

П. М. Васильев^{1,2}, А. А. Спасов^{1,2}, А. Н. Кочетков², М. А. Перфильев¹,
А. Р. Королева¹, А. В. Голубева¹, Д. О. Мартынова¹, Д. А. Бабков^{1,2}, Р. А. Литвинов^{1,2}

Волгоградский государственный медицинский университет,

¹ кафедра фармакологии и биоинформатики;

² Научный центр инновационных лекарственных средств

КОНСЕНСУСНАЯ ОЦЕНКА *IN SILICO* ОБЩЕЙ БЕЗОПАСНОСТИ МУЛЬТИТАРГЕТНЫХ RAGE-ИНГИБИТОРОВ

УДК 615.015.11:544.165:577.29:615.065:615.015.42/.44.: [616.379-008.64+616.894-053.8]

На основе нейросетевой модели с использованием докинга среди 87 соединений разных химических классов найдено 10 веществ с возможной высокой RAGE-ингибирующей активностью. Для этих соединений с применением систем Microcosm ADMET, IT Microcosm, PASS, QikProp и on-line ресурсов admetSAR, ProTox, pkCSM, ADMET-PreServ, SwissADME, GUSAR, GEB выполнена консенсусная оценка *in silico* 12 токсикологических ADMET-характеристик, рассчитаны интегральные оценки общей безопасности и найдены вещества с низким уровнем токсикологических показателей.

Ключевые слова: мультитаргетные RAGE-ингибиторы, консенсусный прогноз, *in silico*, ADMET, интегральная оценка общей безопасности, сахарный диабет, болезнь Альцгеймера.

P. M. Vassiliev, A. A. Spasov, A. N. Kochetkov, M. A. Perfiliev,
A. R. Koroleva, A. V. Golubeva, D. O. Martynova, D. A. Babkov, R. A. Litvinov

THE CONSENSUS ESTIMATION *IN SILICO* OF GENERAL SAFETY OF MULTI-TARGET RAGE INHIBITORS

Based on a neural network model using docking, among 87 compounds of different chemical classes, 10 substances with possible high RAGE inhibitory activity were found. For these compounds, using Microcosm ADMET, IT Microcosm, PASS, QikProp and on-line resources admetSAR, ProTox, pkCSM, ADMET-PreServ, SwissADME, GUSAR, GEB, a consensus assessment of 12 toxicological ADMET characteristics was performed, consensus integral estimations of general safety were calculated and substances with a low level of toxicological indicators were found.

Key words: multi-target RAGE inhibitors, consensus prediction, *in silico*, ADMET, integral estimation of general safety, diabetes mellitus, Alzheimer's disease.

В настоящее время доказана определяющая роль рецепторов конечных продуктов гликирования (RAGE) и связанных с ними сигнальных путей в развитии осложнений сахарного диабета и ускорении болезни Альцгеймера [5, 8, 14]. Мультитаргетные ингибиторы RAGE, активные в отношении нескольких биомитеней сигнального пути RAGE–NF-κB, могут рассматриваться как весьма перспективные лекарственные вещества для лечения данных патологий.

Общепризнано, что лекарственные соединения не могут обладать сколько-нибудь выраженными токсическими свойствами. Таким образом, одной из актуальных задач при направленном поиске новых лекарственных препаратов для лечения осложнений при сахарном диабете и болезни Альцгеймера является оценка *in silico* токсикологических характеристик высоко активных RAGE-ингибиторов.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Консенсусный прогноз *in silico* спектра токсикологических ADMET-характеристик и расчет на их основе интегральных оценок общей безопасности соединений с возможной высокой мультитаргетной RAGE-ингибирующей активностью.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Десять веществ с ожидаемой высокой мультитаргетной RAGE-ингибирующей активностью были найдены с помощью ранее построенных классификационных моделей с применением докинга и технологии искусственных нейронных сетей среди 87 структурно разнообразных соединений десяти различных химических классов [9]. В результате предварительно проведенных исследований *in silico* было установлено, что указанные десять соединений яв-

ляются малотоксичными [1] и не обладают канцерогенностью [2].

Для этих 10 соединений был выполнен консенсусный прогноз следующих токсикологических свойств: острой токсичности (с уточнением оценок, ранее полученных в [1]), канцерогенности (с уточнением оценок, полученных в [2]), мутагенности, генотоксичности, гепатотоксичности, цитотоксичности, иммунотоксичности, кардиотоксичности, нефротоксичности, нейротоксичности, гематотоксичности и способности проникать через ГЭБ (влиять на ЦНС).

Прогноз указанных 12 токсикологических ADMET-характеристик для данных 10 соединений проводили с использованием четырех компьютерных систем Microcosm ADMET [1, 7], IT Microcosm [2, 7], PASS [3], QikProp [12] и семи on-line ресурсов admetSAR [4], ProTox [11], pkCSM [10], ADMET-PreServ [16], SwissADME [15], GUSAR [13], GEB [6].

Для каждого прогнозируемого соединения по каждой токсикологической ADMET-характеристике по каждому вычисляемому в используемой программе параметру этой характеристики, в соответствии с рассчитанным значением этого параметра, устанавливался индекс отсутствия/наличия данного токсического свойства: 0 – отсутствует; 1 – присутствует. Если в конкретной программе для данного токсического свойства рассчитывалось несколько параметров, то вычисляли консенсусный индекс отсутствия/наличия указанного токсического свойства, как среднее арифметическое единичных индексов отсутствия/наличия этого токсического свойства.

Ниже для каждой из 12 токсикологических ADMET-характеристик приведены программы, с помощью которых выполнялся прогноз, параметры, вычисляемые в каждой программе, а также граничные значения для индексирования расчетных величин каждого из ADMET-параметров.

1. Острая токсичность (класс токсичности LD₅₀ перорально для крыс).

2. Microcosm ADMET: «ATC»: "4, 5, 6" – 0; "1, 2, 3" – 1.

3. admetSAR: «Acute Oral Toxicity (c)»: "IV, V, VI" – 0; "I, II, III" – 1.

4. ProTox: «Predicted Toxicity Class»: "4, 5, 6" – 0; "1, 2, 3" – 1.

5. pkCSM: «Oral Rat Acute Toxicity (LD₅₀, mmol/kg)»: "LD₅₀·MW > 300" – 0; "LD₅₀·MW ≤ 300" – 1.

6. GUSAR: «Rat Oral LD₅₀ Classification»: "Class 4, 5, 6" – 0; "Class 1, 2, 3" – 1.

7. Канцерогенность.

8. IT Microcosm: «И»: "N" – 0; "A" – 1.

9. PASS: «Carcinogenic»: "P_a < P_i" – 0; "P_a ≥ P_i" – 1.

10. admetSAR: «Carcinogenicity (binary)»: "-" – 0; "+" – 1.

11. ProTox: «Carcinogenicity»: "Inactive" – 0; "Active" – 1.

12. Мутагенность.

13. PASS: «Mutagenic»: "P_a < P_i" – 0; "P_a ≥ P_i" – 1.

14. admetSAR: «Ames mutagenesis»: "-" – 0; "+" – 1.

15. ProTox: «Mutagenicity»: "Inactive" – 0; "Active" – 1.

16. pkCSM: «AMES toxicity»: "No" – 0; "Yes" – 1.

17. Генотоксичность.

18. PASS: «DNA damaging»: "P_a < P_i" – 0; "P_a ≥ P_i" – 1.

19. admetSAR: «micronuclear»: "-" – 0; "+" – 1.

20. Гепатотоксичность.

21. PASS: «Hepatotoxic»: "P_a < P_i" – 0; "P_a ≥ P_i" – 1.

22. admetSAR: «Hepatotoxicity»: "-" – 0; "+" – 1.

23. ProTox: «Hepatotoxicity»: "Inactive" – 0; "Active" – 1.

24. pkCSM: «Hepatotoxicity»: "No" – 0; "Yes" – 1.

25. Цитотоксичность.

26. PASS: «Cytotoxic»: "P_a < P_i" – 0; "P_a ≥ P_i" – 1.

27. ProTox: «Cytotoxicity»: "Inactive" – 0; "Active" – 1.

28. Иммунотоксичность.

29. PASS: «Immunotoxin»: "P_a < P_i" – 0; "P_a ≥ P_i" – 1.

30. ProTox: «Immunotoxicity»: "Inactive" – 0; "Active" – 1.

31. Кардиотоксичность.

32. PASS: «Cardiotoxic»: "P_a < P_i" – 0; "P_a ≥ P_i" – 1.

33. admetSAR: «Human either-a-go-go inhibition»: "-" – 0; "+" – 1.

34. pkCSM: «hERG I inhibitor»: "No" – 0; "Yes" – 1.

35. pkCSM: «hERG II inhibitor»: "No" – 0; "Yes" – 1.

36. ADMET-PreServ: «hERG affinity (pK_i)»: "pK_i < 6, > 50 %" – 0; "pK_i ≥ 6, ≤ 50 %" – 0.

37. ADMET-PreServ: «hERG affinity (pIC₅₀)»: "pIC₅₀ < 5, > 50 %" – 0; "pIC₅₀ ≥ 5, ≤ 50 %" – 0.

38. QikProp: «HERG K⁺ Channel Blockage: log IC₅₀»: "log IC₅₀ > -5" – 0; "log IC₅₀ ≤ -5" – 1.

39. Нефротоксичность.

40. PASS: «Nephrotoxic»: " $P_a < P_i$ " – 0; " $P_a \geq P_i$ " – 1.

41. Нейротоксичность.

42. PASS: «Neurotoxic»: " $P_a < P_i$ " – 0; " $P_a \geq P_i$ " – 1.

43. Гематотоксичность.

44. PASS: «Hematotoxic»: " $P_a < P_i$ " – 0; " $P_a \geq P_i$ " – 1.

45. Проникновение через ГЭБ, влияние на ЦНС.

46. admetSAR: «Blood Brain Barrier»: "-" – 0; "+" – 1.

47. pkCSM: «BBB permeability (log BB)»: " $\log BB < 0$ " – 0; " $\log BB \geq 0$ " – 1.

48. pkCSM: «CNS permeability (log PS)»: " $\log PS < 0$ " – 0; " $\log PS \geq 0$ " – 1.

49. SwissADME: «BBB permiant»: "No" – 0; "Yes" – 1.

50. ADMET-PreServ: «Blood-brain barrier permeability (LogBB)»: " $\log BB < 0$ " – 0; " $\log BB \geq 0$ " – 1.

51. GEB: «LogBB»: " $\log BB < 0$ " – 0; " $\log BB \geq 0$ " – 1.

52. QikProp: «log BB for brain/blood»: " $\log BB < 0$ " – 0; " $\log BB \geq 0$ " – 1.

53. QikProp: «Predicted CNS Activity (– – to ++): "–, –" – 0; "+/–, +, ++" – 1.

Консенсусная интегральная оценка общей безопасности каждого соединения рассчитывалась как среднее арифметическое консенсусных прогнозных индексных оценок 12 токсикологических ADMET-характеристик данного соединения, полученных с помощью 11 вышеуказанных компьютерных программ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Десять веществ с ожидаемым выраженным мультитаргетным RAGE-ингибирующим действием были найдены с помощью нейросетевых моделей [9] при прогнозе уровней активности 87 новых соединений 10 различных химических классов.

В соответствии с результатами ранее выполненных исследований [1, 2], активные соединения, структуры которых представлены на рисунке, предположительно являются малотоксичными и не обладают канцерогенными свойствами.

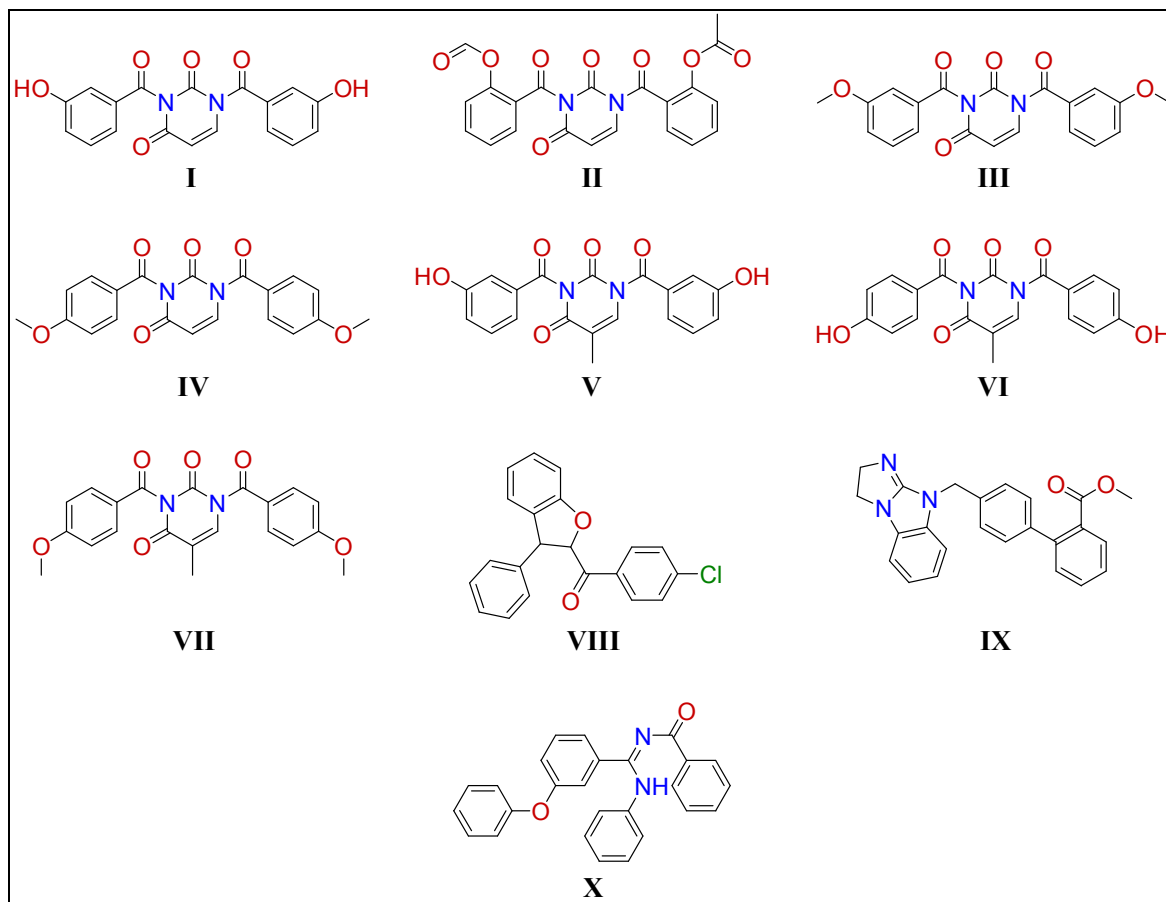


Рис. Структурные формулы веществ с RAGE-ингибирующей активностью

В таблице приведены значения консенсусных индексов отсутствия/наличия 12 различных видов ADMET-токсикологических свойств и консенсусные интегральные оценки общей безопасности Int соединений (I–X), полученные по данным прогноза с помощью 11 программных средств: Microcosm ADMET [1, 7], IT Microcosm [2, 7], PASS [3], QikProp [12], admetSAR [4], Pro-

Tox [11], pkCSM [10], ADMET-PreServ [16], SwissADME [15], GUSAR [13], GEB [6].

Шесть соединений (I–IV, VII, IX) имеют достаточно низкие значения интегрального показателя общей безопасности $Int \leq 0,25$ (первая квартиль), что позволяет рассматривать их как весьма перспективные для дальнейшего углубленного изучения.

Консенсусные интегральные оценки общей безопасности высокоактивных RAGE-ингибиторов

Вещество	Консенсусные индексы ADMET-токсикологических показателей												
	Acute	Carcino	Mutagen	Geno	Hepato	Cyto	Immuno	Cardio	Nephro	Neuro	Hemato	BBBP	Int
I	0,20	0,00	0,00	0,50	0,50	0,00	0,50	0,20	0,00	0,00	0,00	0,17	0,17
II	0,00	0,00	0,00	0,50	0,50	0,00	0,50	0,40	0,00	0,00	0,00	0,17	0,17
III	0,00	0,00	0,00	0,50	0,50	0,00	0,50	0,30	0,00	0,00	0,00	0,33	0,18
IV	0,00	0,00	0,00	0,50	0,50	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	0,17	0,11
V	0,00	0,00	0,00	0,50	0,75	0,50	0,50	0,20	1,00	0,00	1,00	0,33	0,40
VI	0,00	0,00	0,00	0,50	0,75	0,50	0,50	0,20	1,00	0,00	1,00	0,17	0,38
VII	0,00	0,00	0,25	0,50	0,50	0,00	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	0,17	0,13
VIII	0,00	0,50	0,50	0,50	0,75	0,00	0,50	0,70	1,00	1,00	1,00	0,92	0,61
IX	0,00	0,00	0,25	0,50	0,25	0,00	0,50	0,70	0,00	0,00	0,00	0,67	0,24
X	0,00	0,25	0,50	0,50	0,75	0,00	0,50	0,70	0,00	0,00	0,00	0,50	0,31
I–IV, VII, IX	0,03	0,00	0,08	0,50	0,46	0,00	0,33	0,33	0,00	0,00	0,00	0,28	0,17
V, VI, X	0,00	0,08	0,17	0,50	0,75	0,33	0,50	0,37	0,67	0,00	0,67	0,33	0,36

Примечание.

Acute	– острая токсичность перорально	Immuno	– иммунотоксичность
Carcino	– канцерогенность	Cardio	– кардиотоксичность
Mutagen	– мутагенность	Nephro	– нефротоксичность
Geno	– генотоксичность	Neuro	– нейротоксичность
Hepato	– гепатотоксичность	Hemato	– гематотоксичность
Cyto	– цитотоксичность	BBBP	– проникновение через ГЭБ
Int	– консенсусный интегральный индекс общей безопасности		

Три соединения (V, VI, X) характеризуются умеренными значениями $0,25 < Int \leq 0,50$ (вторая квартиль) и также могут быть рекомендованы для последующего детального исследования, с акцентом на некоторые ожидаемые для этих веществ побочные эффекты. Это возможная гепатотоксичность, нефротоксичность и гематотоксичность, которые, вероятно, будут проявляться только при введении указанных соединений в больших дозах, поскольку для них прогнозные значения $LD_{50} > 1000$ мг/кг перорально и все они относятся к классу IV малотоксичных веществ [1].

Соединение VIII отличается высокой величиной $Int = 0,61$ и по совокупности токсикологических характеристик не может считаться «хорошим» лекарственным кандидатом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- Для десяти высокоактивных мультитаргетных RAGE-ингибиторов с помощью

одиннадцати компьютерных программ проведен консенсусный прогноз *in silico* двенадцати ADMET-токсикологических характеристик.

- По совокупности этих двенадцати прогнозных токсикологических показателей вычислены консенсусные интегральные оценки общей безопасности десяти указанных соединений.
- По значениям интегральных оценок общей безопасности отобраны девять соединений, рекомендованных для дальнейшего экспериментального исследования, с целью создания на их основе принципиально новых лекарственных веществ для лечения патий при сахарном диабете и болезни Альцгеймера.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 18-015-00499).

ЛИТЕРАТУРА

1. Консенсусная оценка *in silico* острой токсичности мультитаргетных RAGE-ингибиторов [Текст] / П. М. Васильев [и др.] // Вестник ВолгГМУ. – 2020. – № 1 (73). – С. 31–33.
2. Консенсусный прогноз *in silico* канцерогенной опасности мультитаргетных RAGE-ингибиторов [Текст] / П. М. Васильев [и др.] // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2020. – № 1. – С. 55–57.
3. Прогноз спектра биологической активности органических соединений [Текст] / Д. А. Филимонов [и др.] // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева). – 2006. – Т. 50. – № 2. – С. 66–75.
4. AdmetSAR: a comprehensive source and free tool for evaluating chemical ADMET properties [Text] / F. Cheng [et al.] // J. Chem. Inf. Model. – 2012. – Vol. 52, Iss. 11. – P. 3099–3105.
5. Common neurodegenerative pathways in obesity, diabetes, and Alzheimer's disease [Text] / S. Pugazhenthii [et al.] // Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis. – 2017. – Vol. 1863. – Iss. 5. – P. 1037–1045.
6. Computer modeling of blood brain barrier permeability for physiologically active compounds [Text] / O. A. Raevsky [et al.] // Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry. – 2013. – Vol. 7. – № 2. – P. 95–107.
7. Consensus Drug Design Using IT Microcosm [Text] / P. M. Vassiliev [et al.] // 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. – P. 369–431.
8. Mechanisms of disease: advanced glycation end-products and their receptor in inflammation and diabetes complications [Text] / S. F. Yan [et al.] // Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab. – 2008. – Vol. 4. – Iss. 5. – P. 285–293.
9. Neural network modeling of multitarget RAGE inhibitory activity [Text] / P. M. Vassiliev [et al.] // Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry. – 2019. – Vol. 13, №. 3. – P. 256–263.
10. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic properties using graph-based signatures [Text] / D. E. V. Pires [et al.] // J. Med. Chem. – 2015. – Vol. 58, Iss. 9. – P. 4066–4072.
11. ProTox: a web server for the *in silico* prediction of rodent oral toxicity [Text] / M. N. Drwal [et al.] // Nucleic Acids Res. – 2014. – Iss. 42. – P. 53–58.
12. QikProp 3.5: User Manual [Text] // Schrodinger Press. – New York (USA): Schrodinger Press, 2012. – 42 p.
13. QSAR modelling of rat acute toxicity on the basis of PASS prediction [Text] / A. Lagunin [и др.] // Mol. Informatics. – 2011. – Vol. 30, Iss. 2–3. – P. 241–250.
14. Receptor for AGEs (RAGE) as mediator of NF- κ B pathway activation in neuroinflammation and oxidative stress [Text] / J. C. Tobon-Velasco [et al.] // CNS Neurol. Disord. Drug Targets. – 2014. – Vol. 13. – Iss. 9. – P. 1615–1626.
15. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules [Text] / A. Daina [et al.] // Sci. Rep. – 2017. Iss. 7. – Art. 42717.
16. System for prediction of pharmacokinetic properties and toxicity of drug compounds [Text] / E. V. Radchenko [et al.] // XX Mendeleev Congress on general and applied chemistry. – 2016. – Vol. 4. – P. 424.