. Chen, H. Prediction of Lymph Node Metastasis in Superficial Esophageal Cancer Using a Pattern Recognition Neural Network / H. Chen, X. Zhou, X. Tang, S. Li, G. Zhang // *Cancer management and research*. – 2020. – Vol. 12. – P. 12249–12258.
64. Chen, Y. C. Beware of docking! / Y. C. Chen // *Trends in pharmacological sciences*. – 2015. – Vol. 36. Iss. – 2. – P. 78–95. A
65. Chen, Y. Convolutional Neural Network for Sentence Classification / Y. Chen. – University of Waterloo, 2015. – 62 p. B
66. Chen, Z. W. Neurosteroid analog photolabeling of a site in the third transmembrane domain of the  $\beta_3$  subunit of the GABA(A) receptor / Z. W. Chen,

B. Manion, R. R. Townsend, D. E. Reichert, D. F. Covey, J. H. Steinbach, W. Sieghart, K. Fuchs, A. S. Evers // *Molecular pharmacology*. – 2012. – Vol. 82. – Iss. 3. – P. 408–419.

67. Cherkasov, A. QSAR modeling: where have you been? Where are you going to? / A. Cherkasov, E. N. Muratov, D. Fourches, A. Varnek, I. I. Baskin, M. Cronin, J. Dearden, P. Gramatica, Y. C. Martin, R. Todeschini, V. Consonni, V. E. Kuz'min, R. Cramer, R. Benigni, C. Yang, J. Rathman, L. Terfloth, J. Gasteiger, A. Richard, A. Tropsha // *Journal of medicinal chemistry*. – 2014. – Vol. 57. – Iss. 12. – P. 4977–5010.

68. Chessick, C. A. Azapirones for generalized anxiety disorder / C. A. Chessick, M. H. Allen, M. E. Thase, A. A. B. C. Batista, M. da Cunha Flávio, K. M. S. de Lima, J. J. S. S. dos Santos Souza // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2006. – Iss. 3. – P. CD006115.

69. Christensen, M. K. The cost of mental disorders: a systematic review / M. K. Christensen, C. C. W. Lim, S. Saha, O. Plana-Ripoll, D. Cannon, F. Presley, N. Weye, N. C. Momen, H. A. Whiteford, K. M. Iburg, J. J. McGrath // *Epidemiology and Psychiatric Sciences* – 2020. – Vol. 29. – P. e161.

70. Chuang, K. V. Learning Molecular Representations for Medicinal Chemistry / K. V. Chuang, L. M. Gunsalus, M. J. Keiser // *Journal of medicinal chemistry*. – 2020. – Vol. 63. – Iss. 16. – P. 8705–8722.

71. Cichonska, A. Identification of drug candidates and repurposing opportunities through compound-target interaction networks / A. Cichonska, J. Rousu, T. Aittokallio // *Expert opinion on drug discovery*. – 2015. – Vol. 10. – Iss. 12. – P. 1333–1345.

72. Coudert, E. Annotation of biologically relevant ligands in UniProtKB using ChEBI / E. Coudert, S. Gehant, E. de Castro, M. Pozzato, D. Baratin, T. Neto, C. J. A. Sigrist, N. Redaschi, A. Bridge, UniProt Consortium // *Bioinformatics*. – 2023. – Vol. 39. – Iss. 1. – P. btac793.

73. Coumar, M.S. *Molecular Docking for Computer-Aided Drug Design: Fundamentals, Techniques, Resources and Applications* / M. S. Coumar. – Academic Press, 2021. – 502 p.
74. Czeizel, A. E. Phenotypic and cytogenetic studies in self-poisoned patients / A. E. Czeizel // *Mutation research*. – 1994. – Vol. 313. – Iss. 2-3. – P. 175–181.
75. Dabek, F. A neural network based model for predicting psychological conditions / F. Dabek, J. J. Caban // *Brain Informatics and Health: 8th International Conference, BIH 2015, London, UK, August 30-September 2, 2015. Proceedings 8*. – Springer International Publishing, 2015. – P. 252-261.
76. Daina, A. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules / A. Daina, O. Michielin, V. Zoete // *Scientific reports*. – 2017. – Vol. 7. – P. 42717.
77. Dallakyan, S. Small-molecule library screening by docking with PyRx / S. Dallakyan, A. J. Olson // *Methods in molecular biology*. – 2015. – Vol. 1263. – P. 243–250.
78. Daniloski, Z. Identification of Required Host Factors for SARS-CoV-2 Infection in Human Cells / Z. Daniloski, T. X. Jordan, H. H. Wessels, D. A. Hoagland, S. Kasela, M. Legut, S. Maniatis, E. P. Mimitou, L. Lu, E. Geller, O. Danziger, B. R. Rosenberg, H. Phatnani, P. Smibert, T. Lappalainen, B. R. tenOever, N. E. Sanjana // *Cell*. – 2021. – Vol. 184. – Iss. 1. – P. 92–105.e16.
79. Dara, S. *Machine Learning in Drug Discovery: A Review* / S. Dara, S. Dhamercherla, S. S. Jaday, C. M. Babu, M. J. Ahsan // *Artificial intelligence review*. – 2022. – Vol. 55. – Iss. 3. – P. 1947–1999.
80. de Kloet, E. R. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nature reviews* / E. R. de Kloet, M. Joëls, F. Holsboer // *Neuroscience*. – 2005. – Vol. 6. – Iss. 6. – P. 463–475.
81. de Sousa, D. P. A Systematic Review of the Anxiolytic-Like Effects of Essential Oils in Animal Models / D. P. de Sousa, P. de Almeida Soares Hocayen, L. N. Andrade, R. Andreatini // *Molecules*. – 2015. – Vol. 20. – Iss. 10. – P. 18620–18660.

82. DeGroot, S. R. Midbrain Dopamine Controls Anxiety-like Behavior by Engaging Unique Interpeduncular Nucleus Microcircuitry / S. R. DeGroot, Zhao-R. Shea, L. Chung, P. M. Klenowski, F. Sun, S. Molas, P. D. Gardner, Y. Li, A. R. Tapper // *Biological psychiatry*. – 2020. – Vol. 88. – Iss. 11. – P. 855–866.
83. Dorahy, G. Computer-Aided Drug Design towards New Psychotropic and Neurological Drugs / G. Dorahy, J. Z. Chen, T. Balle // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28. – Iss. 3. – P. 1324.
84. Dragomanova, S. Therapeutic Potential of Myrtenal and Its Derivatives-A Review / S. Dragomanova, V. Andonova, K. Volcho, N. Salakhutdinov, R. Kalfin, L. Tancheva // *Life*. – 2023. – Vol. 13. – Iss. 10. – P. 2086.
85. Du, K. L. *Neural Networks and Statistical Learning* / K. L. Du, M. N. S. Swamy – Springer London, 2014. – 824 p.
86. Dubovsky, S. L. Benzodiazepines Remain Important Therapeutic Options in Psychiatric Practice / S. L. Dubovsky, D. Marshall // *Psychotherapy and psychosomatics*. – 2022. – Vol. 91. – Iss. 5. – P. 307–334.
87. Dunayevich, E. Efficacy and tolerability of an mGlu2/3 agonist in the treatment of generalized anxiety disorder / E. Dunayevich, J. Erickson, L. Levine, R. Landbloom, D. D. Schoepp, G. D. Tollefson // *Neuropsychopharmacology* : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology. – 2008. – Vol. 33. – Iss. 7. – P. 1603–1610.
88. Fedorov, I. I. Mass spectrometry-based chemical proteomics for drug target discoveries / I. I. Fedorov, V. I. Lineva, I. A. Tarasova, M. V. Gorshkov // *Biochemistry (Moscow)*. – 2022. – Vol. 87. – №. 9. – P. 983-994.
89. Felix-Ortiz, A. C. BLA to vHPC inputs modulate anxiety-related behaviors / A. C. Felix-Ortiz, A. Beyeler, C. Seo, C. A. Leppla, C. P. Wildes, K. M. Tye // *Neuron*. – 2013. – Vol. 79. – Iss. 4. – P. 658–664.
90. Ferreira, L. G. Molecular docking and structure-based drug design strategies / L. G. Ferreira, R. N. Dos Santos, G. Oliva, A. D. Andricopulo // *Molecules*. – 2015. – Vol. 20. – Iss. 7. – P. 13384–13421.

91. Feusner, J. D. Differential efficacy of memantine for obsessive-compulsive disorder vs. generalized anxiety disorder: an open-label trial / J. D. Feusner, L. Kerwin, S. Saxena, A. Bystritsky // *Psychopharmacology bulletin*. – 2009. – Vol. 42. – №. 1. – P. 81–93.
92. Filimonov D. A. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource / D. A. Filimonov, A. A. Lagunin, T. A. Glorizova, A. V. Rudik, D. S. Druzhilovskii, P. V. Pogodin, V. V. Poroikov // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. – 2014. – Vol. 50. – №. 3. – P. 444-457.
93. Fitzpatrick, C. M. Positive allosteric modulation of  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid glutamate receptors differentially modulates the behavioural effects of citalopram in mouse models of antidepressant and anxiolytic action / C. M. Fitzpatrick, M. Larsen, L. H. Madsen, M. Caballero-Puntiverio, D. S. Pickering, R. P. Clausen, J. T. Andreasen // *Behavioural pharmacology*. – 2016. – Vol. 27. – №. 6. – P. 549–555.
94. Fukushima K. Neocognitron: a self organizing neural network model for a mechanism of pattern recognition unaffected by shift in position / K. Fukushima // *Biological Cybernetics*. – 1980. – Vol. 36. – P. 193-202.
95. Geronikaki, A. Design, synthesis, computational and biological evaluation of new anxiolytics / A. Geronikaki, E. Babaev, J. Dearden [et al.] // *Bioorganic & medicinal chemistry*. – 2004. – Vol. 12. – Iss. 24. – P. 6559-6568.
96. Ghoneim, M. M. A literature review on pharmacological aspects, docking studies, and synthetic approaches of quinazoline and quinazolinone derivatives / M. M. Ghoneim, M. A. Abdelgawad, N. A. A. Elkanzi, D. G. T. Parambi, I. Alsalahat, A. Farouk, R. B. Bakr // *Archiv der Pharmazie*. – 2024. – Vol. 357. – Iss. 8. – P. e2400057.
97. Goel, R. K. Pharmacological repositioning of *Achyranthes aspera* as an antidepressant using pharmacoinformatic tools PASS and PharmaExpert: a case study with wet lab validation / R. K. Goel, D. Y. Gawande, A. A. Lagunin, V. V. Poroikov // *SAR and QSAR in Environmental Research*. – 2018. – Vol. 29. – №. 1. – P. 69-81.

98. Grauffel, C. Molecular dynamics for computational proteomics of methylated histone H3 / C. Grauffel, R. H. Stote, A. Dejaegere // *Biochimica et biophysica acta*. – 2015. – Vol. 1850. – Iss. 5. – P. 1026–1040.
99. Griebel, G. 50 years of hurdles and hope in anxiolytic drug discovery / G. Griebel, A. Holmes // *Nature reviews. Drug discovery*. – 2013. – Vol. 12. – Iss. 9. – P. 667–687.
100. Gross, C. Serotonin1A receptor acts during development to establish normal anxiety-like behaviour in the adult / C. Gross, X. Zhuang, K. Stark, S. Ramboz, R. Oosting, L. Kirby, L. Santarelli, S. Beck, R. Hen // *Nature*. – 2002. – Vol. 416. – Iss. 6879. – P. 396–400.
101. Gupta, R. Artificial intelligence to deep learning: machine intelligence approach for drug discovery / R. Gupta, D. Srivastava, M. Sahu, S. Tiwari, R. K. Ambasta, P. Kumar // *Molecular diversity*. – 2021. – Vol. 25. – Iss. 3. – P. 1315–1360.
102. Haghghi, M. In a double-blind, randomized and placebo-controlled trial, adjuvant memantine improved symptoms in inpatients suffering from refractory obsessive-compulsive disorders (OCD) / M. Haghghi, L. Jahangard, H. Mohammad-Beigi, H. Bajoghli, H. Hafezian, A. Rahimi, H. Afshar, E. Holsboer-Trachsler, S. Brand // *Psychopharmacology*. – 2013. – Vol. 228. – P. 633–640.
103. Hammer, H. A Multifaceted GABAA Receptor Modulator: Functional Properties and Mechanism of Action of the Sedative-Hypnotic and Recreational Drug Methaqualone (Quaalude) / H. Hammer, B. M. Bader, C. Ehnert, C. Bundgaard, L. Bunch, K. Hoestgaard-Jensen, O. H. Schroeder, J. F. Bastlund, A. Gramowski-Voß, A. A. Jensen // *Molecular pharmacology*. – 2015. – Vol. 88. – Iss. 2. – P. 401–420.
104. Hansch, C. The correlation of biological activity of plant growth regulators and chloromycetin derivatives with Hammett constants and partition coefficients / C. Hansch, R. M. Muir, T. Fujita, P. P. Maloney, F. Geiger, M. Streich // *Journal of the American Chemical Society*. – 1963. – Vol. 85. – Iss. 18. – P. 2817-2824.

105. Harding, S. D. The IUPHAR/BPS Guide to PHARMACOLOGY in 2024 / S. D. Harding, J. F. Armstrong, E. Faccenda, C. Southan, S. P. H. Alexander, A. P. Davenport, M. Spedding, J. A. Davies // *Nucleic Acids Research*. – 2024. – Vol. 52. – P. D1438-D1449.
106. Hascoet, M. A new approach to the light/dark procedure in mice / M. Hascoet, M. Bourin // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. – 1998. – Vol. 60. – №. 3. – P. 645 – 653.
107. He, H. Comparative efficacy and acceptability of first-line drugs for the acute treatment of generalized anxiety disorder in adults: A network meta-analysis / H. He, Y. Xiang, F. Gao, L. Bai, F. Gao, Y. Fan, J. Lyu, X. Ma // *Journal of psychiatric research*. – 2019. – Vol. 118. – P. 21–30.
108. Hecht-Nielsen, R. Kolmogorov's mapping neural network existence theorem / R. Hecht-Nielsen // *Proceedings of the international conference on Neural Networks*. – 1987. – Vol. 3. – P. 11-14.
109. Hilbe, J. M. STATISTICA 7: an overview / J. M. Hilbe // *The American Statistician*. – 2007. – Vol. 61. – Iss. 1. – P. 91-94.
110. Hirschtritt, M. E. Balancing the Risks and Benefits of Benzodiazepines / M. E. Hirschtritt, M. Olfson, K. Kroenke // *JAMA*. – 2021. – Vol. 325. – Iss. 4. – P. 347–348.
111. Howland, R. H. Buspirone: Back to the Future / R. H. Howland // *Journal of psychosocial nursing and mental health services*. – 2015. – Vol. 53. – №. 11. – P. 21–24.
112. Hoyer, D. Identification of serotonin 5-HT<sub>3</sub> recognition sites in membranes of N1E-115 neuroblastoma cells by radioligand binding / D. Hoyer, H. C. Neijt // *Molecular pharmacology*. – 1988. – Vol. 33. – Iss. 3. – P. 303-309.
113. Huey, R. A Semiempirical Free Energy Force Field with Charge-Based Desolvation / R. Huey, G. M. Morris, A. J. Olson, D. S. Goodsell // *Journal of Computational Chemistry*. – 2007. – Vol. 28. – Iss. 6. – P. 1145–1152.
114. Huo, K. Identification of Drug Targets and Agents Associated with Ferroptosis-related Osteoporosis through Integrated Network Pharmacology and

- Molecular Docking Technology / K. Huo, Y. Yang, T. Yang, W. Zhang, J. Shao // *Current Pharmaceutical Design*. – 2024. – Vol. 30. – №. 14. – P. 1103.
115. Ilowite, N. T. Pharmacology and Drug Therapy / N. T. Ilowite, R. M. Laxer // *Textbook of Pediatric Rheumatology*. – 2011. – P. 71–126.
116. Janak, P. H. From circuits to behaviour in the amygdala / P. H. Janak, K. M. Tye // *Nature*. – 2015. – Vol. 517. – Iss. 7534. – P. 284–292.
117. Jann, M. W. Buspirone: an update on a unique anxiolytic agent / M. W. Jann // *Pharmacotherapy*. – 1988. – Vol. 8 – Iss. 2. – P. 100–116.
118. Janowczyk, A. Deep learning for digital pathology image analysis: A comprehensive tutorial with selected use cases / A. Janowczyk, A. Madabhushi // *Journal of pathology informatics*. – 2016. – Vol. 7. – Iss. 1. – P. 29.
119. Jilani, T. N. Mirtazapine [Электронный ресурс] / T. N. Jilani, J. R. Gibbons, R. M. Faizy, A. Saadabadi // Treasure Island (FL): StatPearls Publishing [Updated 2023 Aug 28]. – 2023. – Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519059/>
120. Jones, P. B. Adult mental health disorders and their age at onset / P. B. Jones // *The British journal of psychiatry. Supplement*. – 2013. – Vol. 202. – №. s54. – P. s5–s10.
121. Ju, Y. Connectome-based models can predict early symptom improvement in major depressive disorder / Y. Ju, C. Horien, W. Chen, W. Guo, X. Lu, J. Sun, Q. Dong, B. Liu, J. Liu, D. Yan, M. Wang, L. Zhang, H. Guo, F. Zhao, Y. Zhang, X. Shen, R. T. Constable, L. Li // *Journal of affective disorders*. – 2020. – Vol. 273. – P. 442–452.
122. Jumper, J. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold / J. Jumper, R. Evans, A. Pritzell [et al.] // *Nature*. – 2021. – Vol. 596. – №. 7873. – P. 583–589.
123. Karabulut, S. Applications and Potential of In Silico Approaches for Psychedelic Chemistry / S. Karabulut, H. Kaur, J. W. Gault // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28. – Iss. 16. – P. 5966.

124. Keiser, M. J. Predicting new molecular targets for known drugs / M. J. Keiser, V. Setola, J. J. Irwin, C. Laggner, A. I. Abbas, S. J. Hufeisen, N. H. Jensen, M. B. Kuijter, R. C. Matos, T. B. Tran, R. Whaley, R. A. Glennon, J. Hert, K. L. Thomas, D. D. Edwards, B. K. Shoichet, B. L. Roth // *Nature*. – 2009. – Vol. 462. – Iss. 7270. – P. 175–181.
125. Kessler, R. C. Anxious and non-anxious major depressive disorder in the World Health Organization World Mental Health Surveys / R. C. Kessler, N. A. Sampson, P. Berglund [et al.] // *Epidemiology and psychiatric sciences*. – 2015. – Vol. 24. – Iss. 3. – P. 210–226.
126. Khomenko, T. M. 8-(Trifluoromethyl)-1, 2, 3, 4, 5-benzopentathiepin-6-amine: Novel Aminobenzopentathiepine having In Vivo Anticonvulsant and Anxiolytic activities / T. M. Khomenko, T. G. Tolstikova, A. V. Bolkunov, M. P. Dolgikh, A. V., Pavlova, D. V. Korchagina, K. P. Volcho, N. F. Salakhutdinov // *Letters in Drug Design & Discovery*. – 2009. – Vol. 6. – №. 6. – P. 464-467.
127. Kim, E. Drug repositioning of herbal compounds via a machine-learning approach / E. Kim, A. S. Choi, H. Nam // *BMC bioinformatics*. – 2019. – Vol. 20. – Suppl. 10. – P. 33-43.
128. Kim, S. PubChem 2023 update / S. Kim, J. Chen, T. Cheng [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2023. – Vol. 51. – P. D1373–D1380.
129. Knox, C. DrugBank 6.0: the DrugBank Knowledgebase for 2024 / C. Knox, M. Wilson, C. M. Klinger [et al.] // *Nucleic acids research*. – 2024. – Vol. 52. – P. D1265–D1275.
130. Koba, M. Influence of HPLC retention data and molecular modeling descriptors on prediction of pharmacological classification of drugs using principal component analysis method / M. Koba, L. Bober, U. Judycka-Proma, T. Baczek // *Combinatorial chemistry & high throughput screening*. – 2010. – Vol. 13. – Iss. 9. – P. 765–776.
131. König, G. On the faithfulness of molecular mechanics representations of proteins towards quantum-mechanical energy surfaces / G. König, S. Riniker // *Interface focus*. – 2020. – Vol. 10. – Iss. 6. – P. 20190121.

132. Koolhaas, J. M. Stress revisited: a critical evaluation of the stress concept / J. M. Koolhaas, A. Bartolomucci, B. Buwalda, S. F. de Boer, G. Flügge, S. M. Korte, P. Meerlo, R. Murison, B. Olivier, P. Palanza, G. Richter-Levin, A. Sgoifo, T. Steimer, O. Stiedl, G. van Dijk, M. Wöhr, E. Fuchs // *Neuroscience and biobehavioral reviews*. – 2011. – Vol. 35. – Iss. 5. – P. 1291–1301.
133. Kulikov, A. V. A new synthetic varacin analogue, 8-(trifluoromethyl)-1,2,3,4,5-benzopentathiepin-6-amine hydrochloride (TC-2153), decreased hereditary catalepsy and increased the BDNF gene expression in the hippocampus in mice / A. V. Kulikov, M. A. Tikhonova, E. A. Kulikova, K. P. Volcho, T. M. Khomenko, N. F. Salakhutdinov, N. K. Popova // *Psychopharmacology*. – 2012. – Vol. 221. – P. 469–478.
134. Lafi, A. A study of the induction of aneuploidy and chromosome aberrations after diazepam, medazepam, midazolam and bromazepam treatment / A. Lafi, J. M. Parry // *Mutagenesis*. – 1988. – Vol. 3. – Iss. 1. – P. 23–27.
135. Lagunin, A. A. Combined network pharmacology and virtual reverse pharmacology approaches for identification of potential targets to treat vascular dementia / A. A. Lagunin, S. M. Ivanov, T. A. Glorizova, P. V. Pogodin, D. A. Filimonov, S. Kumar, R. K. Goel // *Scientific reports*. – 2020. – Vol. 10. – Iss. 1. – P. 257.
136. Laskowski, R. A. LigPlot+: multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery / R. A. Laskowski, M. B. Swindells // *Journal of chemical information and modeling*. – 2011. – Vol. 51. – Iss. 10. – P. 2778–2786.
137. Lautman, Z. The Use of Smart Devices for Mental Health Diagnosis and Care / Z. Lautman, S. Lev-Ari // *Journal of clinical medicine*. – 2022. – Vol. 11. – Iss. 18. – P. 5359.
138. LeCun, Y. Backpropagation Applied to Handwritten Zip Code Recognition / Y. LeCun, B. Boser, J. S. Denker, D. Henderson, R. E. Howard, W. Hubbard, L. D. Jackel // *Neural Computation*. – 1989. – Vol. 1. – Iss. 4. – P. 541-551.
139. Lee, S. Y. Revealing unknown controlled substances and new psychoactive substances using high-resolution LC–MS–MS machine learning models and the

- hybrid similarity search algorithm / S. Y. Lee, S. T. Lee, S. Suh, B. J. Ko, H. B. Oh // *Journal of Analytical Toxicology*. – 2022. – Vol. 46. – Iss. 7. – P. 732-742.
140. Lembke, A. Our Other Prescription Drug Problem / A. Lembke, J. Papac, K. Humphreys // *The New England journal of medicine*. – 2018. – Vol. 378. – №. 8. – P. 693–695.
141. Lengauer, T. Computational methods for biomolecular docking / T. Lengauer, M. Rarey // *Current Opinion In Structural Biology*. – 1996. – Vol. 6. – Iss. 3. – P. 402–406.
142. Lipinski, C. F. Advances and Perspectives in Applying Deep Learning for Drug Design and Discovery / C. F. Lipinski, V. G. Maltarollo, P. R. Oliveira, A. B. F. da Silva, K. M. Honorio // *Frontiers in robotics and AI*. – 2019. – Vol. 6. – P. 108.
143. Liu, X. Predicting targeted polypharmacology for drug repositioning and multi-target drug discovery / X. Liu, F. Zhu, X. H. Ma, Z. Shi, S. Y. Yang, Y. Q. Wei, Y. Z. Chen // *Current medicinal chemistry*. – 2013. – Vol. 20. – Iss. 13. – P. 1646–1661.
144. Loane, C. Buspirone: what is it all about? / C. Loane, M. Politis // *Brain research*. – 2012. – Vol. 1461. – P. 111–118.
145. Maltsev D. V. Design, Synthesis and Pharmacological Evaluation of Novel C2,C3-Quinoxaline Derivatives as Promising Anxiolytic Agents / D. V. Maltsev, M. O. Skripka, A. A. Spasov, P. M. Vassiliev, M. A. Perfiliev, L. N. Divaeva, A. A. Zubenko, A. S. Morkovnik, A. I. Klimenko, M. V. Miroshnikov, V. G. Klochkov, L. R. Ianalieva // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23. – Iss. 22. – P. 14401.
146. Maltsev D. V. Searching for new anxiolytic agents among derivatives of 11-dialkylaminoethyl-2, 3, 4, 5-tetrahydrodiazepino [1, 2-a] benzimidazole / D. V. Maltsev, A. A. Spasov, D. S. Yakovlev, P. M. Vassiliev, M. O. Skripka, M. V. Miroshnikov, K. T. Sultanova, A. N. Kochetkov, L. N. Divaeva, T. A. Kuzmenko, A. S. Morkovnik // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. – 2021. – Vol. 161. – P. 105792.

147. Martin, B. P. Accuracy issues involved in modeling in vivo protein structures using PM7 / B. P. Martin, C. J. Brandon, J. J. P. Stewart, S. B. Braun- Sand // *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. – 2015. – Vol. 83. – Iss. 3. – P. 1427–1435.
148. McCall, J. G. CRH Engagement of the Locus Coeruleus Noradrenergic System Mediates Stress-Induced Anxiety / J. G. McCall, R. Al-Hasani, E. R. Siuda, D. Y. Hong, A. J. Norris, C. P. Ford, M. R. Bruchas // *Neuron*. – 2015. – Vol. 87. – Iss. 3. – P. 605–620.
149. McShane, R. Memantine for dementia / R. McShane, M. J. Westby, E. Roberts, N. Minakaran, L. Schneider, L. E. Farrimond, N. Maayan, J. Ware, J. Debarros // *The Cochrane database of systematic reviews*. – 2019. – Vol. 3. – Iss. 3. – P. CD003154.
150. Mendez-David, I. S 47445 Produces Antidepressant- and Anxiolytic-Like Effects through Neurogenesis Dependent and Independent Mechanisms / I. Mendez-David, J. P. Guilloux, M. Papp, L. Tritschler, E. Mocaer, A. M. Gardier, S. Bretin, D. J. David // *Frontiers in pharmacology*. – 2017. – Vol. 8. – P. 462.
151. Middlemiss, D. N. 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)-tetralin discriminates between subtypes of the 5-HT<sub>1</sub> recognition site / D. N. Middlemiss, J. R. Fozard // *European journal of pharmacology*. – 1983. – Vol. 90. – Iss. 1. – P. 151–153.
152. Miller, P. S. Crystal structure of a human GABAA receptor / P. S. Miller, A. R. Aricescu // *Nature*. – 2014. – Vol. 512. – Iss. 7514. – P. 270–275.
153. Miller, P. S. Structural basis for GABAA receptor potentiation by neurosteroids / P. S. Miller, S. Scott, S. Masiulis, L. De Colibus, E. Pardon, J. Steyaert, A. R. Aricescu // *Nature structural & molecular biology*. – 2017. – Vol. 24. – Iss. 11. – P. 986–992.
154. Myrov, V. O. Artificial Neural Network (ANN)-Based Pattern Recognition Approach Illustrates a Biphasic Behavioral Effect of Ethanol in Zebrafish: A High-Throughput Method for Animal Locomotor Analysis / V. O. Myrov, A. I. Polovian, S. Kolchanova, G. K. Galumov, H. B. Schiöth, D. V. Bozhko // *Biomedicines*. – 2023. – Vol. 11. – Iss. 12. – P. 3215.

155. Na, K. S. Machine learning-based discrimination of panic disorder from other anxiety disorders / K. S. Na, S. E. Cho, S. J. Cho // *Journal of affective disorders*. – 2021. – Vol. 278. – P. 1–4.
156. Nasal, A. Prediction of the affinity of the newly synthesised azapirone derivatives for 5-HT<sub>1A</sub> receptors based on artificial neural network analysis of chromatographic retention data and calculation chemistry parameters / A. Nasal, A. Bucinski, T. Baczek, A. Wojdelko // *Combinatorial chemistry & high throughput screening*. – 2004. – Vol. 7. – Iss. 4. – P. 313–325.
157. Ng, J. Efficacy of ketamine and esketamine on functional outcomes in treatment-resistant depression: A systematic review / J. Ng, J. D. Rosenblat, L. M. W. Lui, K. M. Teopiz, Y. Lee, O. Lipsitz, R. B. Mansur, N. B. Rodrigues, F. Nasri, H. Gill, D. S. Cha, M. Subramaniapillai, R. C. Ho, B. Cao, R. S. McIntyre // *Journal of affective disorders*. – 2021. – Vol. 293. – P. 285–294.
158. Nielsen, M. A. Neural networks and deep learning [Электронный ресурс] / M. A. Nielsen // San Francisco, CA, USA : Determination press – 2015. – 224 p. – Режим доступа: <http://neuralnetworksanddeeplearning.com>.
159. Niswender, C. M. Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease / C. M. Niswender, P. J. Conn // *Annual review of pharmacology and toxicology*. – 2010. – Vol. 50. – P. 295–322.
160. Niu, A. Q. Prediction of selective estrogen receptor beta agonist using open data and machine learning approach / A. Q. Niu, L. J. Xie, H. Wang, B. Zhu, S. Q. Wang // *Drug design, development and therapy*. – 2016. – Vol. 10. – P. 2323–2331.
161. O'Boyle, N. M. Open Babel: An open chemical toolbox / N. M. O'Boyle, M. Banck, C. A. James, C. Morley, T. Vandermeersch, G. R. Hutchison // *Journal of cheminformatics*. – 2011. – Vol. 3. – P. 33.
162. Ochoa, D. The next-generation Open Targets Platform: reimaged, redesigned, rebuilt / D. Ochoa, A. Hercules, M. Carmona [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2023. – Vol. 51. – P. D1353–D1359.

163. Ohmura, Y. Different roles of distinct serotonergic pathways in anxiety-like behavior, antidepressant-like, and anti-impulsive effects / Y. Ohmura, I. Tsutsui-Kimura, H. Sasamori, M. Nebuka, N. Nishitani, K. F. Tanaka, A. Yamanaka, M. Yoshioka // *Neuropharmacology*. – 2020. – Vol. 167. – P. 107703.
164. Olfson, M. National trends in the mental health care of children, adolescents, and adults by office-based physicians / M. Olfson, C. Blanco, S. Wang, G. Laje, C. U. Correll // *JAMA psychiatry*. – 2014. – Vol. 71. – №. 1. – P. 81–90.
165. Ollmann, T. Effect of D1- and D2-like Dopamine Receptor Antagonists on the Rewarding and Anxiolytic Effects of Neurotensin in the Ventral Pallidum / T. Ollmann, L. Lénárd, L. Péczely, B. Berta, E. Kertes, O. Zagorácz, E. Hormay, K. László, Á. Szabó, R. Gálosi, Z. Karádi, V. Kállai // *Biomedicines*. – 2022. – Vol. 10. – Iss. 9. – P. 2104.
166. Olsen, R. W. GABA A receptors: subtypes provide diversity of function and pharmacology / R. W. Olsen, W. Sieghart // *Neuropharmacology*. – 2009. – Vol. 56. – Iss. 1. – P. 141–148.
167. Park, J. Baroreflex dysfunction and augmented sympathetic nerve responses during mental stress in veterans with post-traumatic stress disorder / J. Park, P. J. Marvar, P. Liao, M. L. Kankam, S. D. Norrholm, R. M. Downey, S. A. McCullough, N. A. Le, B. O. Rothbaum // *The Journal of physiology*. – 2017. – Vol. 595. – Iss. 14. – P. 4893–4908.
168. Park, K. A review of computational drug repurposing / K. Park // *Translational and clinical pharmacology*. – 2019. – Vol. 27. – Iss. 2. – P. 59–63.
169. Peng, W. H. Anxiolytic effect of berberine on exploratory activity of the mouse in two experimental anxiety models: interaction with drugs acting at 5-HT receptors / W. H. Peng, C. R. Wu, C. S. Chen, C. F. Chen, Z. C. Leu, M. T. Hsieh // *Life sciences*. – 2004. – Vol. 75. – Iss. 20. – P. 2451–2462.
170. Pérez, M. A. C. A topological sub-structural approach for predicting human intestinal absorption of drugs / M. A. C. Pérez, M. B. Sanz, L. R. Torres, R. Grau Ávalos, M. P. González, H. G. Díaz // *European journal of medicinal chemistry*. – 2004. – Vol. 39. – Iss. 11. – P. 905-916.

171. Pieper, U. ModBase, a database of annotated comparative protein structure models and associated resources / U. Pieper, B. M. Webb, G. Q. Dong, D. Schneidman-Duhovny, H. Fan, S. J. Kim, N. Khuri, Y. G. Spill, P. Weinkam, M. Hammel, J. A. Tainer, M. Nilges, A. Sali // *Nucleic acids research*. – 2014. – Vol. – P. D336–D346.
172. Pilc, A. GABAergic hypotheses of anxiety and depression: focus on GABA-B receptors / A. Pilc, G. Nowak // *Drugs of today (Barcelona, Spain: 1998)*. – 2005. – Vol. 41. – №. 11. – P. 755-766.
173. Pizzo, R. Elucidation of the neural circuits activated by a GABAB receptor positive modulator: Relevance to anxiety / R. Pizzo, O. F. O'Leary, J. F. Cryan // *Neuropharmacology*. – 2018. – Vol. 136. – P. 129–145.
174. Pourhamzeh, M. The Roles of Serotonin in Neuropsychiatric Disorders / M. Pourhamzeh, F. G. Moravej, M. Arabi, E. Shahriari, S. Mehrabi, R. Ward, R. Ahadi, M. T. Joghataei // *Cellular and molecular neurobiology*. – 2022. – Vol. 42. – Iss. 6. – P. 1671–1692.
175. Proctor, R. C. Chlordiazepoxide in the treatment of anxiety reactions / R. C. Proctor // *North Carolina Medical Journal*. – 1961. – Vol. 22. – P. 224-226.
176. Raab, K. Understanding the impact of 5-HTTLPR, antidepressants, and acute tryptophan depletion on brain activation during facial emotion processing: A review of the imaging literature / K. Raab, P. Kirsch, D. Mier // *Neuroscience and biobehavioral reviews*. – 2016. – Vol. 71. – P. 176–197.
177. Roberds, S. L. Rapid, computer vision-enabled murine screening system identifies neuropharmacological potential of two new mechanisms / S. L. Roberds, I. Filippov, V. Alexandrov, T. Hanania, D. Brunner // *Frontiers in neuroscience*. – 2011. – Vol. 5. – P. 103.
178. Rosenblatt, F. Perceptrons and the theory of brain mechanisms / F. Rosenblatt. – Spartan books Washington, 1962. – 621 p.
179. Sahu, A. Artificial intelligence (AI) in drugs and pharmaceuticals / A. Sahu, J. Mishra, N. Kushwaha // *Combinatorial chemistry & high throughput screening*. – 2022. – Vol. 25. – Iss. 11. – P. 1818-1837.

180. Sakurai, H. Management of unspecified anxiety disorder: Expert consensus / H. Sakurai, K. Inada, Y. Aoki, M. Takeshima, K. Ie, M. Kise, E. Yoshida, T. Tsuboi, H. Yamada, H. Hori, Y. Inada, E. Shimizu, K. Mishima, K. Watanabe, Y. Takaesu // *Neuropsychopharmacology reports*. – 2023. – Vol. 43. – Iss. 2. – P. 188–194.
181. Salem, H. Temporal multi-step predictive modeling of remission in major depressive disorder using early stage treatment data; STAR\*D based machine learning approach / H. Salem, T. Huynh, N. Topolski, B. Mwangi, M. H. Trivedi, J. C. Soares, A. J. Rush, S. Selvaraj // *Journal of affective disorders*. – 2023. – Vol. 324. – P. 286–293.
182. Sali, A. Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints / A. Sali, T. L. Blundell // *Journal of molecular biology*. – 1993. – Vol. 234. – Iss. 3. – P. 779–815.
183. Sallard, E. Electrophysiology of ionotropic GABA receptors / E. Sallard, D. Letourneur, P. Legendre // *Cellular and molecular life sciences*. – 2021. – Vol. 78. – P. 5341–5370.
184. Salles, F. H. Mental disorders, functional impairment, and nerve growth factor / F. H. Salles, P. S. Soares, C. D. Wiener, T. C. Mondin, P. M. da Silva, K. Jansen, L. D. de Mattos Souza, R. A. da Silva, J. P. Oses // *Psychology research and behavior management*. – 2016. – Vol. 10. – P. 9–15.
185. Santabárbara, J. Prevalence of anxiety in the COVID-19 pandemic: An updated meta-analysis of community-based studies / J. Santabárbara, I. Lasheras, D. M. Lipnicki, J. Bueno-Notivol, M. Pérez-Moreno, R. López-Antón, C. De la Cámara, A. Lobo, P. Gracia-García // *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. – 2021. – Vol. 109. – P. 110207.
186. Schreiber, R. Neuronal circuits involved in the anxiolytic effects of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonists 8-OH-DPAT ipsapirone and buspirone in the rat / R. Schreiber, J. De Vry // *European journal of pharmacology*. – 1993. – Vol. 249. – Iss. 3. – P. 341–351.

187. Schütz, W. The pharmacological basis of receptor binding / W. Schütz // Wiener Klinische Wochenschrift. – 1991. – Vol. 103. – №. 15. – P. 438-442.
188. Schwartz, T. L. Memantine as an augmentation therapy for anxiety disorders / T. L. Schwartz, U. A. Siddiqui, S. Raza // Case reports in psychiatry. – 2012. – P. 749796.
189. Seibenhener, M. L. Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice / M. L. Seibenhener, M. C. Wooten // Journal of visualized experiments : JoVE. – 2015. – №. 96. – P. e52434.
190. Serretti, A. A neural network model for combining clinical predictors of antidepressant response in mood disorders / A. Serretti, R. Zanardi, L. Mandelli, E. Smeraldi, C. Colombo // Journal of affective disorders. – 2007. – Vol. 98. – Iss. 3. – P. 239–245.
191. Shah, P. Artificial intelligence and machine learning in clinical development: a translational perspective / P. Shah, F. Kendall, S. Khozin, R. Goosen, J. Hu, J. Laramie, M. Ringel, N. Schork // NPJ Digital Medicine. – 2019. – Vol. 2. – P. 69.
192. Sigel, E. Structure, function, and modulation of GABA(A) receptors / E. Sigel, M. E. Steinmann // The Journal of biological chemistry. – 2012. – Vol. 287. – Iss. 48. – P. 40224–40231.
193. Skripka, M. O. Screening of anxiolytic properties and analysis of structure-activity relationship of new derivatives of 6-(4-methoxy)-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-a][2,3]benzodiazepine under the code RD / M. O. Skripka, A. A. Spasov, D. V. Maltsev, M. V. Miroshnikov, D. S. Yakovlev, K. T. Sultanova, M. A. Kochergin, L. N. Divaeva // Research Results in Pharmacology. – 2021. – Vol. 7. – №. 2. – P. 31–37.
194. Smith, E. G. Antidepressant augmentation using the N-methyl-D-aspartate antagonist memantine: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial / E. G. Smith, K. M. Deligiannidis, C. M. Ulbricht, C. S. Landolin, J. K. Patel, A. J. Rothschild // The Journal of clinical psychiatry. – 2013. – Vol. 74. – Iss. 10. – P. 966–973.

195. Smith, S. M. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress / S. M. Smith, W. W. Vale // *Dialogues in clinical neuroscience*. – 2006. – Vol. 8. – Iss. 4. – P. 383–395.
196. Soulairac, A. Action hypnotique de la mécloqualone. Comparaison avec les effets placebo et le sécobarbital [Hypnotic action of mecloqualone. Comparison with placebo effects and secobarbital] / A. Soulairac // *La Presse medicale*. – 1971. – Vol. 79. – Iss. 18. – P. 817–818.
197. Spasov, A. A. Adamantane derivatives: Pharmacological and toxicological properties (Review) / A. A. Spasov, T. V. Khamidova, L. I. Bugaeva, I. S. Morozov // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2000. – Vol. 34. – № 1. – P. 1-7.
198. Stebbing, J. JAK inhibition reduces SARS-CoV-2 liver infectivity and modulates inflammatory responses to reduce morbidity and mortality / J. Stebbing, G. Sánchez Nievas, M. Falcone [et al.] // *Science advances*. – 2021. – Vol. 7. – № 1. – P. eabe4724.
199. Stein, D. J. Epidemiology of anxiety disorders: from surveys to nosology and back / D. J. Stein, K. M. Scott, P. de Jonge, R. C. Kessler // *Dialogues in clinical neuroscience*. – 2017. – Vol. 19. – Iss. 2. – P. 127–136.
200. Stein, M. B. Neurobiology of generalized anxiety disorder / M. B. Stein // *Journal of Clinical Psychiatry*. – 2009. – Vol. 70. – № 2. – P. 15-19.
201. Stewart, J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods VI: more modifications to the NDDO approximations and re-optimization of parameters / J. J. P. Stewart // *Journal of Molecular Modeling*. – 2013. – Vol. 19. – P. 1–32.
202. Swanson, C. J. Metabotropic glutamate receptors as novel targets for anxiety and stress disorders / C. J. Swanson, M. Bures, M. P. Johnson, A. M. Linden, J. A. Monn, D. D. Schoepp // *Nature reviews. Drug discovery*. – 2005. – Vol. 4. – P. 131–144.
203. Sylvers, P. Differences between trait fear and trait anxiety: implications for psychopathology / P. Sylvers, S. O. Lilienfeld, J. L. LaPrairie // *Clinical psychology review*. – 2011. – Vol. 31. – Iss. 1. – P. 122–137.

204. Sysoev, Y. I. Pharmacological screening of a new alpha-2 adrenergic receptor agonist, mafedine, in zebrafish / Y. I. Sysoev, D. A. Meshalkina, D. V. Petrov, S. V. Okovityi, P. E. Musienko, A. V. Kalueff // *Neuroscience letters*. – 2019. – Vol. 701. – P. 234–239.
205. Takagi, Y. A common brain network among state, trait, and pathological anxiety from whole-brain functional connectivity / Y. Takagi, Y. Sakai, Y. Abe, S. Nishida, B. J. Harrison, I. Martínez-Zalacaín, C. Soriano-Mas, J. Narumoto, S. C. Tanaka // *NeuroImage*. – 2018. – Vol. 172. – P. 506–516.
206. Taylor, J. H. Ketamine for Social Anxiety Disorder: A Randomized, Placebo-Controlled Crossover Trial / J. H. Taylor, A. Landeros-Weisenberger, C. Coughlin, J. Mulqueen, J. A. Johnson, D. Gabriel, M. O. Reed, E. Jakubovski, M. H. Bloch // *Neuropsychopharmacology* : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology. – 2018. – Vol. 43. – Iss. 2. – P. 325–333.
207. Tolstova, A. P. Docking and Molecular Dynamics-Based Identification of Interaction between Various Beta-Amyloid Isoforms and RAGE Receptor / A. P. Tolstova, A. A. Adzhubei, V. A. Mitkevich, I. Y. Petrushanko, A. A. Makarov // *International journal of molecular sciences*. – 2022. – Vol. 23. – Iss. 19. – P. 11816.
208. Tong, Q. D1 receptor-expressing neurons in ventral tegmental area alleviate mouse anxiety-like behaviors via glutamatergic projection to lateral septum / Q. Tong, X. Cui, H. Xu, X. Zhang, S. Hu, F. Huang, L. Xiao // *Molecular psychiatry*. – 2023. – Vol. 28. – Iss. 2. – P. 625–638.
209. Traynelis, S. F. Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function / S. F. Traynelis, L. P. Wollmuth, C. J. McBain, F. S. Menniti, K. M. Vance, K. K. Ogden, K. B. Hansen, H. Yuan, S. J. Myers, R. Dingledine // *Pharmacological reviews*. – 2010. – Vol. 62. – Iss. 3. – P. 405–496.
210. Trott, O. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading / O. Trott, A. J. Olson // *Journal of computational chemistry*. – 2010. – Vol. 31. – Iss. 2. – P. 455–461.

211. UniProt Consortium. UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023 / UniProt Consortium // *Nucleic acids research*. – 2023. – Vol. 51. – P. D523–D531.
212. Valentino, R. J. Convergent regulation of locus coeruleus activity as an adaptive response to stress / R. J. Valentino, E. Van Bockstaele // *European journal of pharmacology*. – 2008. – Vol. 583. – № 2-3. – P. 194–203.
213. Vanhaelen, Q. Design of efficient computational workflows for in silico drug repurposing / Q. Vanhaelen, P. Mamoshina, A. M. Aliper, A. Artemov, K. Lezhnina, I. Ozerov, I. Labat, A. Zhavoronkov // *Drug discovery today*. – 2017. – Vol. 22. – Iss. 2. – P. 210–222.
214. Vasilyev, P. M. Studying Dependences Between the Chemotype Structure of Some Natural Compounds and the Spectrum of Their Targeted Activities Correlated with the Hypoglycemic Effect / P. M. Vasilyev, O. A. Luzina, D. A. Babkov, D. T. Appazova, N. F. Salakhutdinov, A. A. Spasov // *Journal of Structural Chemistry*. – 2019. – Vol. 60. – Iss. 11. – P. 1827-1832.
215. Vassiliev, P. M. Consensus Drug Design Using IT Microcosm / P. M. Vassiliev, A. A. Spasov, V. A. Kosolapov, A. F. Kucheryavenko, N. A. Gurova, V. A. Anisimova // *Application of Computational Techniques in Pharmacy and Medicine* / Eds. L. Gorb, V. Kuz'min, E. Muratov / *Challenges and Advances in Computational Chemistry and Physics* / Ed. J. Leszczynski. – Vol. 17. – Dordrecht (Netherlands): Springer Science + Business Media, 2014. – 550 p. – P. 369-431.
216. Vassiliev, P. M. Consensus Ensemble Multitarget Neural Network Model of Anxiolytic Activity of Chemical Compounds and Its Use for Multitarget Pharmacophore Design / P. M. Vassiliev, D. V. Maltsev, A. A. Spasov, M. A. Perfilev, M. O. Skripka, A. N. Kochetkov // *Pharmaceuticals*. – 2023. – Vol. 16. – Iss. 5. – P. 731.
217. Vatansever, S. Artificial intelligence and machine learning-aided drug discovery in central nervous system diseases: State-of-the-arts and future directions / S. Vatansever, A. Schlessinger, D. Wacker, H. Ü. Kaniskan, J. Jin, M. M. Zhou,

- B. Zhang // *Medicinal research reviews*. – 2021. – Vol. 41. – Iss. 3. – P. 1427–1473.
218. Wang, F. Deep Learning-Enabled MS/MS Spectrum Prediction Facilitates Automated Identification Of Novel Psychoactive Substances / F. Wang, D. Pasin, M. A. Skinnider, J. Liigand, J. N. Kleis, D. Brown, E. Oler, T. Sajed, V. Gautam, S. Harrison, R. Greiner, L. J. Foster, P. W. Dalsgaard, D. S. Wishart // *Analytical chemistry*. – 2023. – Vol. 95. – Iss. 50. – P. 18326–18334.
219. Waterhouse, A. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes / A. Waterhouse, M. Bertoni, S. Bienert, G. Studer, G. Tauriello, R. Gumienny, F. T. Heer, T. A. P. de Beer, C. Rempfer, L. Bordoli, R. Lepore, T. Schwede // *Nucleic acids research*. – 2018. – Vol. 46. – P. W296–W303.
220. Weininger, D. SMILES, a chemical language and information system. 1. Introduction to methodology and encoding rules / D. Weininger // *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. – 1988. – Vol. 28. – Iss. 1. – P. 31–36.
221. Willems, L. M. Adverse event profiles of antiseizure medications and the impact of coadministration on drug tolerability in adults with epilepsy / L. M. Willems, M. van der Goten, F. von Podewils, S. Knake, S. Kovac, J. P. Zöllner, F. Rosenow, A. Strzelczyk // *CNS drugs*. – 2023. – Vol. 37. – №. 6. – P. 531–544.
222. Wittchen, H. U. Size and burden of mental disorders in Europe--a critical review and appraisal of 27 studies / H. U. Wittchen, F. Jacobi // *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*. – 2005. – Vol. 15. – Iss. 4. – P. 357–376.
223. Wolber, G. LigandScout: 3-D pharmacophores derived from protein-bound ligands and their use as virtual screening filters / G. Wolber, T. Langer // *Journal of chemical information and modeling*. – 2005. – Vol. 45. – Iss. 1. – P. 160–169.
224. World Health Organization. World mental health report: Transforming mental health for all / World Health Organization. – Geneva: World Health Organization, 2022. – 296 p.

225. Xie, H. B. Molecular dynamics investigation of Cl(-) transport through the closed and open states of the  $2\alpha 12\beta 2\gamma 2$  GABA(A) receptor / H. B. Xie, J. Wang, Y. Sha, M. S. Cheng // *Biophysical chemistry*. – 2013. – Vol. 180. – P. 1–9.
226. Xin, J. Identification of functional divergence sites in dopamine receptors of vertebrates / J. Xin, T. Fan, P. Guo, J. Wang // *Computational biology and chemistry*. – 2019. – Vol. 83. – P. 107140.
227. Yamashita, P. S. M. Serotonin actions within the prelimbic cortex induce anxiolysis mediated by serotonin 1a receptors / P. S. M. Yamashita, D. S. Rosa, C. A. Lowry, H. Zangrossi, Jr // *Journal of psychopharmacology*. – 2019. – Vol. 33. – Iss. 1. – P. 3-11.
228. Yang, Z. AlphaFold2 and its applications in the fields of biology and medicine / Z. Yang, X. Zeng, Y. Zhao, R. Chen // *Signal transduction and targeted therapy*. – 2023. – Vol. 8. – №. 1. – P. 115.
229. Yella, J. K. Changing Trends in Computational Drug Repositioning / J. K. Yella, S. Yaddanapudi, Y. Wang, A. G. Jegga // *Pharmaceuticals*. – 2018. – Vol. 11. – Iss. 2. – P. 57.
230. Yu, W. Computer-Aided Drug Design Methods / W. Yu, A. D. MacKerell // *Methods in molecular biology*. – 2017. – Vol. 1520. – P. 85–106.
231. Zarate, C. A. A double-blind, placebo-controlled study of memantine in the treatment of major depression / C. A. Zarate, J. B. Singh, J. A. Quiroz, G. De Jesus, K. K. Denicoff, D. A. Luckenbaugh, H. K. Manji, D. S. Charney // *The American journal of psychiatry*. – 2006. – Vol. 163. – Iss. 1. – P. 153–155.
232. Zarate, C. A. Ketamine for depression: evidence, challenges and promise / C. A. Zarate, M. J. Niciu // *World psychiatry : official journal of the World Psychiatric Association (WPA)*. – 2015. – Vol. 14. – Iss. 3. – P. 348–350.
233. Zdrzil, B. The ChEMBL Database in 2023: a drug discovery platform spanning multiple bioactivity data types and time periods / B. Zdrzil, E. Felix, F. Hunter [et al.] // *Nucleic acids research*. – 2024. – Vol. 52. – P. D1180–D1192.

234. Zhang, L. From machine learning to deep learning: progress in machine intelligence for rational drug discovery / L. Zhang, J. Tan, D. Han, H. Zhu // *Drug discovery today*. – 2017. – Vol. 22. – Iss. 11. – P. 1680–1685.
235. Zhavoronkov, A. Will Artificial Intelligence for Drug Discovery Impact Clinical Pharmacology? / A. Zhavoronkov, Q. Vanhaelen, T. I. Oprea // *Clinical pharmacology and therapeutics*. – 2020. – Vol. 107. – Iss. 4. – P. 780–785.
236. Zhou, N. Identification of PLK1-PBD Inhibitors from the Library of Marine Natural Products: 3D QSAR Pharmacophore, ADMET, Scaffold Hopping, Molecular Docking, and Molecular Dynamics Study / N. Zhou, C. Zheng, H. Tan, L. Luo // *Marine drugs*. – 2024. – Vol. 22. – Iss. 2. – P. 83.
237. Zhou, T. Quantum mechanical methods for drug design / T. Zhou, D. Huang, A. Caflisch // *Current topics in medicinal chemistry*. – 2010. – Vol. 10. – Iss. 1. – P. 33–45.
238. Zhou, Y. Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain / Y. Zhou, N. C. Danbolt // *Journal of neural transmission*. – 2014. – Vol. 121. – P. 799–817.
239. Żmudzka, E. Serotonin receptors in depression and anxiety: Insights from animal studies / E. Żmudzka, K. Sałaciak, J. Sapa, K. Pytka // *Life sciences*. – 2018. – Vol. 210. – P. 106–124.
240. Zweifel, L. S. Activation of dopamine neurons is critical for aversive conditioning and prevention of generalized anxiety / L. S. Zweifel, J. P. Fadok, E. Argilli, M. G. Garelick, G. L. Jones, T. M. Dickerson, J. M. Allen, S. J. Mizumori, A. Bonci, R. D. Palmiter // *Nature neuroscience*. – 2011. – Vol. 14. – Iss. 5. – P. 620–626.