

Д. А. Филимонов<sup>1</sup>, А. А. Лагунин<sup>1</sup>, Т. А. Глориозова<sup>1</sup>, А. В. Рудик<sup>1</sup>,  
Д. С. Дружиловский<sup>1</sup>, П. В. Погодин<sup>1,2</sup>, В. В. Поройков<sup>1,2\*</sup>

## ПРЕДСКАЗАНИЕ СПЕКТРОВ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ ВЕБ-РЕСУРСА PASS ONLINE

Представлен свободно доступный веб-ресурс PASS Online для прогноза спектров биологической активности органических соединений по их структурным формулам, обеспечивающий предсказание более 4 тысяч видов биологической активности со средней точностью свыше 95% (<http://www.way2drug.com/passonline>). Прогноз осуществляется на основе анализа связей структура–активность в обучающей выборке, содержащей информацию о структуре и биологической активности более 300 тысяч органических соединений. Описаны возможности и ограничения используемого подхода, приведены рекомендации по интерпретации результатов прогноза. Приведены примеры практического использования веб-ресурса PASS Online с целью установления приоритетов химического синтеза и биологического тестирования веществ на основе результатов прогноза. Рассмотрены перспективы применения PASS Online в качестве Интернет-платформы для реализации академическими исследователями совместных проектов, направленных на поиск и создание новых фармакологически активных веществ.

**Ключевые слова:** PASS Online, биологическая активность, веб-ресурс, компьютерное прогнозирование, органические соединения, фармакологически активные вещества.

Создание новых высокоэффективных и более безопасных лекарственных средств основано на использовании существующих в настоящее время материальных и информационных ресурсов. Свыше 60 миллионов органических соединений синтезированы и доступны сегодня в виде образцов для тестирования биологической активности [1]. Библиотека сгенерированных *in silico* молекул, состоящих из 17 или меньшего числа неводородных атомов, содержит 166.4 миллиардов структурных формул [2], что обеспечивает практически неисчерпаемые возможности для разработки методов синтеза новых фармакологически активных веществ. Изучаемых молекулярных мишеней лекарств – около 2 тысяч [3], а с учётом посттрансляционных модификаций, альтернативного сплайсинга, белок-белковых взаимодействий и наличия различных сайтов связывания лиганд–белок число потенциальных фармакологических мишеней превосходит 2 миллиона. Комбинаторика лиганд-белковых взаимодействий многократно возрастает при переходе от парадигмы "одно лекарство – одна мишень" к концепции плейотропных препаратов [4]. Поиск новых перспективных фармакологически активных веществ является мультикритериальной задачей, поскольку, наряду с наличием целевой специфической активности, необходимо обеспечить минимум побочных и токсических эффектов и приемлемые фармакокинетические характеристики потенциального препарата [5]. Экспериментальное тестирование десятков миллионов органических соединений на тысячи видов биологической активности практически не осуществимо, что обуславливает необходимость использования компьютерных методов для поиска и оптимизации новых

фармакологически активных веществ [6]. Применяемые в настоящее время в создании лекарств компьютерные подходы подразделяют на дизайн, основанный на структуре мишени (Structure-Based Drug Design), и дизайн, основанный на структуре лигандов (Ligand-Based Drug Design) [7].

Несмотря на достигнутые успехи в применении методов, основанных на структуре мишени, в создании новых препаратов их использование ограничено: 1) необходимостью наличия информации о пространственной структуре макромолекулы-мишени, которая доступна далеко не для всех белков, представляющих интерес в качестве фармакологических мишеней; 2) динамикой изменения пространственной структуры белков в ходе функционирования, и, в частности, при образовании белок-белковых и белок-лигандных комплексов; 3) сложностями определения биологически активной конформации для конформационно-гибких лигандов; 4) неоднозначностью выбора оценочной функции энергии связывания (*scoring function*). Поэтому до настоящего времени для оценки профилей (спектров) биологической активности, характеризующих комплексное действие органических соединений на биологические объекты, значительно чаще используют методы, основанные на структуре лигандов. В отличие от классических подходов к анализу количественных соотношений структура–активность (Quantitative Structure–Activity Relationships, QSAR) [8], когда модели QSAR строят и применяют для прогноза по отношению к соединениям, принадлежащим к одному химическому классу, оценка спектров биологической активности осуществляется на основе анализа взаимосвязей структура–активность для гетерогенных выборок с применением классификационных методов. При этом на основе экспертных оценок к "активным" (по конкретным видам биологической активности) соединениям обучающей выборки относят соединения, тестирование которых выполнено в различных (но эквивалентных, по мнению экспертов) условиях эксперимента.

Десятки примеров разработки и применения моделей (Q)SAR к гетерогенным выборкам веществ приведены в книге Р. Франке [9]. Упомянутые в данной книге работы, однако, не ставили своей целью комплексную оценку профилей биологической активности и были ориентированы преимущественно на надмолекулярный уровень видов биологической активности (антибактериальная, противогрибковая, антималярийная, цитостатическая, спазмолитическая, антигипертензивная, анальгетическая и др.), что отражает преобладающие в тот период методики экспериментального тестирования биологической активности.

Первые попытки разработки методов компьютерного прогнозирования различных видов биологической активности на основе структуры веществ, принадлежащих к различным химическим классам, с целью оценки профилей биологической активности были предприняты В. В. Авидоном с сотр. [10] в 70-е гг. XX в. на основе анализа сходства [11, 12] и подструктурного подхода [13]. С использованием информационного массива, содержащего 7200 биологически активных соединений, были исследованы возможности прогнозирования биологической активности на основе анализа сходства [14]. Такой подход соответствует традиционной логике химиков и фармакологов, поскольку он основан на главной гипотезе анализа взаимосвязей структура–активность: "Сходные структуры проявляют сходное действие". При этом само сходство оценивалось по близости структур двух соединений в пространстве дескрипторов ФКСП (фрагментарный код суперпозиции подструк-

тур). Как отмечено в цитируемой работе, прогнозирование биологической активности на основе анализа сходства позволяет "приписывать" найденным соединениям виды биологической активности, установленные для "эталонных" структур, но отличающиеся от "канонического списка", включающего 58 видов активности [14]. С целью экономии времени расчёта в рамках данного исследования был отобран подмассив 711 "эталонных" структур из 7200 соединений исходного массива. При анализе контрольной выборки, содержащей 500 химических соединений, было показано, что из 158 ошибок первого рода (отнесение активных соединений к неактивным), допущенных при подструктурном анализе, были правильно распознаны на основе анализа сходства 55 случаев (при использовании в качестве эталонов всех 7200 структур исходного массива) и 21 случай (для подмассива эталонов). Авторы пришли к выводу о целесообразности применения комплексного подхода, объединяющего результаты прогноза активных соединений по методу подструктурного анализа и методу анализа сходства, что особенно важно в случае веществ из новых химических классов, если среди эталонов имеется хотя бы один их аналог [14].

В это же время для классификации химических соединений по проявляемым ими видам биологической активности В. Е. Голендер и А. Б. Розенблит предложили логико-структурный подход, основанный на принципах теории распознавания образов [15–18]. Частично работы В. Е. Голендера и А. Б. Розенблита осуществлялись в сотрудничестве с В. В. Авидоном [19, 20]. В. Е. Голендер и А. Б. Розенблит впервые реализовали автоматическое кодирование структур химических соединений дескрипторами ФКСП [10, 11, 21]. Логико-структурный подход реализован в пакете компьютерных программ ОРАКУЛ, с использованием которого был проведён ряд экспериментов на основе банка данных по биологически активным соединениям, содержащим 5964 химических соединения с информацией о 55 видах биологической активности [19]. Было показано, что точность распознавания активных соединений составила 91% при скользящем контроле с исключением по одному и 80% для независимой контрольной выборки [17]. Следует отметить, что, хотя авторами справедливо отмечались недостатки языка ФКСП и предлагались альтернативные варианты дескрипторных языков [17, 20], в разработанной ими позднее экспертной системе OREX (Optimized Recognizing Expert System) также было использовано дескрипторное описание структуры, аналогичное языку ФКСП [22].

Работы В. В. Авидона, А. Б. Розенблита и В. Е. Голендера с сотр. заложили основы для широкомасштабного компьютерного прогнозирования различных видов биологической активности и отбора для экспериментального тестирования наиболее перспективных веществ среди химических соединений, поступавших на государственную регистрацию в СССР [23–25]. В конце 80-х гг. XX в. в рамках системы государственной регистрации новых химических соединений была начата работа над созданием новой компьютерной программы для прогноза спектров биологической активности органических соединений, которая впоследствии получила название PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) [26]. В ходе её создания были исследованы различные способы описания химической структуры и методы построения зависимостей структура–активность [27–33]. В работах [32, 33] приведены детальное описание алгоритма программы PASS, валидации разработанного подхода в различных компьютерных экспериментах, а также примеры

практического применения программы PASS с целью поиска новых фармакологически активных веществ. Поскольку усовершенствование программы PASS проводится постоянно, ниже мы кратко рассмотрим текущее состояние работ и приведём рекомендации по практическому использованию результатов прогноза. Более подробное описание методики PASS приведено в Приложении 1 (Сопроводительные материалы к статье).

### **КОМПЬЮТЕРНЫЙ ПРОГНОЗ СПЕКТРА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОГРАММЫ PASS**

Компьютерная программа PASS [32–34] позволяет по структурной формуле "лекарственноподобного" органического соединения (молекулярная масса которого находится в интервале 50÷1250 а. е. м.) оценить вероятный профиль его биологической активности. Оценка основана на анализе взаимосвязей структура–активность для обширной обучающей выборки, включающей в себя: субстанции лекарственных препаратов; "кандидаты в препараты", находящиеся на различных стадиях клинических и доклинических исследований; фармакологические вещества и биохимические реагенты (chemical probes); вещества, для которых имеется информация о специфической токсичности.

В программе PASS биологическая активность представлена качественным образом (активно/неактивно). Химическая структура описана в виде дескрипторов множественных атомных окрестностей (Multilevel Neighborhoods of Atoms, MNA) [35]. Алгоритм построения моделей взаимосвязи структура–активность на основе веществ обучающей выборки и прогнозирования активности для новых (не включённых в обучающую выборку) веществ основан на Байесовских оценках [32, 33].

Средняя точность прогноза, рассчитанная по скользящему контролю с исключением по одному для всех веществ обучающей выборки и всех представленных для этих веществ в обучающей выборке видов биологической активности, составляет около 95%. При процедуре скользящего контроля с исключением по одному из обучающей выборки поочередно удаляется информация о структуре и известных видах активности для каждого соединения и в дальнейшем для него производится прогноз на основе оставшейся части обучающей выборки. Процедура повторяется итеративно для всех веществ обучающей выборки, и подсчитывается доля правильно "оценённых" видов биологической активности.

Поскольку обучающая выборка, в принципе, не может содержать полной информации о биологической активности включённых в неё соединений (ни одно из химических соединений не исследовано на все возможные виды биологической активности), мы провели специальное исследование [36] с целью оценки влияния неполноты информации в обучающей выборке на качество прогноза. Исследование было проведено на основе выборки, содержащей около 19000 веществ из базы данных MDDR (так называемых principal compounds, для которых в базе данных были приведены экспериментальные данные о биологической активности). 120 различных видов активности было представлено в этой выборке не менее чем 100 соединениями. В ходе компьютерных экспериментов всю выборку 50 раз случайным образом делили на две примерно равные подвыборки, одна из которых

использовалась в качестве обучающей, а другая – в качестве тестовой и наоборот (всего, таким образом, выполнялось по 100 экспериментов). Чтобы смоделировать неполноту информации, из обучающей выборки случайным образом исключали 20, 40, 60 и 80% информации о структуре или биологической активности. В ходе обучения рассчитывали средние значения ошибки прогноза. Было показано, что исключение до 60% информации позволяет получать разумные оценки биологической активности для веществ тестовой выборки, то есть алгоритм программы PASS обладает статистической устойчивостью (robustness) по отношению к неполноте данных в обучающей выборке.

На основе компьютерного прогноза среди соединений из разных химических классов найдены новые фармакологические вещества, обладающие противоязвенной [37], антиоксидантной [38], антиметастатической [39], ноотропной [40], противовоспалительной [41] и другими видами биологической активности (см. ниже). Продемонстрирована применимость программы PASS к выявлению антигипертензивных [42] и противовоспалительных [43] веществ с мультитаргетным действием, установлению новых видов биологической активности у разрешённых к медицинскому применению лекарств [44, 45] и оценке механизмов побочного и токсического действия лекарственных препаратов [46, 47].

В качестве входной информации в программе PASS используется информация о структурной формуле молекулы, представленная в виде файла в формате Molfile (Accelrys, Inc., <http://accelrys.com>) (для одной структуры), либо в виде файла в формате SDfile (Accelrys, Inc., <http://accelrys.com>) – для выборки структур [48].

В качестве выходной информации пользователь получает список прогнозируемых видов активности с оценками вероятности наличия каждого вида активности  $P_a$  и вероятности отсутствия каждого вида активности  $P_i$ , которые могут принимать значения в диапазоне от нуля до единицы. Вероятности  $P_a$  и  $P_i$  являются также оценками вероятностей ошибок первого и второго рода соответственно. Их можно рассматривать и как меры принадлежности прогнозируемого соединения к нечётким классам "активных" и "неактивных" веществ (рис. 1). Все эти интерпретации вероятностей  $P_a$  и  $P_i$  являются эквивалентными и полезными для анализа результатов прогноза. На их основе можно сконструировать самые разные критерии анализа результатов прогноза, соответствующие решению конкретных практических задач.

Чем больше для конкретной активности значение  $P_a$  и чем меньше значение  $P_i$ , тем больше шанс обнаружить данную активность в эксперименте. В дальнейшем мы будем рассматривать ситуации, когда значение  $P_a$  достаточно высоко и значительно превосходит значение  $P_i$ . Если при анализе спрогнозированного спектра активностей для исследования выбираются те виды активности, для которых  $P_a > 90\%$ , то мы рискуем пропустить около 90% действительно активных соединений, но вероятность ложноположительных прогнозов при этом ничтожно мала; для  $P_a > 80\%$  – пропустим уже только 80% активных соединений, но и вероятность ложноположительных прогнозов будет выше, наконец, для  $P_a = P_i$  вероятности ошибок первого и второго рода равны. Этот порог используется по умолчанию для отсекаания вероятных видов активности при прогнозе (рис. 1).

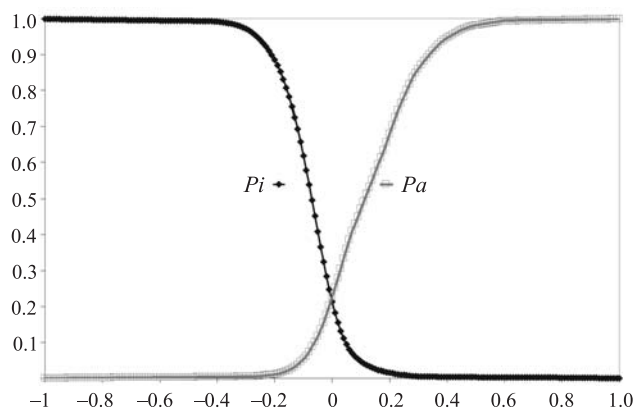


Рис. 1. Оценки значений  $P_a$  и  $P_i$  (по оси ординат) для активности "противоопухолевое" как функций первичной Байесовской оценки ( $B$ -статистики [32, 33], по оси абсцисс)

Следует помнить, что вероятность  $P_a$  отражает прежде всего сходство структуры молекул данного вещества со структурами молекул наиболее типичных в соответствующем подмножестве "активных" веществ в обучающей выборке. Поэтому никакой прямой корреляции значений  $P_a$  с количественными характеристиками активности, как правило, нет. Действительно активное, но имеющее нетипичную для обучающей выборки структуру молекулы, вещество может иметь в прогнозе низкое значение  $P_a$ , быть может, даже  $P_a < P_i$ . Это очевидно из способа построения функций  $P_a(B)$  и  $P_i(B)$ : значения величин  $P_a$  для активных и  $P_i$  для неактивных веществ из обучающей выборки распределены строго равномерно.

Другой важный аспект интерпретации результатов прогноза связан с новизной анализируемого соединения. Если ограничиться только видами активности, прогнозируемыми с наиболее высокими значениями  $P_a$ , то отобранные на основе прогноза вещества могут оказаться аналогами известных фармакологически активных веществ. Например, при  $P_a > 0.7$  шансы обнаружить активность в эксперименте довольно высоки, но найденные вещества могут оказаться близкими структурными аналогами известных лекарств. Если выбрать в качестве критерия  $0.5 < P_a < 0.7$ , шансы обнаружения активности в эксперименте будут ниже, но соединения будут в меньшей степени похожи на известные фармакологические вещества. Для  $P_i < P_a < 0.5$  шансы обнаружения активности в эксперименте ещё ниже, но если прогноз подтвердится, найденное соединение может оказаться родоначальником нового химического класса для рассматриваемого вида биологической активности.

Если спрогнозированный спектр активности обширен, то структура молекулы данного вещества довольно проста и не содержит каких-либо особенностей, обеспечивающих высокую селективность его биологического действия.

В некоторых случаях для соединения одновременно прогнозируются две взаимоисключающие активности, например агонист и антагонист конкретного рецептора и т. п. (agonist & antagonist, stimulator & blocker, activator & inhibitor). В этом случае прогноз программы PASS не позволяет дифференцировать возможные "внутренние" активности соединения и лишь указывает на вероятное наличие аффинности по отношению к определённому рецептору (ферменту, транспортеру и т. д.).

Программа PASS не позволяет оценить влияние стереоизомерии на проявление биологической активности, поскольку для многих видов активности в настоящее время невозможно создать репрезентативную обучающую выборку, учитывающую особенности пространственной структуры включенных в неё веществ.

Естественно, что при анализе прогнозируемых программой PASS спектров биологической активности необходимо учитывать реальные возможности экспериментального тестирования. При этом общей рекомендацией является последовательное исследование различных прогнозируемых видов биологической активности от наиболее вероятных к менее вероятным.

Необходимо подчеркнуть, что программа PASS не может предсказать, станет ли конкретное вещество лекарственным препаратом, поскольку это зависит от ряда различных факторов. Предсказание, однако, может помочь определить, на какие виды биологической активности следует протестировать анализируемое соединение в первую очередь и какие вещества с наибольшей вероятностью могут проявить требуемые виды активности.

### ВЕБ-РЕСУРС PASS ONLINE

С 2000 г. функционирует бесплатно доступный веб-ресурс по прогнозированию спектров биологической активности PASS Online [49–53]. Компьютерное прогнозирование биологической активности может быть выполнено как для реальных, так и для виртуальных (ещё не синтезированных) структур, что позволяет отсеивать малоперспективные вещества на самых ранних этапах исследования.

Пользователь PASS Online может выполнить прогноз, либо выбирая структурную формулу интересующего его органического соединения, представленную в виде файла в формате Molfile (Accelrys, Inc., <http://accelrys.com>) [48] или кодов SMILES [54], либо непосредственно вводя структурную формулу в веб-браузере, используя *Marvin applet* [55]. По умолчанию в списке прогнозируемых видов активности содержатся названия фармакологических эффектов и механизмов действия, для которых расчётные значения вероятности наличия активности превышают значения вероятности отсутствия активности ( $P_a > P_i$ ). В зависимости от специфики решаемой задачи пользователь может ограничить данный список только теми видами активности, для которых  $P_a > 0.3$  либо  $P_a > 0.7$ .

В случае необходимости пользователь может также получить результат прогноза побочного действия препарата. При интерпретации результатов прогноза необходимо учитывать, что основные фармакологические эффекты и механизмы действия отражают результат взаимодействия органического соединения с биологическим объектом (тест-система либо организм пациента), наблюдающийся в 100% (или в подавляющем большинстве) случаев, в то время как оценка побочного действия нередко основана на клинических наблюдениях, относящихся к небольшому числу или даже единичным пациентам, принимавшим конкретный лекарственный препарат. В связи с этим оценки основных фармакологических эффектов и побочного действия органического соединения не равнозначны.

PASS Online обеспечивает прогноз свыше 4000 видов биологической активности со средней точностью 95%, которая гораздо выше, чем у других

веб-ресурсов, также позволяющих получать оценки профилей биологической активности на основе структурной формулы органического соединения (в частности ChemSpider [56], SuperPred [57] и DRAR-CPI [58]) [59].

В настоящее время число зарегистрированных пользователей составляет свыше 10000 человек из 90 стран мира; прогнозы получены более чем для 300 тысяч молекул. Статистика использования PASS Online в 2013 г. приведена на рис. 2.

Всего в 2013 г. с использованием веб-ресурса PASS Online было получено 49727 прогнозов. Лидирующие позиции по количеству полученных прогнозов занимает Индия (18379 прогнозов), на втором месте – Россия (13947), далее следуют Украина (4332), Мексика (2880), Польша (1333), Китай (1124 прогнозов) и т. д. PASS Online в 2013 г. также использовался исследователями из промышленно-развитых стран: Канада (303 прогноза), США (284), Австрия (91), Великобритания (76), Япония (70), Италия (61), Франция (54 прогноза) и т. д. Существенно меньшее число соединений, направляемых на прогноз пользователями из промышленно-развитых стран, можно объяснить гораздо более строгими требованиями к конфиденциальности информации о структуре синтезируемых молекул.



Рис. 2. Статистика использования веб-ресурса PASS Online пользователями из различных стран в 2013 г. (число полученных прогнозов)



В конце 2013 г. мы провели выборочный опрос пользователей PASS Online, в результате которого выяснилось, что основными целями использования компьютерного прогноза спектров биологической активности являются: планирование биологического тестирования (124 ответа), планирование химического синтеза (86), выявление новых видов активности у известных соединений (83), оценка безопасности и рисков использования в практике химических веществ (35 ответов).

Независимыми (от авторов программы PASS) исследователями опубликовано свыше 150 статей, в которых приведены результаты прогноза биологической активности изучаемых ими соединений. Более чем в половине публикаций (82 из 152 работ) результаты прогноза подтверждены при биологическом тестировании, в остальных работах они использованы для обоснования перспективности синтеза конкретных веществ. Обзор работ, опубликованных до 2008 г., был представлен в публикации [52]. Рассмотрим некоторые типичные примеры использования программы PASS, опубликованные в последние годы (перечень найденных нами публикаций, в которых использованы результаты прогноза биологической активности, полученные с использованием PASS, приведён в Приложении 2, (Сопроводительные материалы к статье)). Необходимо отметить, что рассматриваемые примеры были получены при использовании различных версий программы PASS, поскольку мы постоянно проводим работу по пополнению и улучшению качества обучающей выборки и развитию методов анализа взаимосвязей структура–активность.

#### **ПРИМЕРЫ ПРАКТИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРОГНОЗОВ СПЕКТРОВ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОГРАММЫ PASS**

**Скрининг библиотеки синтетических веществ.** На основе виртуального скрининга библиотеки из 2648 синтезированных соединений было отобрано 32 молекулы, для которых программа PASS прогнозировала ингибирование ксантиноксидазы (Xanthine oxidase inhibitors) с вероятностью  $Pa > 0.3$  [60]. Для 21 из этих молекул также прогнозировалась возможность применения для лечения подагры (Gout Treatment). Важно подчеркнуть, что целью работы [60] было получение нового класса ингибиторов ксантиноксидазы на основе оригинального скаффолда, что позволило бы избежать побочных эффектов, проявляемых препаратами, имеющимися в настоящее время на рынке. Это объясняет сравнительно низкие оценки вероятности наличия данной активности  $Pa$ , полученные в результате прогноза. В дополнение к прогнозу PASS был проведён докинг отобранных молекул к пространственной структуре комплекса ксантиноксидазы с пираксостатом (код PDB структуры 1VDV), что позволило получить оценки аффинности связывания лигандов с мишенью. В работе [60] приведены результаты экспресс-тестирования *in vitro* для 24 из 32 отобранных веществ: только три вещества ингибировали ксантиноксидазу при концентрации 100 мкМ (соединения **1–3**, рис. 3). Степень ингибирования ксантиноксидазы для наиболее активной структуры (соединение **3**) составила 98.3%.

В ходе дальнейших исследований были определены значения  $IC_{50}$  для соединений **1–3**: 9.4, 30.2 и 1.4 мкМ соответственно. По показателю  $IC_{50}$  соединение **3** является более активным, чем препарат сравнения аллопуринол

(5.7 мкМ). В работе [60] приведены также результаты исследований снижения уровня мочевой кислоты при введении соединений **1** и **2** на модели гиперурикемии крыс, вызванной внутрибрюшинным введением оксоната калия. Показано, что при введении внутрибрюшинно соединений **1** и **2** снижение уровня мочевой кислоты составило 84% (соединение **1** в дозе 100 мг/кг) и 57% (соединение **2** в дозе 50 мг/кг). Это существенно хуже, чем соответствующие показатели для аллопуринола (184% при дозе 10 мг/кг *per os*).

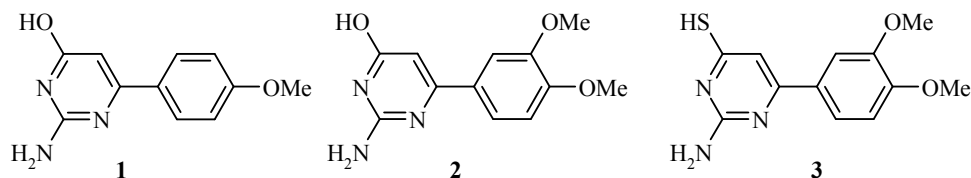


Рис. 3. Выявленные на основе виртуального скрининга библиотеки из 2648 синтезированных соединений ингибиторы ксантиноксидазы. Прогноз PASS для Xanthine oxidase inhibitors:  $P_a = 0.314, 0.307$  и  $0.427$  для соединений **1–3** соответственно

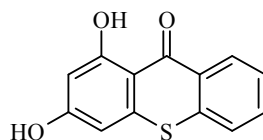
Авторы данной работы отмечают, что использование программы PASS позволяет быстро идентифицировать выборку потенциально активных веществ, при этом можно использовать информацию не только о прогнозе требуемого действия, но также и других видов активности, токсичности, метаболизма и т. п. Вместе с тем, по мнению авторов работы [60], применение докинга даёт более надёжные результаты. Это заключение выглядит несколько странным, поскольку для 21 неактивного соединения, протестированного в экспресс-тестах, и для 7 специально синтезированных аналогов соединения **1** (табл. 1 и 2 соответственно в работе [60]), согласно данным докинга, получены хорошие оценки энергии связывания (scoring function), однако значения  $IC_{50}$  для них превышают 100 мкМ. В целом, использование результатов прогноза PASS и докинга позволило отобрать для экспериментального тестирования и протестировать 24 из 2648 соединений (3 из 24 соединений с оригинальным скаффолдом оказались активными), что привело к снижению на два порядка финансовых затрат на исследования.

#### Определение приоритетов биологического тестирования *in vitro*.

Целью работы [61] была разработка эффективных методов синтеза природных соединений и их производных (ксантонов и тиоксантонов) и изучение их биологической активности в экспериментах *in vitro* и на основе расчётных оценок *in silico*. При тестировании *in vitro* было показано, что 16 синтезированных соединений не обладают выраженной антимикробной активностью в отношении бактерий *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *M. catarrhalis*, *H. influenzae*, *E. Coli*, а также цитотоксичностью в отношении клеточных линий HepG2 (гепатоциты) и Jurkat (Т-лимфоциты). Для определения наиболее вероятных видов биологической активности был выполнен прогноз с использованием программы PASS. Пример прогноза для одного из соединений приведён в табл. 1.

Авторы отмечают, что ни для одного из 16 анализируемых соединений не прогнозируется антибактериальное или цитотоксическое действие, что соответствует отрицательным результатам тестирования *in vitro*. Среди наиболее вероятных видов активности, прогнозируемых для всех 16 соединений, Chlordecone reductase inhibitor, UDP-glucuronosyltransferase inhibitor, Membrane integrity agonist, Membrane permeability inhibitor, и др. К сожалению, авторы не провели экспериментальную проверку наиболее вероятных прогнозируемых видов активности.

**Прогнозируемый спектр активности  
для 1,3-дигидрокситиоксантен-9-она ( $P_a > 0.5$ )**



**Прогнозируемые фармакологические эффекты**

Активность	$P_a$	$P_i$
Antineurotoxic	0.859	0.005
Insulin and insulin analogs	0.781	0.004
Fibrinolytics	0.776	0.009
Anthelmintic (Nematodes)	0.629	0.009
Postmenopausal disorders treatment	0.625	0.003
Antidote, cyanide	0.541	0.008
Keratolytic	0.536	0.005
Anthelmintic	0.512	0.005

**Прогнозируемые механизмы действия**

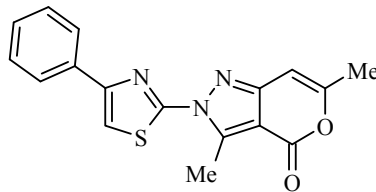
Активность	$P_a$	$P_i$
Thioredoxin inhibitor	0.705	0.009
Phosphatidylinositol 3-kinase gamma inhibitor	0.553	0.005
Quercetin 2,3-dioxygenase inhibitor	0.543	0.005
Thioredoxin disulfide reductase inhibitor	0.541	0.007
FMO3 substrate	0.540	0.008
CF transmembrane conductance regulator inhibitor	0.539	0.005
Sulfotransferase substrate	0.505	0.004
Estrogen beta receptor agonist	0.501	0.001
SULT1A3 substrate	0.500	0.004

**Определение приоритетов биологического тестирования *in vivo*.**

Целью работы [62] были дизайн, синтез, компьютерная оценка и экспериментальное тестирование биологической активности производных пирано-пиразола. Прогноз спектров биологической активности, полученный с помощью компьютерной программы PASS, показал, что для большинства синтезированных соединений прогнозируется анальгетическое и противовоспалительное действие. Пример прогноза для одного из синтезированных веществ приведён в табл. 2.

Анальгетическая и противовоспалительная активность синтезированных соединений были протестированы на соответствующих экспериментальных моделях (мышь, болевой эффект вызван введением уксусной кислоты внутрибрюшинно, воспалительный эффект – введением в лапку карагенина). Препаратом сравнения был диклофенак. В результате экспериментального тестирования показано, что некоторые из синтезированных соединений проявляют анальгетический и противовоспалительный эффекты на уровне или выше препарата сравнения. Поскольку одним из возможных прогнозируемых PASS механизмов действия было ингибирование циклооксигеназы, авторы работы [62] провели докинг изучаемых соединений в активный сайт циклооксигеназы II (ЦОГ-2, код структуры в PDB (Protein DataBase) 1CX2) и оценили энергии связывания. В результате данного анализа авторы пришли к выводу, что выраженность ингибиторных свойств изучаемых производных по

Прогнозируемый спектр активности  
для 3,6-диметил-2-(4-фенил-1,3-тиазол-2-ил)-  
пирано[4,3-с]пиразол-4(2H)-она



Активность	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>
Analgesic, non-opioid	0.702	0.011
5-Hydroxytryptamine release inhibitor	0.681	0.005
Antineoplastic (Ovarian cancer)	0.677	0.025
Analgesic	0.621	0.022
Antiarthritic	0.606	0.021
Cognition disorders treatment	0.597	0.020
Anti-inflammatory	0.592	0.039
Antiviral (Arbovirus)	0.613	0.067
Complement factor D inhibitor	0.572	0.050
Immunomodulator	0.532	0.033
Immunosuppressant	0.454	0.044
Cyclooxygenase inhibitor	0.400	0.004
HCV IRES inhibitor	0.431	0.050

отношению к ЦОГ-2 убывает в зависимости от природы заместителя в ряду: фенотиазолил > бензотиазолил > хинолинил > пиримидинил > OMe > Br > Me > H. Необходимо, однако, отметить, что эти расчётные оценки требуют экспериментальной проверки.

**Оценка мультитаргетного действия на основе прогноза и профилирования *in vitro*.** В работе [63] проведен дизайн, синтез и оценка биологической активности ряда тетрагидроиндоло[2,3-с]хинолонов – аналогов известного ноотропного препарата амбокарб. До настоящего времени молекулярные механизмы ноотропного действия амбокарба не известны. В данной работе предпринята попытка деконволюции (расщепления) структурной формулы данного препарата на различные фрагменты, определяющие принадлежность соединения к конкретным химическим классам, с последующим прогнозом спектров биологической активности для каждого из фрагментов (рис. 4).

На основе результатов прогноза определены потенциальные молекулярные мишени и осуществлено тестирование *in vitro* взаимодействия амбокарба с этими мишенями. Тестирование осуществлялось на панели из 227 фармакологических мишеней фирмы Cerep, связанных с воздействием препарата на центральную нервную систему [64], и на панели из 442 киназ KINOMEscan® [65]. Было показано, что и сам амбокарб, и его отдельные фрагменты обладают сложными различающимися друг от друга профилями взаимодействия с молекулярными мишенями. Далее с учётом результатов проведённого анализа был осуществлён дизайн и синтез новых производных тетрагидроиндоло[2,3-с]хинолонов. Тестирование этих производных *in vivo* в Нацио-

нальном институте неврологических заболеваний и параличей США показало, что тетрагидроиндоло[2,3-с]хинолоны обладают широким спектром нейропротективного, ноотропного, антипсихотического, антиконвульсантного и анальгетического действия, проявление которого зависит от структуры конкретного соединения и от дозы.

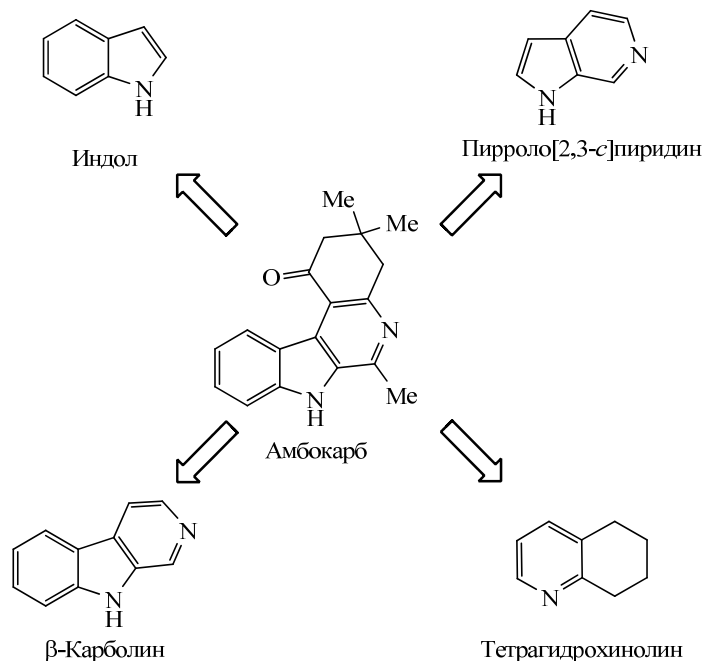


Рис. 4. Деконволюция амбокарба на различные фрагменты

К сожалению, в работе [63] не приведены детали использования компьютерного прогноза спектров биологической активности для дизайна новых производных с мультитаргетным действием, но сам по себе подход, основанный на виртуальной деконволюции структур с последующим синтезом *in silico*, представляется весьма многообещающим (это было проиллюстрировано и в наших недавних исследованиях [66]).

**Оценка спектра биологической активности природных соединений.** Среди различных применений компьютерного прогноза биологической активности особое место занимает предсказание фармакологических свойств для фитокомпонентов из различных растительных источников [67]. Это связано с существенно более высоким структурным разнообразием природных соединений по сравнению с синтетическими. В качестве примера приведём работу [68], в которой с использованием компьютерной программы PASS оценены профили биологической активности для редких стероидных производных, выделенных из морской водоросли *Axinella carteri*. Для 6 из 8 проанализированных соединений с вероятностью  $Pa > 0.7$  прогнозируется такое действие, как Nerve growth factor agonist. Авторы [68] не осуществили непосредственную экспериментальную проверку результатов прогноза PASS, однако в качестве косвенного свидетельства правильности прогноза привели литературные данные о наличии такой активности у молекул-аналогов. Сделан вывод о перспективности дальнейших исследований стероидных производных из морской водоросли *Axinella carteri* в качестве потенциальных препаратов для лечения нейродегенеративных заболеваний.

Кроме того, для некоторых изучаемых производных с вероятностью  $P_a > 0.7$  прогнозируются такие эффекты, как Female anti-infertility, Urologic disorders treatment, Anti-osteoporotic, Anti-psoriatic, Anti-pruritic. В данном случае также не была проведена экспериментальная проверка результатов прогноза, что представляется необходимым для окончательного заключения о наличии активности.

Мы представили текущее состояние работ по развитию и применению свободно доступного веб-ресурса PASS Online. Опубликовано уже свыше ста пятидесяти работ, в которых использовались результаты прогноза спектра биологической активности, полученного с помощью PASS Online (Приложение 2). Более чем в половине этих работ результаты компьютерных предсказаний подтверждены либо путем непосредственного экспериментального тестирования *in vitro* или *in vivo*, либо на основе найденных в опубликованной литературе данных. К сожалению, авторы некоторых из приведённых в Приложении 2 работ делают выводы о наличии определённой активности у синтезированных ими соединений только по результатам компьютерного прогноза, что неправомерно.

Как показал недавно проведённый нами опрос пользователей PASS Online, подавляющее большинство их составляют исследователи из академических институтов и университетов. Важная роль академических исследований в поиске и создании новых лекарственных средств хорошо известна [68–70]. Поскольку академические исследователи обладают большей свободой в выборе предмета исследования, нередко именно здесь зарождаются новые идеи, которые могут трансформироваться далее в прикладные проекты, направленные на создание более безопасных и эффективных лекарств. Однако опыт показывает, что "узким местом" для многих исследователей является крайне ограниченные возможности экспериментального тестирования прогнозируемых видов активности.

Вместе с тем, решение проблемы может быть найдено путём объединения усилий химиков-органиков, специалистов в области молекулярной и клеточной биологии, фармакологов, токсикологов и других ученых, исследования которых в определённой степени связаны с поиском и разработкой новых лекарств, с использованием возможностей Интернета [71]. Такого рода интерактивная многопользовательская система компьютерной поддержки научных исследований с использованием Интернета для организации сетевых научных исследований в области анализа взаимосвязей "молекулярная структура – биологическая активность" может быть реализована на базе веб-ресурса PASS Online [53]. Для этого необходимо создать совместно совершенствуемую базу знаний и использующую её компьютерную систему прогноза спектров биологической активности органических соединений, что потребует решить задачи организации и разграничения рабочего пространства пользователей, внедрения системы обмена информацией, контроля уникальности и адекватности вводимой информации, распределения ролей внутри групп пользователей. Эти задачи могут быть решены путём создания программного комплекса, построенного с помощью современных средств разработки и обеспечивающего клиент-серверное взаимодействие. Работа в этом направлении уже начата и при условии активного участия пользователей PASS Online данный веб-ресурс будет последовательно эволюционировать в указанном направлении.

Файл сопроводительной информации доступен на сайте <http://hgs.osi.lv> и содержит приложение 1 "Теоретические основы анализа взаимосвязей структура–активность и прогнозирования активности новых соединений с помощью компьютерной программы PASS" и приложение 2 "Обзор публикаций, в которых использованы результаты прогнозирования спектров биологической активности с помощью PASS Online".

*Настоящая работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант 12-07-00597-а).*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. <http://www.chemnavigator.com/cnc/products/iRL.asp>
2. L. Ruddigkeit, L. C. Blum, J.-L. Reymond, *J. Chem. Inf. Model.*, **53**, 56 (2013).
3. Thomson Reuters Integrity<sup>SM</sup>. <http://integrity.thomson-pharma.com>
4. A. L. Hopkins, *Nat. Chem. Biol.*, **4**, 682, (2008).
5. R. Morphy, Z. Rankovic, *J. Med. Chem.*, **49**, 4961 (2006).
6. I. M. Karpetanovic, *Chem.-Biol. Interact.*, **171**, 165 (2008).
7. *The Practice of Medicinal Chemistry*, K. G. Wermuth (Ed.), Third Edition, Academic Press, 2008.
8. C. Hansch, *Acc. Chem. Res.*, **26**, 147 (1993).
9. R. Franke, *Theoretical Drug Design Methods*, Akademie-Verlag, Berlin, 1984, p. 382.
10. В. В. Авидон, *Хим.-фарм. журн.*, **8**, 22 (1974).
11. В. В. Авидон, В. С. Аролович, *Научно-техническая информация*, сер. 2, № 5, 26 (1975).
12. В. В. Авидон, В. С. Аролович, В. Г. Блинова, С. П. Козлова, А. М. Фрейдина, *Хим.-фарм. журн.*, **17**, 321 (1983).
13. В. В. Авидон, В. С. Аролович, С. П. Козлова, Л. А. Пирузян, *Хим.-фарм. журн.*, **12**, № 5, 88 (1978).
14. В. В. Авидон, В. С. Аролович, С. П. Козлова, Л. А. Пирузян, *Хим.-фарм. журн.*, **12**, № 6, 99 (1978).
15. В. Е. Голендер, А. Б. Розенблит, *Автоматика и телемеханика*, **11**, 99 (1974).
16. В. Е. Голендер, А. Б. Розенблит, *Вычислительные методы конструирования лекарств*, Зинатне, Рига, 1978.
17. В. Е. Голендер, А. Б. Розенблит, *Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева*, **25**, № 1, 28 (1980).
18. А. Б. Розенблит, В. Е. Голендер, *Логико-комбинаторные методы в конструировании лекарств*, Зинатне, Рига, 1984.
19. Л. А. Пирузян, В. В. Авидон, А. Б. Розенблит, В. С. Аролович, В. Е. Голендер, С. П. Козлова, Е. М. Михайловский, Е. Г. Гавришук, *Хим.-фарм. журн.*, **11**, 35 (1977).
20. V. V. Avidon, I. A. Pomerantsev, V. E. Golender, A. B. Rozenblit, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **22**, 207 (1982).
21. В. В. Авидон, Л. А. Лексина, *Научно-техническая информация*, сер. 2, № 3, 22 (1975).
22. N. Veretennikova, A. Skorova, V. Kudryashova, A. Rozenblit, A. Barkans, Ya. Betinsh, V. Drboglav, L. Gitlina, Ya. Grinfelds, P. Mellis, D. Petersone, V. Shatokhin, in *Quantitative Structure-Activity Relationships in Environmental Sciences*, F. Chen, G. Schüürmann (Eds.), SETAC, Pensacola, 1997, p. 115.
23. Г. М. Баренбойм, Л. А. Пирузян, А. Г. Маленков, *Вестн. АН СССР*, № 2, 50 (1977).
24. Л. А. Пирузян, А. Г. Маленков, Г. М. Баренбойм, *Химические аспекты деятельности человечества и охрана природы (препринт)*, ОИХФ АН СССР, Черно-голова, 1979.
25. Г. М. Баренбойм, А. Г. Маленков, *Биологически активные вещества. Новые принципы поиска*, Наука, Москва, 1986.

26. Ю. В. Буров, Л. В. Корольченко, В. В. Пороиков, *Бюлл. Всесоюз. научн. центра по безопасности биологически активных веществ*, № 1, 4 (1990).
27. В. В. Пороиков, Д. А. Филимонов, А. П. Будунова, *Научно-техническая информация*, сер. 2, № 6, 11 (1993).
28. Д. А. Филимонов, В. В. Пороиков, Е. И. Караичева, Р. К. Казарян, А. П. Будунова, Е. М. Михайловский, А. В. Рудницких, Л. В. Гончаренко, Ю. В. Буров, *Экспериментальная и клиническая фармакология*, **58**, № 2, 56 (1995).
29. D. A. Filimonov, V. V. Poroikov, in *Bioactive Compound Design: Possibilities for Industrial Use*, M. G. Ford, R. Greenwood, G. T. Brooks, R. Franke (Eds.), BIOS Scientific Publishers, Oxford, 1996, p. 47.
30. Т. А. Глориезова, Д. А. Филимонов, А. А. Лагунин, В. В. Пороиков, *Хим.-фарм. журн.*, **32**, № 12, 33 (1998).
31. A. V. Stepanchikova, A. A. Lagunin, D. A. Filimonov, V. V. Poroikov, *Curr. Med. Chem.*, **10**, 225 (2003).
32. Д. А. Филимонов, В. В. Пороиков, *Рос. хим. журн.*, **1**, № 2, 66 (2006).
33. D. A. Filimonov, V. V. Poroikov, in *Cheminformatics Approaches to Virtual Screening*, A. Varnek, A. Tropsha (Eds.), RSC Publishing, Cambridge, 2008, p. 182.
34. Д. А. Филимонов, В. В. Пороиков, Т. А. Глориезова, А. А. Лагунин, *Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ PASS № 2006613275 от 15 сентября 2006 г.*, Федеральная служба по интеллектуальной собственности, патентам и товарным знакам, Москва.
35. D. Filimonov, V. Poroikov, Yu. Borodina, T. Glorizova, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **39**, 666 (1999).
36. V. V. Poroikov, D. A. Filimonov, Yu. V. Borodina, A. A. Lagunin, A. Kos, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **40**, 1349 (2000).
37. В. А. Трапков, А. П. Будунова, О. А. Бурова, Д. А. Филимонов, В. В. Пороиков, *Вопросы мед. химии*, **43**, 39 (1997).
38. A. Geronikaki, V. Poroikov, D. Hadjipavlou-Litina, D. Filimonov, A. Lagunin, R. Mgonzo, *Quant. Struct.-Act. Relat.*, **18**, 16 (1999).
39. V. V. Poroikov, D. A. Filimonov, W.-D. Ihlenfeldt, T. A. Glorizova, A. A. Lagunin, Yu. V. Borodina, A. V. Stepanchikova, M. C. Nicklaus, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **43**, 228 (2003).
40. A. Geronikaki, J. Dearden, D. Filimonov, I. Galaeva, T. Garibova, T. Glorizova, V. Krajneva, A. Lagunin, F. Macaev, G. Molodavkin, V. Poroikov, S. Pogrebnoi, F. Shepeli, T. Voronina, M. Tsitlakidou, L. Vlad, *J. Med. Chem.*, **47**, 2870 (2004).
41. A. Geronikaki, S. Vasilevsky, D. Hadjipablou-Litina, A. Lagunin, V. Poroikov, *XTC*, 769 (2006). [*Chem. Heterocycl. Compd.*, **42**, 675 (2006).]
42. A. A. Lagunin, O. A. Gomazkov, D. A. Filimonov, T. A. Gureeva, E. A. Dilakyan, E. V. Kugaevskaya, Yu. E. Elisseeva, N. I. Solovyeva, V. V. Poroikov, *J. Med. Chem.*, **46**, 3326 (2003).
43. A. A. Geronikaki, A. A. Lagunin, D. I. Hadjipavlou-Litina, P. T. Elefteriou, D. A. Filimonov, V. V. Poroikov, I. Alam, A. K. Saxena, *J. Med. Chem.*, **51**, 1601 (2008).
44. V. Poroikov, D. Akimov, E. Shabelnikova, D. Filimonov, *SAR QSAR Environ. Res.*, **12**, 327 (2001).
45. С. А. Крыжановский, Р. М. Салимов, А. А. Лагунин, Д. А. Филимонов, Т. А. Глориезова, В. В. Пороиков, *Хим.-фарм. журн.*, **45**, № 10, 25 (2011).
46. V. Poroikov, D. Filimonov, A. Lagunin, T. Glorizova, A. Zakharov, *SAR QSAR Environ. Res.*, **18**, 101 (2007).
47. S. M. Ivanov, A. A. Lagunin, A. V. Zakharov, D. A. Filimonov, V. V. Poroikov, *Biochemistry (Moscow) Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, **7**, 40 (2013).
48. A. Dalby, J. G. Nourse, W. D. Hounshell, A. K. I. Gushurst, D. L. Grier, B. A. Leland, J. Laufer, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **32**, 244 (1992).
49. A. Lagunin, A. Stepanchikova, D. Filimonov, V. Poroikov, *Bioinformatics*, **16**, 747 (2000).



50. А. В. Садым, А. А. Лагунин, Д. А. Филимонов, В. В. Пороиков, *Хим.-фарм. журн.*, **36**, № 10, 21 (2002).
51. A. Sadym, A. Lagunin, D. Filimonov, V. Poroikov, *SAR QSAR Environ. Res.*, **14**, 339 (2003).
52. A. Geronikaki, D. Druzhilovsky, A. Zakharov, V. Poroikov, *SAR QSAR Environ. Res.*, **19**, 27 (2008).
53. *PASS Online*, <http://www.way2drug.com/passonline>
54. D. Weininger, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **28**, 31 (1988).
55. <http://www.chemaxon.com>
56. <http://www.chemspider.com/>
57. <http://bioinformatics.charite.de/superpred/>
58. <http://cpi.bio-x.cn/drar/>
59. D. Filimonov, A. Lagunin, A. Rudik, D. Druzhilovsky, S. Ivanov, P. Pogodin, V. Poroikov, in *Abstracts of the 19th European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships*, Vienna, Austria, August 26–30, 2012, p. 60.
60. C. B-Rao, A. Kulkarni-Almeida, K. V. Katkar, S. Khanna, U. Ghosh, A. Keche, P. Shah, A. Srivastava, V. Korde, K. V. S. Nemmani, N. J. Deshmukh, A. Dixit, M. K. Brahma, U. Bahirat, L. Doshi, R. Sharma, H. Sivaramakrishnan, *Bioorg. Med. Chem.*, **20**, 2930 (2012).
61. D. Verbanac, S. C. Jain, N. Jain, M. Chand, H. Čipčić Paljetak, M. Matijašić, M. Perić, V. Stepanić, L. Saso, *Bioorg. Med. Chem.*, **20**, 3180 (2012).
62. A. Kumar, P. Lohan, D. K. Aneja, G. K. Gupta, D. Kaushik, O. Prakash, *Eur. J. Med. Chem.*, **50**, 81 (2012).
63. I. Scherbakova, *XFC*, 6 (2013). [*Chem. Heterocycl. Compd.*, **49**, 2 (2013).]
64. <http://www.cerep.fr>
65. <http://www.kinomescan.com>
66. P. Eleftheriou, A. Geronikaki, D. Hadjipavlou-Litina, P. Vicini, O. Filz, D. Filimonov, V. Poroikov, S. S. Chaudhaery, K. K. Roy, A. Saxena, *Eur. J. Med. Chem.*, **47**, 111 (2012).
67. A. Lagunin, D. A. Filimonov, V. V. Poroikov, *Curr. Pharm. Des.*, **16**, 1703 (2010).
68. J. Frearson, P. Wyatt, *Expert Opin. Drug Discovery*, **5**, 909 (2010).
69. W. Rhodes, *J. Transl. Med.*, **10** (Suppl 2), A42 (2012).
70. D. M. Huryn, L. O. Resnick, P. Wipf, *J. Med. Chem.*, **56**, 7161 (2013).
71. S. Ekins, B. A. Bunin, in *In Silico Models for Drug Discovery*, S. Cortagere (Ed.), Series: Methods in Molecular Biology, Humana Press, New York, 2013, vol. 993, p. 139.

<sup>1</sup> НИИ биомедицинской химии  
им. В. Н. Ореховича РАМН,  
Погодинская ул., 10/8, Москва 119121, Россия

Поступило 7.02.2014

<sup>2</sup> Российский национальный исследовательский  
медицинский университет им. Н. И. Пирогова,  
ул. Островитянова, 1, Москва 117997, Россия  
e-mail: vladimir.poroikov@ibmc.msk.ru