

## 3D-QSAR studija i razvoj farmakofore agonista serotoninskih 5-HT<sub>2A</sub> receptora

Milica Radan, Katarina Nikolić\*, Jelica Vučićević, Slavica Oljačić, i Danica Agbaba

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku hemiju,  
Vojvode Stepe 450, 11000 Beograd, Srbija

\* Autor za korespondenciju: Doc. dr. Katarina Nikolić  
Tel: +381-11-3951-259 Mob: +381-63-84-30-677  
Fax: +381-11-3974-349 e-mail: knikolic@pharmacy.bg.ac.rs

### Kratak sadržaj

Ispitivana jedinjenja djeluju kao agonisti serotoninskih 5-HT<sub>2a</sub>receptora, i dovode do neuralne ekscitacije, promjene ponašanja i agregacije trombocita. Cilj ove studije je bio formiranje 3D-QSAR (*3D-Quantitative structure-activity relationship*) modela i 3D-strukture farmakofore agonista serotoninskih 5-HT<sub>2a</sub> receptora, validacija formiranog 3D-QSAR modela i definisanje strukturnih modifikacija za dizajn novih agonista serotoninskih 5-HT<sub>2a</sub>receptora. Iz literature su preuzete strukture i aktivnosti 51 agoniste 5-HT<sub>2a</sub>receptora. Definisani su dominantni oblici ispitivanih jedinjenja pri fiziološkom pH i optimizovane njihove konformacije primjenom PM3 (*Parameterized Model revision 3*) metode. Ispitivana jedinjenja su podijeljena u dvije grupe, trening set sa 38 jedinjenja i test set sa 13 jedinjenja. Trening set je korišćen za formiranje jednačine i građenje 3D-QSAR modela, a test set za validaciju 3D-QSAR modela. Pomoću PLS (*Partial Least Square Regression*) metode kreira se novi 3D-QSAR model i računaju statistički parametri modela:  $R^2=0,93$ ,  $Q^2=0,72$ ,  $RMSEE=0,178$ ,  $RMSEP=0,190$  i  $R^2_{pred}=0,63$ . Formirani i validirani 3D-QSAR model je dalje upotrijebljen za analizu 3D-strukture farmakofore i za predviđanje aktivnosti novih agonista serotoninskih 5-HT<sub>2a</sub>receptora. Analizom je utvrđeno da je za ispoljavanje agonističke aktivnosti na nivou 5-HT<sub>2a</sub> serotoninskih receptora neophodno prisustvo donora vodonične veze i sternog centra na rastojanju 14,80–15,20Å (*v477:O-TIP*), donora i akceptora vodonične veze na rastojanju 1,60–2,00Å (*v389:O-NI*), hidrofobnog centra i donora vodonične veze na rastojanju 2,40–2,86Å (*v226:DRY-O*) i dva hidrofobna centra na rastojanju 9,20–9,60Å (*v23:DRY-DRY*).

**Ključne riječi:** 3D-QSAR, farmakofora, agonisti serotoninskih 5-HT<sub>2a</sub> receptora.

## Uvod

Serotonin ili 5-hidroksitriptamin (5-HT) jedan je od najvažnijih neurotransmitera u čovjekovom organizmu. Strukture bogate serotoninom su: gastrointestinalni trakt, trombociti i CNS. U organizmu se stvara iz triptofana, a metabolizam je veoma sličan noradrenalinu. Poznato je da serotonin ostvaruje svoje dejstvo preko različitih receptora koji su klasifikovani u sedam glavnih tipova (5-HT<sub>1-7</sub>), od kojih se tipovi 1 i 2 dalje dijele u podtipove. 5-HT<sub>2</sub> receptori su široko rasprostranjeni u organizmu, a 5-HT<sub>2a</sub> podtip je funkcionalno najvažniji. 5-HT<sub>2a</sub> serotoniniski receptori pripadaju G protein spregnutim receptorima (GPCR), vezani su za fosfolipazu C i stimulišu stvaranje inozitoltrifosfata (IP<sub>3</sub>). Zastupljeni su kako u CNS-u tako i van CNS-a. U CNS-u se predominantno nalaze postsinaptički 5-HT<sub>2a</sub> serotoniniski receptori na neseserotoninergičkim neuronima (gabaergičkim neuronima) u cerebralnom korteksu, klaustrumu, strijatumu, hipokampusu, amigdalama, olfaktornom tuberkulu i hipotalamusu gdje suprimiraju aktivnost prefrontalnih ćelija inhibicijom oslobađanja neurotransmitera. Van CNS-ase nalaze u krvnim sudovima, trombocitima i autonomnim neuronima. Aktivacija serotoniniskih 5-HT<sub>2a</sub>receptora u CNS-u dovodi do ekscitacije neurona, dok van CNS-a ispoljavaju efekte koji uticu na ponašanje, dovode do agregacije trombocita, kontrakcije glatkih mišića u GIT-u i bronhijama i vazokstricije/vazodilatacije krvnih sudova. Agonisti serotoniniskih 5-HT<sub>2a</sub> receptora ostvaruju halucinogeni, antidepresivni i prokognitivni efekat, a mogu se koristiti i u tretmanu insomnije i regulaciji unošenja hrane i gojaznosti.<sup>[1]</sup>

Primjena 3D analize kvantitativnog odnosa strukture i aktivnosti (*3D-QSAR - Quantitative Structure Activity Relationships*) omogućava definisanje veze između varijacija u osobinama molekula i biološke aktivnosti za seriju jedinjenja. Uspostavljanje sternih, hidrofobnih i elektrostatskih efekata je neophodno za ostvarivanje optimalne interakcije sa receptorom. 3D-QSAR metod uspostavlja matematičku zavisnost između biološke aktivnosti grupe ispitivanih jedinjenja i hemijske strukture, što se može upotrijebiti za predlaganje struktura novih, aktivnijih, jedinjenja i predviđanje njihove biološke aktivnosti.

Ovom 3D-QSAR studijom obuhvaćeno je 51 jedinjenje koja djeluju kao agonisti serotoniniskih 5-HT<sub>2a</sub> receptora i aktiviraju te receptore na način sličan serotoninu. Većinu jedinjenja karakteriše prisustvo tri kondezovana prstena u strukturi, tj. benzenovog prstena vezanog za petočlane i šestočlane heterocikluse. Benzenov prsten je uglavnom supstituisan nekim hidrofobnim supstituentima, poput metil, etil, metoksi grupama, hlorom ili trifluorometil grupama. Svako ispitivano jedinjenje karakterišu određeni strukturni deskriptori - farmakofore, koji su od značaja za vezivanje, uspostavljanje interakcija i ostvarivanje aktivnosti ispitivanih jedinjenja na nivou 5-HT<sub>2a</sub> serotoniniskih receptora.

Glavni cilj 3D-QSAR studije je bio određivanje najvažnijih strukturnih deskriptora koji predstavljaju molekulske determinante koje utiču na agonističku aktivnost na nivou 5-HT<sub>2a</sub>receptora, razvoj robusnog 3D-QSAR modela sa dobrom moći predviđanja i definisanje strukturnih modifikacija za dizajn novih agonista 5-HT<sub>2a</sub> receptora.

## Ekperimentalni dio

Iz literature<sup>[2-8]</sup> je preuzeto 51 jedinjenje (Slika 1) sa eksperimentalno određenom aktivnošću na nivou 5-HT<sub>2a</sub>receptora. Ispitivana jedinjenja su podijeljena na dva seta, trening i test set. Trening set sadrži 38 jedinjenja i na osnovu njega se gradi 3D-QSAR model, a test set sadrži 13 jedinjenja i služi za validaciju 3D-QSAR modela. Jedinjenja su raspoređena tako što su poređana po opadajućem redoslijedu prema aktivnosti, potom je svako treće jedinjenje selektovano za test set, a ostatak jedinjenja je korišćen za trening set. Na ovaj način je osigurano da jedinjenja iz oba seta, trening i test seta, pokrivaju širok opseg aktivnosti.

Aktivnost svih ispitivanih jedinjenja na 5-HT<sub>2a</sub>receptorima je određena istom eksperimentalnom metodom i predstavljena je kao IC<sub>50</sub>vrijednost. Negativni logaritam IC<sub>50</sub> (pIC<sub>50</sub>) predstavlja Y varijablu. Širok opseg aktivnosti (pIC<sub>50</sub>: 5,484-8,553) i strukturne različitosti osigurava dobar kvalitet i široku primjenljivost kreiranog 3D-QSAR modela. Primjenom Marvin Sketch 5.5.1.0. programa [www.chemaxon.com/products.html] određeni su dominantni oblici za sva ispitivana jedinjenja pri fiziološkom pH 7,4, a potom su optimizovani semiempirijskom PM3 (*Parameterized Model revision 3*) metodom<sup>[9]</sup> primjenom Gaussian 098W softvera<sup>[10]</sup>, koji je uključen u Chem3D Ultra 7<sup>[11]</sup>.

Program Pentacle 1.07<sup>[12]</sup> je korišćen za formiranje 3D-QSAR modela [http://www.moldiscovery.com/software/pentacle/]. Ovaj program računa GRIND nezavisne deskriptore (GRIND i GRIND2) iz oblasti molekularnih interakcija (MIFs). MIFs se računaju primjenom četiri različite probe: O probe (karbonilni kiseonik, predstavlja grupe koje su akceptori vodonične veze), DRY probe (koja predstavlja hidrofobne interakcije), N<sub>1</sub> probe (amidni azot, predstavlja grupe koje su donori vodonične veze) i TIP probe (koja predstavlja oblik molekula). Korišćen je mrežni razmak od 0,5 Å. Za izdvajanje najvažnijih regiona koji predstavljaju najpovoljnije interakcije između probe i liganda korišćenje ALMOND algoritam. CLACC (*Consistently Large Auto and Cross Correlation*) algoritam<sup>[13]</sup> je korišten za izračunavanje GRIND deskriptora primjenom auto-korelacije i unakrsne korelacije između centara. Rezultati su predstavljeni kao korelogrami koji odgovaraju parovima centara iste ili različite probe. Izračunati GRIND deskriptori ispitivanih jedinjenja su povezani sa Y varijablom (pIC<sub>50</sub>) primjenom metode parcijalnih najmanjih kvadrata (*Partial Least Square Regression-PLS*). Metoda parcijalnih najmanjih kvadrata (PLS) koristi unakrsni validacioni pristup za procjenu prediktivne moći 3D-QSAR modela<sup>[14]</sup>. Početni broj GRIND deskriptora je smanjen da bi se dobile one najvažnije varijable primjenom frakcionog faktorijskog dizajna (*Fractional factorial design-FFD*)<sup>[15]</sup>. Nakon izvođenja FFD selekcije, početni broj varijabli se smanjuje, a primjenom PLS metode kreira se novi 3D-QSAR model i računaju statistički parametri modela. Na osnovu dobijenih statističkih parametara: koeficijenta korelacije-R<sup>2</sup>, unakrsno validacionog koeficijenta-Q<sup>2</sup>, srednje kvadratne greške procjene-RMSEE, za trening set i srednje kvadratne greške predviđanja-RMSEP i koeficijenta korelacije-R<sup>2</sup><sub>pred</sub> za test set, selektovan je optimalni 3D-QSAR model sa 154 varijable i 4 PLS komponenti (*latent variables, LV*).<sup>[16]</sup>

Za internu validaciju 3D-QSAR modela računati su i korišćeni parametri  $Q^2$  (unakrsni validacioni koeficijent) i PRESS (prediktivna rezidualna suma kvadrata). PRESS parametar je računat primjenom LOO (*leave-one-out*) pristupa, koji svako jedinjenje iz trening seta jednom izostavlja, što rezultira kreiranjem novog modela koji se koristi za predviđanje Y vrijednosti uklonjenog jedinjenja<sup>[17]</sup>. Nakon što su sva jedinjenja jednom izostavljena iz trening seta, zbir kvadrata razlika između posmatranih i LOO predviđenih Y vrijednosti ( $e_{(i)}$ ) za sve kreirane modele (PRESS) je izračunata pomoću jednačine (1).

$$PRESS = \sum e_{(i)}^2 \quad (1)$$

Moć predviđanja i robusnost modela se procjenjuje na osnovu RMSEE (srednje kvadratne greške procjene) i  $Q^2$  (unakrsno validacionog) parametara, što je prikazano u jednačinama (2) i (3).

$$RMSEE = \sqrt{\frac{PRESS}{n}} \quad (2)$$

$$Q^2 = 1 - \frac{PRESS}{SSTo} \quad (3)$$

SSTo- *Variation, Sum of squares* (Total)

Da bi 3D-QSAR model imao dobru prediktivnu moć,  $Q^2$  vrijednost bi trebala biti veća od 0,5.<sup>[17][18]</sup>

Potrebne su visoke vrijednosti  $R^2$  i  $Q^2$ , ali glavna procjena prediktivne moći 3D-QSAR modela je zasnovana na eksternoj validaciji, procjenom aktivnosti jedinjenja test seta<sup>[19]</sup>. Za eksternu validaciju korišćen je test set koji sadrži 13 jedinjenja, a RMSEP (srednja kvadratna greška predviđanja) i  $R^2_{pred}$  (koeficijenta korelacije) za test set su računati jednačinama (4) i (5):

$$RMSEP = \sqrt{\frac{PRESS}{n}} \quad (4)$$

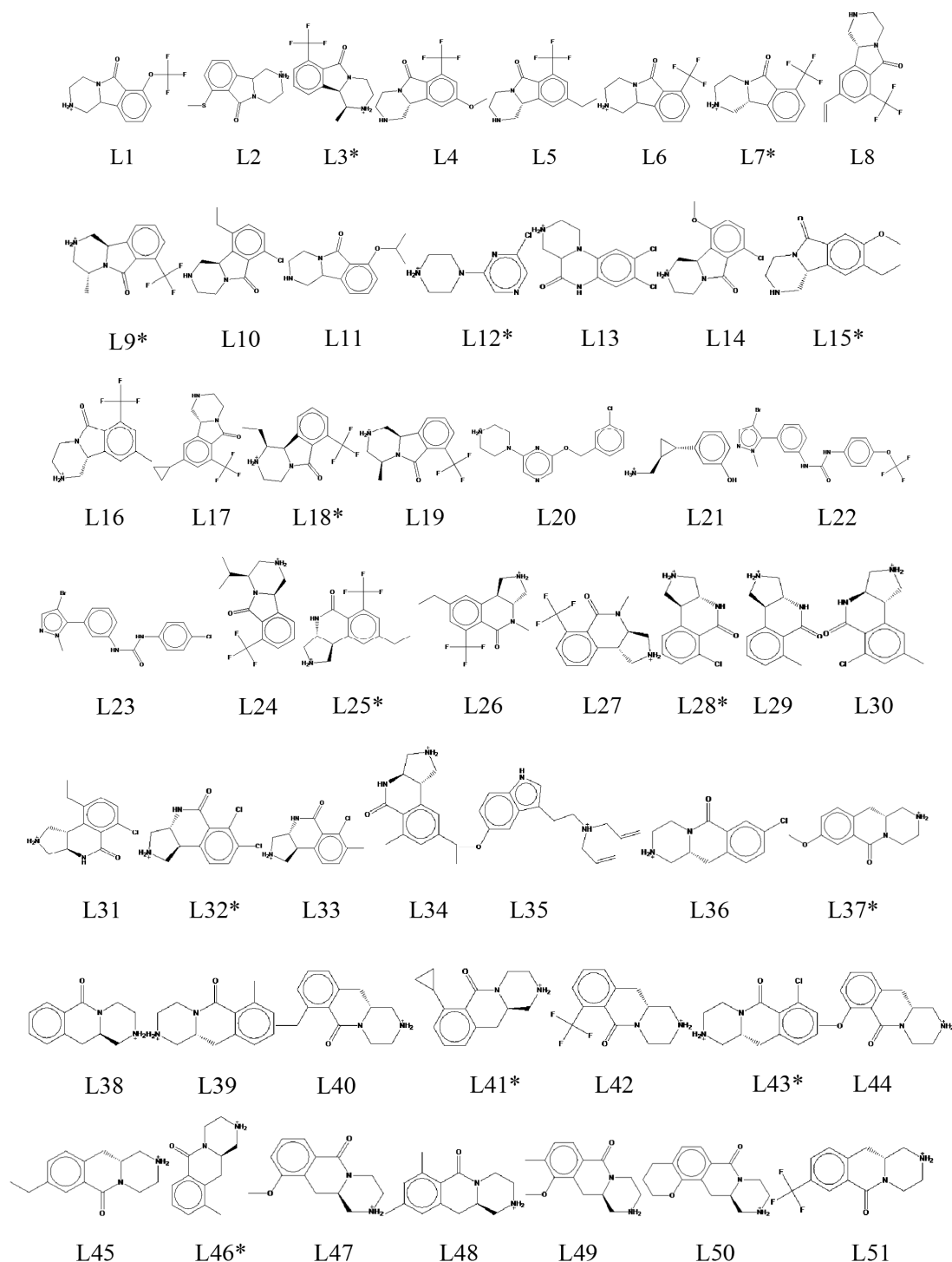
$$R_{pred}^2 = 1 - \Sigma(5) \quad (5)$$

3D-QSAR model sa dobrom moći predviđenja bi trebao imati  $R^2_{pred}$  vrijednost za test set veću od 0,5.<sup>[17][18]</sup>

## Rezultati

3D-QSAR studija je izvedena na 51 jedinjenju (Slika 1) koji ispoljavaju agonističku aktivnost na nivou 5-HT<sub>2a</sub> serotoninских receptora. Formirani 3D-QSAR model je dalje korišćen za analizu 3D strukture farmakofore, što omogućava bolje

razumjevanje strukturnih karakteristika koje su od značaja za ispoljavanje agonističkog djelovanja na nivou 5-HT<sub>2a</sub> serotoninских receptora i predviđanje aktivnosti novih dizajniranih jedinjenja.



**Slika 1: Hemijske strukture liganada L1-L51 iz trening i test (\*) seta**

**Figure 1: Structural formulas of ligands L1-L51 from training and test (\*) set**

Predviđene pIC<sub>50</sub> vrijednosti koje su dobijene na osnovu formiranog 3D-QSAR modela približne su eksperimentalno dobijenim pIC<sub>50</sub>. (Tabela I)

**Tabela I** Rezultati 3D-QSAR studije

**Table I** Results of 3D-QSAR study

Jednjenja	Eksperimentalne pIC <sub>50</sub> (3D-QSAR)	Predviđene pIC <sub>50</sub>	Jednjenja	Eksperimentalne pIC <sub>50</sub> (3D-QSAR)	Predviđene pIC <sub>50</sub>
Trening set			Test set		
L1	7,060	6,996	L3	6,955	7,366
L2	7,108	6,944	L7	6,754	6,753
L4	6,539	6,454	L9	7,041	7,177
L5	6,883	6,785	L12	6,377	6,252
L6	5,932	5,938	L15	6,427	6,522
L8	5,790	5,733	L18	6,900	7,024
L10	5,484	5,449	L25	6,218	6,065
L11	6,348	6,401	L28	6,907	6,698
L13	7,930	8,092	L32	6,893	6,658
L14	6,658	6,467	L37	7,328	7,101
L16	6,777	6,701	L41	6,963	7,016
L17	6,290	6,100	L43	6,419	6,710
L19	6,432	6,781	L46	6,686	6,734
L20	7,120	6,957			
L21	6,607	6,483	R <sup>2</sup> <sub>pred</sub> =0,63		
L22	6,921	6,866	RMSEP=0,19		
L23	7,721	8,131			
L24	7,252	7,046			
L26	5,680	5,915			
L27	7,051	6,829			
L29	6,896	6,868			
L30	6,218	6,533			
L31	5,776	5,878			
L33	7,678	7,212			
L34	6,068	6,081			
L35	8,553	8,465			
L36	7,013	6,993			
L38	6,151	6,314			
L39	7,194	7,234			
L40	7,658	7,485			
L42	6,971	6,905			
L44	6,714	6,973			
L45	7,432	7,435			
L47	5,987	6,069			
L48	5,980	6,151			
L49	6,036	6,030			
L50	6,036	6,009			
L51	6,975	7,186			
R <sup>2</sup> =0,93					
Q <sup>2</sup> =0,72					
RMSEE=0,178					

Vrijednosti statističkih parametara  $R^2_{\text{pred}}=0,63$  i  $Q^2=0,72$  ukazuju na dobru moć predviđanja kreiranog modela kao i da se model može koristiti za dizajn novih jedinjenja sa poboljšanom aktivnošću na nivou 5-HT<sub>2a</sub> serotoninskih receptora.

Formirani i validirani 3D-QSAR model je dalje upotrijebljen za analizu 3D-strukture farmakofore agonista serotoninskih 5-HT<sub>2a</sub>receptora.

Najvažnije varijable sa pozitivnim uticajem na agonističko djelovanje na nivou 5-HT<sub>2a</sub> serotoninskih receptora su: var477 (O-TIP), var389 (O-N1), var402 (O-N1), var226 (DRY-O) i var23 (DRY-DRY). Najvažnije varijable sa negativnim uticajem na aktivnost su: var530 (N1-TIP), var279 (DRY-N1), var190 (TIP-TIP), var357 (DRY-TIP) i var351 (DRY-TIP). (Tabela II)

**Tabela II** Najvažnije varijable sa pozitivnim i negativnim uticajem na aktivnost

**Table II** Summary of the most important favorable and unfavorable variables

Varijabla	Par	Udaljenost [Å]	Uticaj na aktivnost	PLS koeficijenti
477	O-TIP	14,80–15,20	+ (donora vodonične veze i sterna centar)	0,513
389	O-N1	1,60–2,00	+ (donor i akceptor vodonične veze)	0,357
402	O-N1	6,80–7,20	+ (donor i akceptor vodonične veze)	0,353
226	DRY-O	2,40-2,86	+ (hidrofobni centar i donora vodonične veze)	0,329
23	DRY-DRY	9,20-9,60	+ (dva hidrofobna centra)	0,292
530	N1-TIP	14,00-14,40	- (akceptor vodonične veze i sterna centar)	-0,494
279	DRY-N1	1,60-2,00	- (hidrofobni centar i akceptor vodonične veze)	-0,423
190	TIP-TIP	10,00-10,40	- (dva sterna centra)	-0,293
357	DRY-TIP	10,80-11,20	- (hidrofobni centar i sterna centar)	-0,293
351	DRY-TIP	8,40-8,80	- (hidrofobni centar i sterna centar)	-0,288

3D-QSAR studija je pokazala da većina ispitivanih jedinjenja posjeduje gupu koja je donor vodonične veze i sterna centar na rastojanju 14,80–15,20Å (var477:O-TIP), što pozitivno utiče na aktivnost. Povećanje ili smanjenje rastojanja između ova dva strukturalna deskriptora smanjuje aktivnost jedinjenja. Rastojanje između donora i akceptora vodonične veze, 1,60–2,00Å (var389:O-N1) i 6,80–7,20Å (var402:O-N1), je takođe važno za ispoljavanje agonističke aktivnosti na serotoninskim 5-HT<sub>2a</sub> receptorima. Studija je pokazala da pozitivan uticaj na aktivnost pokazuje i

karakteristična udaljenost između hidrofobnog centra, tj. heterociklusa i donora vodonične veze, 2,40–2,86Å (var226:DRY-O). Optimalna udaljenost između dva hidrofobna centra, 9,20–9,60Å (var23:DRY-DRY), je takođe ključna za aktivaciju serotoninских 5-HT<sub>2a</sub> receptora.

Negativan uticaj na optimalnu aktivnost ispitivanih agonista 5-HT<sub>2a</sub> serotoninских receptora ispoljava udaljenost između akceptora vodonične veze i sternog centra koja je veća od optimalne i iznosi 14,00–14,40Å (var530:N1-TIP). Mala udaljenost između hidrofobnog centra i akceptora vodonične veze ima takođe negativan uticaj na aktivnost, 1,60–2,00Å (var279:DRY-N1). Manju aktivnost pokazuju jedinjenja sa udaljenošću između sternih centara manjom od optimalne, 10,00–10,40Å (var190:TIP-TIP), kao i jedinjenja sa udaljenošću između hidrofobnog i sternog centra 10,80–11,20Å (var357:DRY-TIP) i 8,40–8,80Å (var351:DRY-TIP).

## Diskusija

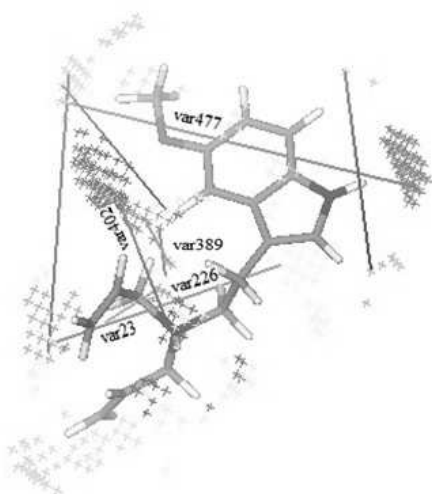
Jedinjenje sa najvećom aktivnošću na nivou serotoninских 5-HT<sub>2a</sub> receptora je jedinjenje L35 (Slike 2-5). Eksperimentalno određena aktivnost je 8,553. 3D-QSAR modelom je pokazano da jedinjenje L35 posjeduje sve deskriptore koji imaju pozitivan uticaj na aktivnost. Na rastojanju 14,80–15,20Å (var477:O-TIP) nalazi se donor vodonične veze, NH grupa iz heterociklusa, i sterna centar koji čini metil grupa na OCH<sub>3</sub> supstituentu. Donor i akceptor vodonične veze, tj. NH grupa iz bočnog niza i kiseonik iz metoksi grupe, nalaze se na dva rastojanja 1,60–2,00Å (var389:O-N1) i 6,80–7,20Å (var402:O-N1). Na optimalnu aktivnost ovog jedinjenja utiče i prisustvo hidrofobnog centra, propenil grupe, i donora vodonične veze, NH grupe iz bočnog niza, na rastojanju 2,40–2,86Å (var226:DRY-O). Ovo jedinjenje karakteriše i prisustvo dva hidrofobna centra na rastojanju 9,20–9,60Å (var23:DRY-DRY), tj. prisustvo heterociklusa i propenil ostatka u bočnom nizu. Deskriptori sa pozitivnim uticajem su označeni na 3D-QSAR modelu farmakofore jedinjenja L35. (Slike 2 i 3)

Negativan uticaj na ispoljavanje agonističkog djelovanja na nivou 5-HT<sub>2a</sub> serotoninских receptora kod jedinjenja L35 pokazuju: hidrofobni centar i akceptor vodonične veze, tj. bočni niz i kiseonik iz metoksi grupe, na malom rastojanju 1,60–2,00Å (var279:DRY-N1); dva sterna centra, na rastojanju 10,00–10,40Å (var190:TIP-TIP); hidrofobni i sterna centar, tj. metoksi grupa i propenil grupa na rastojanju 10,80–11,20Å (var357:DRY-TIP) i metoksi grupa i heterociklus na rastojanju 8,40–8,80Å (var351:DRY-TIP). (Slike 4 i 5)

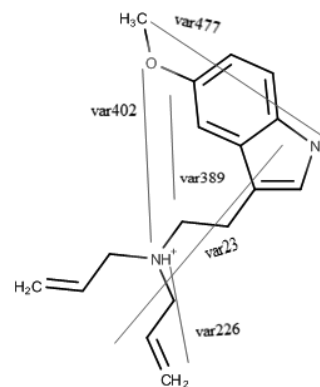
Eksperimentalno određena aktivnost jedinjenja L13 (Slike 6-9) je 7,930. Formiranim modelom je predviđeno da jedinjenje L13 takođe posjeduje sve varijable sa pozitivnim uticajem na aktivnost. Donor vodonične veze, NH grupa iz prstena i sterna centar, hlor, nalaze se na rastojanju 14,80–15,20Å (var477:O-TIP). Donori i akceptor vodonične veze, NH grupe iz prstena i karbonilni kiseonik, nalaze se na rastojanjima 6,80–7,20Å (var402:O-N1) i 1,60–2,00Å (var389:O-N1) i neophodni su za ostvarivanje optimalne aktivnosti na nivou 5-HT<sub>2a</sub> receptora. Na aktivnost jedinjenja L13 pozitivno utiče i prisustvo hidrofobnog centra, benzenovog prstena, i donora vodonične veze, NH



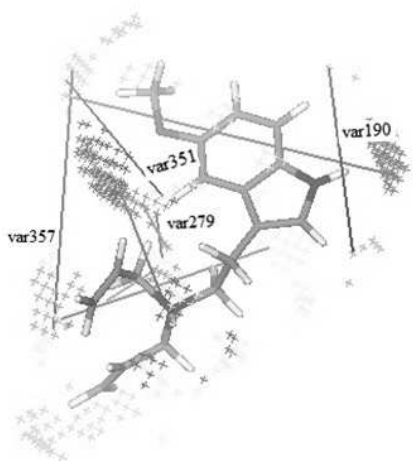
grupe iz heterociklusa, na malom rastojanju 2,40–2,86Å (var226:DRY-O), kao i prisustvo dva hidrofobna centra na rastojanju 9,20–9,60Å (var23:DRY-DRY). Deskriptori sa pozitivnim uticajem su označeni na 3D-QSAR modelu farmakofore jedinjenja L13. (Slike 6 i 7)



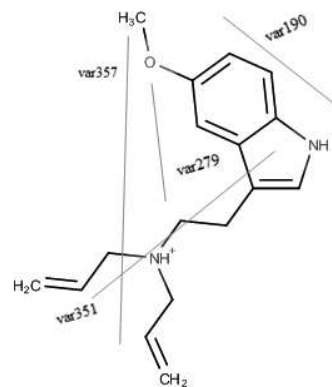
Slika 2: 3D model farmakofore jedinjenja L35, sa pozitivnim varijablama  
Figure 2: 3D pharmacophore model of compound L35, with favorable variables



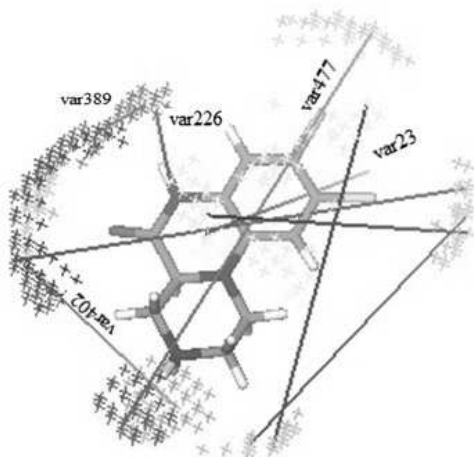
Slika 3: 2D struktura jedinjenja L35, sa pozitivnim varijablama  
Figure 3: 2D structure of compound L35, with favorable variables



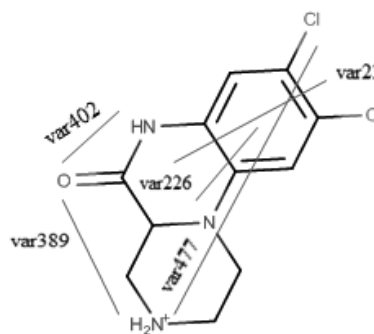
Slika 4: 3D model farmakofore jedinjenja L35, sa negativnim varijablama  
Figure 4: 3D pharmacophore model of compound L35, with unfavorable variables



Slika 5: 2D struktura jedinjenja L35, sa negativnim varijablama  
Figure 5: 2D structure of compound L35, with unfavorable variables



**Slika 6: 3D model farmakofore jedinjenja L13, sa pozitivnim varijablama**  
**Figure 6: 3D pharmacophore model of compound L13, with favorable variables**



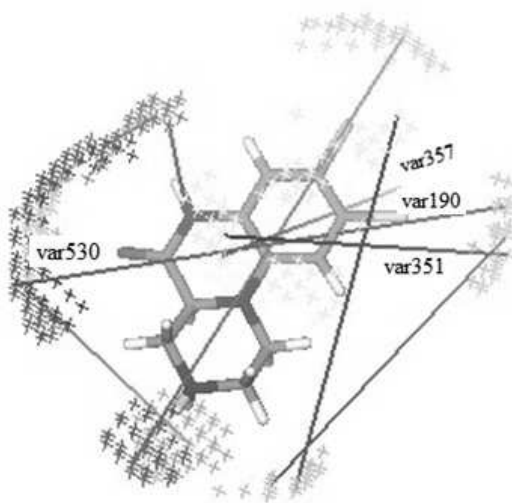
**Slika 7: 2D struktura jedinjenja L13, sa pozitivnim varijablama**  
**Figure 7: 2D structure of compound L13, with favorable variables**

Negativan uticaj na aktivnost ispitivanog jedinjenja L13 na nivou 5-HT<sub>2a</sub> serotoniniskih receptora pokazuje prisustvo: akceptora vodonične veze i sternog centra, tj. kiseonika iz karbonilne grupe i hlora, na udaljenosti od 14,00–14,40Å (var530:N1-TIP); dva sterna centra na rastojanju 10,00–10,40Å (var190:TIP-TIP); hidrofobnog i sternog centra, tj. heterociklusa i hlora na rastojanjima 10,80–11,20Å (var357:DRY-TIP) i 8,4–8,8Å (var351:DRY-TIP). (Slike 8 i 9)

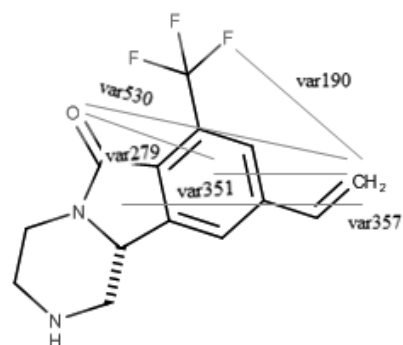
Najmanju aktivnost od svih ispitivanih agonista posjeduje jedinjenje L8 (Slike 10-13) i ona iznosi 5,790. Kod ovog ispitivanog agoniste prisutni su svi značajni negativni deskriptori koji smanjuju aktivnost ovog jedinjenja, a to su: udaljenost između akceptora vodonične veze, karbonilnog kiseonika, i sternog centra, etenil grupe, na rastojanju 14,00–14,40Å (var530:N1-TIP); hidrofobni centar, benzenov prsten, i akceptor vodonične veze na rastojanju 1,60–2,00Å (var279:DRY-N1); dva sterna centra, CF<sub>3</sub> supstituent i etenil grupa, na rastojanju 10,00–10,40Å (var190:TIP-TIP) i hidrofobni centar, benzenov prsten ili heterociklus, i sterna centar, etenil grupa, na rastojanjima 10,80–11,20Å (var357:DRY-TIP) i 8,40–8,80Å (var351:DRY-TIP).

Deskriptori sa negativnim uticajem su označeni na 3D-QSAR modelu farmakofore jedinjenja L8. (Slike 10 i 11)

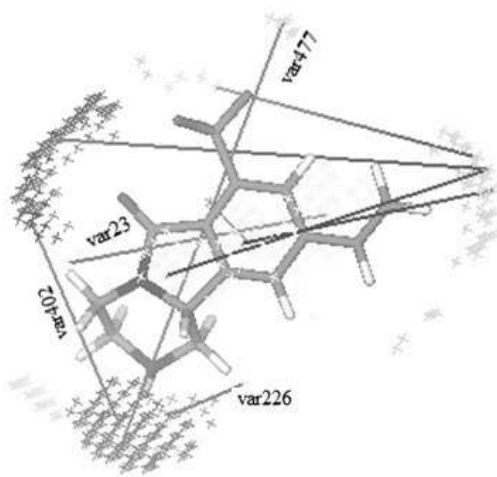
Varijable koje ispoljavaju pozitivan uticaj na aktivnost jedinjenja L8 su: donor vodonične veze i sterna centar, tj. NH grupa iz heterociklusa i CF<sub>3</sub> supstituent, na rastojanju 14,80–15,20Å (var477: O-TIP); akceptor i donor vodonične veze, karbonilni kiseonik i NH grupa iz heterociklusa, na rastojanju 6,80–7,20Å (var402:O-N1); donor vodonične veze i hidrofobicentar na rastojanju 2,40–2,86Å (var226:DRY-O) i dva hidrofobna centra na rastojanju 9,20–9,60Å (var23:DRY-DRY). (Slike 12 i 13)



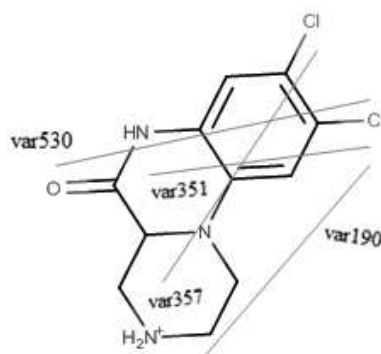
Slika 8: 3D model farmakofore jedinjenja L13, sa negativnim varijablama  
 Figure 8: 3D pharmacophore model of compound L13, with unfavorable



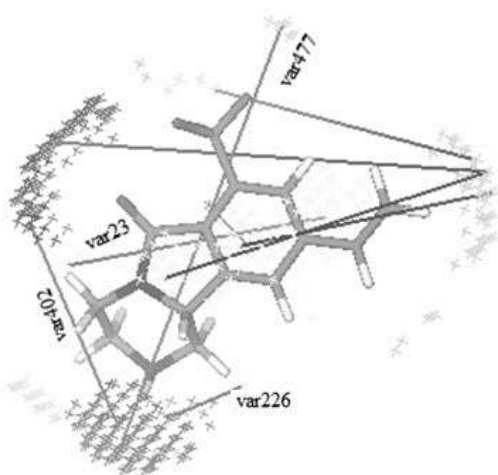
Slika 9: 2D struktura jedinjenja L13, sa negativnim varijablama  
 Figure 9: 2D structure of compound L13, with unfavorable



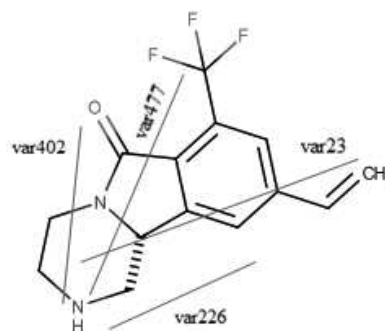
Slika 10: 3D model farmakofore jedinjenja L8, sa negativnim varijablama  
 Figure 10: 3D pharmacophore model of compound L8, with unfavorable variables



Slika 11: 2D struktura jedinjenja L8, sa negativnim varijablama  
 Figure 11: 2D structure of compound L8, with unfavorable



Slika 12: 3D model farmakofore jedinjenja L8, sa pozitivnim varijablama  
 Figure 12: 3D pharmacophore model of compound L8, with favorable variables



Slika 13: 2D struktura jedinjenja L8, sa pozitivnim varijablama  
 Figure 13: 2D structure of compound L8, with favorable

Analizom strukture farmakofore jedinjenja L35, L13 i L8 uočeno je da sva tri posmatrana jedinjenja posjeduju: var477 (O-TIP), var402 (O-N1), var226 (DRY-O) i var23 (DRY-DRY) pozitivne varijable, a jedinjenja L35 i L13 posjeduju i var389 (O-N1).

Negativan uticaj na agonističko djelovanje kod posmatrana tri jedinjenja ispoljavaju var357 (DRY-TIP), var351 (DRY-TIP) i var190 (TIP-TIP). Kod jedinjenja L13 i L8 prisutna je i negativna varijabla var530 (N1-TIP), a jedinjenja L8 i L35 pored prethodno navedenih negativnih varijabli sadrže i var279 (DRY-N1).

Da bi jedinjenja aktivirala serotoninske 5-HT<sub>2a</sub> receptore i ispoljila svoju agonističku aktivnost, potrebno je da sadrže heterociklični hidrofobni centar sa donorom vodonične veze, koji je najčešće unutar ciklusa. Značajno je da heterociklus bude supstituisan nekim sternim centrima koji će biti na optimalnoj udaljenosti od donora vodonične veze, 14,80–15,20Å (var477:O-TIP). Jedinjenje koje djeluje kao agonista serotoninskih 5-HT<sub>2a</sub> receptora potrebno je da sadrži i akceptor vodonične veze, najčešće u obliku karbonilne ili metoksi grupe, koji je na određenoj udaljenosti od donora vodonične veze, 6,80–7,20Å (var402:O-N1) i 1,60–2,00Å (var389:O-N1). 3D-QSAR modelom utvrđeno je da najveći negativni uticaj na aktivnost ispoljava prisustvo akceptora vodonične veze i sternog centra na udaljenosti 14,00–14,40Å (var530:N1-TIP), dok najveći pozitivni uticaj na aktivnost ispoljava prisustvo donora vodonične veze i sternog centra na rastojanju 14,80–15,20Å (var477: O-TIP). Poznavajući uticaj različitih varijabli na ispoljavanje agonističke aktivnosti na nivou serotoninskih 5-HT<sub>2a</sub> receptora, moguće je predložiti neke strukturne promjene za dizajn novih agonista sa

poboljšanom aktivnošću na nivou ovih receptora. Potrebno je da se uklone varijable sa negativnim uticajem na aktivnost, a da se zadrže ili uvedu varijable sa pozitivnim uticajem. Moguće strukturne promjene mogu biti uklanjanje nekog sternog centra, ili njegova transformacija u neku drugu grupu, tako da bude na odgovarajućoj udaljenosti od akceptora vodonične veze. Takođe, strukturne promene na hidrofobnim centrima mogu dovesti do snažnije agonističke aktivnosti na nivou serotoninских 5-HT<sub>2a</sub> receptora.

Analiza strukture farmakofore ispitivanih agonista omogućava da se sagledaju sve najznačajnije varijable sa pozitivnim i negativnim uticajima na aktivnost, što je od velikog značaja za izbor strukturnih modifikacija ispitivanih agonista i dizajn novih efikasnijih agonista serotoninских 5-HT<sub>2a</sub>receptora.

## **Zaključak**

Ovom 3D-QSAR studijom obuhvaćeno je 51 jedinjenje koja djeluju kao agonisti serotoninских 5-HT<sub>2a</sub>receptora. Formirani i validirani 3D-QSAR model je dalje upotrijebljen za analizu 3D strukture farmakofore i definisanje strukturnih modifikacija za dizajn novih gonista 5-HT<sub>2a</sub>receptora. Analizom 3D strukture farmakofore ispitivanih agonista pokazano je dapisustvo donora vodonične veze i sternog centra na rastojanju 14,80–15,20 Å (v477:O-TIP), donora i akceptora vodonične veze na rastojanju 1,60–2,00 Å (v389:O-N1), hidrofobnog centra i donora vodonične veze na rastojanju 2,40–2,86 Å (v226:DRY-O) i dva hidrofobna centra na rastojanju 9,20–9,60 Å (v23:DRY-DRY) je neophodno za agonističku aktivnost ovih jedinjenja na 5-HT<sub>2a</sub> receptorima. Ovako definisana struktura farmakofore agonista 5-HT<sub>2a</sub> receptora predstavlja osnovu za dizajn novih efikasnijih liganada.

Do sad nije objavljena nijedna 3D-QSAR studija i analiza farmakofore agonista serotoninских 5-HT<sub>2a</sub>receptora koja obuhvata skup strukturno različitih liganada 5-HT<sub>2a</sub> receptora. Strukturna varijabilnost i širok interval aktivnosti ispitivanih agonista 5-HT<sub>2a</sub> receptora omogućavaju dobru primjenljivost kreiranog 3D-QSAR modela za dizajn i analizu novih liganada.

## **Zahvalnica**

Ovaj rad je finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, Ugovor broj 172033.

## **Literatura**

1. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. Farmakologija. Beograd: Data status; 2005. p. 184-189
2. Wacker DA, Varnes JG, Malmstrom SE, Cao X, Hung CP, Ung T et al.. Discovery of (R)-9-ethyl-1,3,4,10b-tetrahydro-7-trifluoromethylpyrazino[2,1-a]isoindol-6(2H)-one, a selective, orally active agonist of the 5-HT(2C) receptor, J. Med. Chem, 2007; 22;50(6):1365-79

3. Jensen AA, Plath N, Pedersen MH, Isberg V, Krall J, Wellendorph P et al. Design, synthesis, and pharmacological characterization of N- and O-substituted 5,6,7,8-tetrahydro-4H-isoxazolo[4,5-d]azepin-3-ol analogues: novel 5-HT(2A)/5-HT(2C) receptor agonists with pro-cognitive properties, *J. Med. Chem.*, 2013; 14;56(3):1211-27
4. Cho SJ, Jensen NH, Kurome T, Kadari S, Manzano ML, Malberg JE et al. Selective 5-hydroxytryptamine 2C receptor agonists derived from the lead compound tranylcypromine: identification of drugs with antidepressant-like action, *J. Med. Chem.*, 2009; 9;52(7):1885-902
5. Teegarden BR, Li H, Jayakumar H, Strah-Pleyne S, Dosa PI, Selaya SD et al. Discovery of 1-[3-(4-bromo-2-methyl-2h-pyrazol-3-yl)-4-methoxyphenyl]-3-(2,4-difluorophenyl)urea (nelotanserin) and related 5-hydroxytryptamine2A inverse agonists for the treatment of insomnia, *J. Med. Chem.*, 2010; 11;53(5):1923-36
6. Fevig JM, Feng J, Rossi KA, Miller KJ, Wu G, Hung CP et al. Synthesis and SAR of 2,3,3a,4-tetrahydro-1H-pyrrolo[3,4-c]isoquinolin-5(9bH)-ones as 5-HT2C receptor agonists, *Bioorg Med Chem Lett.*, 2013; 1;23(1):330-5
7. Arunotayanun W, Dalley JW, Huang XP, Setola V, Treble R, Iversen L et al. An analysis of the synthetic tryptamines AMT and 5-MeO-DALT: emerging 'Novel Psychoactive Drugs', *Bioorg Med Chem Lett.*, 2013; 1;23(11):3411-5
8. Zhao G, Kwon C, Bisaha SN, Stein PD, Rossi KA, Cao X et al. Synthesis and SAR of potent and selective tetrahydropyrazinoisoquinolinone 5-HT(2C) receptor agonists, *Bioorg Med Chem Lett.*, 2013; 1;23(13):3914-9
9. Stewart JJP. Optimization of parameters for semiempirical methods I. *Method. J Comput Chem* 1989a; 10: 209-220
10. Gaussian 98 (Revision A.7) Frisch MJ et al. Gaussian, Inc, Pittsburgh PA, 1998.
11. Chem3D Ultra 7.0, Cambridge Soft Corporation, 100 Cambridge Park Dr, Cambridge, USA, 2001, <http://www.cambridgesoft.com>
12. Pentacle, Version 1.0.7, Molecular Discovery Ltd. , Perugia, Italy; 2009
13. Duran A, Pastor M. An advanced tool for computing and handling grid-independent descriptors. *User Manual Version 1.06*; 2011
14. Pearlman RS. 3D QSAR in drug design: volume 1: theory methods and applications. Netherlands: ESCOM Science; 1993.
15. Baroni M, Costantino G, Cruciani G, Riganelli D, Valigi R, Clementi S. Generating optimal linear PLS estimations (GOLPE): an advanced chemometric tool for handling 3D-QSAR problems. *Quant Struct-Act Rel* 1993;12:9–20
16. Gagić Ž., Nikolić K., Ivković B., Filipić S., Agbaba D. (2015) QSAR studies and design of new analogs of vitamin E with enhanced antiproliferative activity on MCF-7 breast cancer cells, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 000, 1-12.
17. Ojha PK , Roy K. Comparative QSARs for antimalarial endochins: importance of descriptor-thinning and noise reduction prior to feature selection. *Chemometr Intell Lab* 2011;109:146–61
18. Tropsha A. Best practices for QSAR model development, validation and exploration. *Mol Inf* 2010; 29: 476–88
19. Golbraikh A, Tropsha A. Beware of q<sup>2</sup>!. *J Mol Graph Model* 2002;20:269–76

# 3D-QSAR study and development of pharmacophore for serotonin 5-HT<sub>2A</sub> receptors agonists

Milica Radan, Katarina Nikolić\*, Jelica Vučićević, Slavica Oljačić, and Danica Agbaba

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Chemistry, Vojvode Stepe 450, 11000 Belgrade, Serbia

\* Corresponding author: Katarina Nikolic, PhD Assistant Professor  
Tel: +381-11-3951-259 Mob: +381-63-84-30-677  
Fax: +381-11-3974-349 e-mail: knikolic@pharmacy.bg.ac.rs

---

## Summary

All tested compounds show agonistic activity on serotonin 5-HT<sub>2a</sub> receptors, which activation causes neuronal excitations, behavioral changes and platelet aggregation. The main aims of this study were to create 3D-QSAR (3D-Quantitative structure-activity relationship) model, analyse 3D-structure of the pharmacophore, validate the 3D-QSAR model, and propose structural modification for novel 5-HT<sub>2a</sub> agonists. 3D-QSAR modeling was applied to 51 agonists of 5-HT<sub>2a</sub> receptors. Dominant forms at physiologic pH of the examined compounds were optimized using the PM3 method and used for QSAR modeling. Data set was divided in two groups, training set of 38 compounds, and test set of 13 compounds. Training set was used to build 3D-QSAR model, while test set was examined for the model validation. PLS (Partial Least Square Regression) method was used to develop 3D-QSAR model. Statistical parameters of the created and validated 3D-QSAR model,  $R^2 = 0.93$ ,  $Q^2 = 0.72$ ,  $RMSEE = 0.178$ ,  $RMSEP = 0.190$  and  $R^2_{pred} = 0.63$ , indicate good prognostic capacity of the model. The 3D-QSAR model was applied to analyse pharmacophore and to predict activity of other agonists of serotonin 5-HT<sub>2a</sub> receptors. Information obtained from the 3D-QSAR study indicated that presence of hydrogen bond donor and steric hot spot at a distance 14.80–15.20 Å (v477:O-TIP), hydrophobic region and hydrogen bond donor at a distance of 2.40–2.86 Å (v226:DRY-O), hydrogen bond donor and hydrogen bond acceptor at a distance of 1.60–2.00 Å (v389:O-N1) and two hydrophobic regions at a distance 9.20–9.60 Å (v23:DRY-DRY) are essential for agonistic activity on 5-HT<sub>2a</sub> serotonin receptors.

**Keywords:** 3D-QSAR, pharmacophore, agonist of serotonin 5-HT<sub>2a</sub> receptors.

---