

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**  
**фармацевтичний факультет**  
**кафедра фармацевтичної хімії**

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

на тему: «ДИЗАЙН ТА *IN SILICO* ДОСЛІДЖЕННЯ ПОХІДНОГО 5-  
**МЕТОКСИ-2-(2-МЕТИЛФЕНІЛ)ПРИДАЗИН-3-ОНУ ЯК**  
**АНТИПАРКІНСОНІЧНОГО АГЕНТА»**

**Виконала:** здобувачка вищої освіти групи Фс18(4,5з)01б  
спеціальності 226 Фармація, промислова фармація  
освітньої програми Фармація  
Ганни МАСЛІЧЕНКО

**Керівник:** доцент закладу вищої освіти кафедри  
фармацевтичної хімії, д.фарм.н., доцент  
Ганна СЕВЕРІНА

**Рецензент:** професор закладу вищої освіти кафедри  
фармакогнозії, д.фарм.н., професор  
Олег КОШОВИЙ

## АНОТАЦІЯ

Робота присвячена *in silico* дослідженню афінності похідної 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону до метаботропних та іонотропних рецепторів глутамату. За результатами молекулярного докінгу визначено механізм дії сполуки як перспективного антипаркінсонічного агента. Робота складається з вступу, трьох розділів, висновків, списку використаної літератури, яка включає 42 найменування та додатків. Зміст роботи викладено на 47 сторінках машинописного тексту та містить 2 таблиці та 30 рисунків.

*Ключові слова:* піридазин, глутамат, молекулярний докінг, NMDA, AMPA, mGlu

## ANNOTATION

The work is devoted to the *in silico* study of the affinity of the 5-methoxy-2-(2-methylphenyl)pyridazin-3-one derivative to metabotropic and ionotropic glutamate receptors. Based on the results of molecular docking, the mechanism of action of the compound as a promising antiparkinsonian agent was determined. The work consists of an introduction, three sections, conclusions, a list of used literature, which includes 42 titles. The content of the work is laid out on 47 pages of typewritten text and contains 2 tables and 30 figures.

*Key words:* pyridazine, glutamate, molecular docking, NMDA, AMPA, mGlu

## ЗМІСТ

Перелік умовних позначень	5
Вступ	6
РОЗДІЛ 1 РОЛЬ РЕЦЕПТОРІВ ГЛУТАМАТУ ТА ЇХ ЛІГАНДІВ ПРИ ХВОРОБІ ПАРКІНСОНА(огляд літератури)	9
1.1 Хвороба Паркінсона, патогенез та роль глутамату у її розвитку	9
1.2 Модулятори іонотропних рецепторів глутамату при лікуванні хвороби Паркінсона	11
1.2.1 Антагоністи NMDA-рецепторів як антипаркінсонічні агенти	11
1.2.2 Антагоністи AMPA-рецепторів як антипаркінсонічні агенти	13
1.3 Модулятори метаботропних рецепторів глутамату при лікуванні хвороби Паркінсона	14
Висновки до розділу 1	17
РОЗДІЛ 2 ВИЗНАЧЕННЯ АФІННОСТІ ПОХІДНОГО МЕТОКСИ-2-(2-МЕТИЛФЕНІЛ)ПІРИДАЗИН-3-ОНУ ДО МЕТАБОТРОПНИХ РЕЦЕПТОРІВ ГЛУТАМАТУ	5- 18
2.1 Визначення афінності похідної піридазину до I групи метаботропних рецепторів глутамату	18
2.2 Визначення афінності похідної піридазину до II групи глутаматних рецепторів	23
2.3 Дослідження афінності похідної піридазину до III групи рецепторів глутамату	28
Експериментальна частина	33
Висновки	34

РОЗДІЛ 3	ВИЗНАЧЕННЯ АФІННОСТІ ПОХІДНОЇ	5- 35
	МЕТОКСИ-2-(2-МЕТИЛФЕНІЛ)ПІРИДАЗИН-3-ОНУ	
	ДО ІОНОТРОПНИХ РЕЦЕПТОРІВ ГЛУТАМАТУ	
3.1	Визначення афінності похідної піридазину до NMDA- рецепторів глутамату	35
3.2	Визначення афінності похідної піридазину до AMPA- рецепторів глутамату	42
	Експериментальна частина	45
	Висновки до розділу 3.1	46
	ВИСНОВКИ	47
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	48

## **ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

AMPA –  $\alpha$ -аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксазолпропіонової кислоти

iGluR – іонотропні рецептори глутамату

mGluR – метаботропні рецептори глутамату

NMDA – N-метил-D-аспартат

ГМ – головний мозок

ЛІД – леводопа-індукована дискінезія

ХП – хвороба Паркінсона

ЦНС – центральна нервова систем

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Хвороба Паркінсона (ХП) є виснажливим нейродегенеративним розладом, яка займає друге місце після хвороби Альцгеймера як найпоширеніше вікове захворювання. За даними світової статистики темпи зростання інвалідності та смертності від хвороби Паркінсона випереджає усі інші неврологічні розлади. За останню чверть сторіччя розповсюдженість хвороби Паркінсона зросла вдвічі. На 2019 р. кількість осіб, які страждають на вказану патологію, становить понад 8,5 млн осіб. За поточними оцінками хвороба Паркінсона стала причиною смерті 329 000 осіб (зростання на 100% порівняно з 2000 р.).

ХП виникає внаслідок дегенерації дофамінергічних нейронів у чорній субстанції та інших відділах головного мозку (ГМ). Процес руйнації індукує серію функціональних модифікацій у ядрах базальних гангліїв і призводить до серйозних рухових порушень. Відомо, що глутамат як головний збуджувальний нейромедіатор грає ключову роль у порушенні нормальної функції базальних гангліїв. Регулювання цього процесу відбувається через взаємодію з його специфічними рецепторами. Доведено, що рецептори глутамату беруть участь у модуляції збудливості нейронів, вивільненні медіатора і довготривалої синаптичної пластичності. Крім того, рецептори глутамату пов'язані зі зміненою нейротрансмісією при хворобі Паркінсона. Тому саме рецептори глутамату вважаються новими та перспективними таргетами для вдосконалення терапевтичної стратегії лікування хвороби Паркінсона.

Наразі відсутні способи лікування хвороби Паркінсона, можливе лише покращення симптомів її перебігу медикаментозним та/або хірургічним шляхом. Тож пошук нових ефективних лікарських засобів, які б селективно впливали на необхідну мішень залишається актуальним питанням сьогодення. Розроблений арсенал *in silico* методів аналізу та оцінка афінітету ліганду до рецептора дозволяють максимально раціоналізувати пошук нових речовин із бажаним фармакологічним ефектом.

**Мета дослідження** – визначення ступеня афінності нової похідної 5-метоки-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону до іонотропних та метаботропних рецепторів глутамату для прогнозування можливого механізму дії.

Для досягнення мети необхідно вирішити такі завдання:

1. провести літературний огляд щодо патогенезу хвороби Паркінсона, функції та ролі глутаматних рецепторів в регулюванні та нормалізації патологічного процесу;
2. на основі аналізу літературних даних взаємозв'язку між лігандом рецептором та фармакологічною відповіддю відібрати перспективні біомішені для *in silico* досліджень;
3. здійснити процедуру валідації методології докінгу для кожної обраної біомішені;
4. провести докінгові дослідження похідної 5-метоки-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону до метаботропних рецепторів глутамату;
5. провести докінгові дослідження похідної 5-метоки-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону до іонотропних рецепторів глутамату;
6. сформулювати висновки щодо можливого механізму дії похідної 5-метоки-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону

*Об'єкт дослідження* – рецепторно-орієнтований гнучкий молекулярний докінг.

*Предмет дослідження* – докінгові дослідження, метаботропні та іонотропні рецептори глутамату, похідна 5-метоки-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону

*Методи дослідження.* *In silico* дослідження – AutoDock Vina та AutoDockTools1.5.6, BIOVIADraw 2017R2, Chem3D, HyperChem 7.5, Discovery Studio Visualizer 2017/R2.

**Практичне значення отриманих результатів.** Валідовані методології молекулярного докінгу до метаботропних та іонотропних рецепторів глутамату та визначені параметри для віртуального скринінгу можуть бути

використані для подальшого прогнозування механізму дії нових біологічно активних речовин як потенційних антипаркінсонічних агентів та планування експериментальних досліджень.

**Елементи наукових досліджень.** Проведено докінгові дослідження для перспективної похідної 5-метоки-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону як антипаркінсонічного агента, запропоновано можливі механізми реалізації ефекту; обґрунтована здатність сполуки інгібувати NMDA та AMPA-рецептори як можливий механізм протипаркінсонічної дії.

**Апробація результатів дослідження і публікації.** Результати випускної кваліфікаційної роботи доповідалися на секційному засіданні кафедри фармацевтичної хімії в рамках III Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Youth Pharmacy Science» (7-8 грудня 2022 р.). Тези доповіді опубліковані у збірнику конференції.

**Структура та обсяг кваліфікаційної роботи.** Кваліфікаційна робота складається із вступу, трьох розділів, загальних висновків, списку літератури. Робота викладена на сторінках, ілюстрована таблицями, рисунками. Список використаних літературних джерел містить найменувань, з яких – іноземних авторів



# РОЗДІЛ 1

## РОЛЬ РЕЦЕПТОРІВ ГЛУТАМАТУ ТА ЇХ ЛІГАНДІВ ПРИ ХВОРОБИ ПАРКІНСОНА

### 1.1 Хвороба Паркінсона, патогенез та роль глутамату у її розвитку

Хвороба Паркінсона (ХП) є виснажливим нейродегенеративним розладом, який є другим після хвороби Альцгеймера серед найпоширеніших вікових захворювань. Клінічні симптоми ХП включають м'язову ригідність, гіпокінезію, тремор, брадикінезію, швидкий рух очима, розлад поведінки, а також вегетативні та когнітивні порушення [1]. Патологія, що лежить в основі ХП, включає дегенерацію дофамінергічних нейронів у чорній субстанції мозку і накопичення внутрішньоцитоплазматичних білкових включень, так званих тілець Леві у цих нейронах [2]. Дофамінергічні препарати, зокрема леводопа – 3-гідрокси-L-тирозин, яка є попередником дофаміну, і препарати агоністи дофамінових рецепторів наразі розглядаються як стандарт симптоматичної терапії паркінсонізму [3]. Це лікування покращує стан хворого в більшості пацієнтів, однак тривала терапія часто призводить до розвитку ускладнення, відомого як леводопа-індукована дискінезія (ЛІД) [4]. Відомо факт, що різні системи нейромедіаторів у головному мозку людини та центральній нервовій системі (ЦНС) беруть участь у патофізіології ХП та ЛІД. Серед них ключова роль належить глутамату, який займає 40% усіх синапсів і є посередником у схемах базальних гангліїв при безперервному зворотному захопленні, що призводить до дофамінергічної денервації смугастого тіла [5]. Крім того, зростає кількість експериментальних доказів, щодо внеску глутаматергічної передачі в процесі ХП та ЛІД [4]. Також визначено, що концентрація глутамату в сироватці крові у хворих на ХП вища, ніж у здорових осіб [6]. Таким чином, вченими було зроблено припущення, що фармакологічна терапія направлена на відновлення нормальних глутаматергічних функцій є перспективним напрямком для усунення серйозних моторних ускладнень, які є результатом замісної дофамінової терапії.

Глутамат відіграє важливу роль у функції головного мозку через модуляцію різних рецепторів, які в основному зосереджені на пре- та постсинаптичних мембранах нейронів практично у всіх відділах ЦНС. Рецептори глутамату спочатку були класифіковані на два основні класи іонотропних (iGluR) та метаботропні рецептори (mGluR), відповідно до фармакологічних засобів які на них впливають (рис. 1) [7].

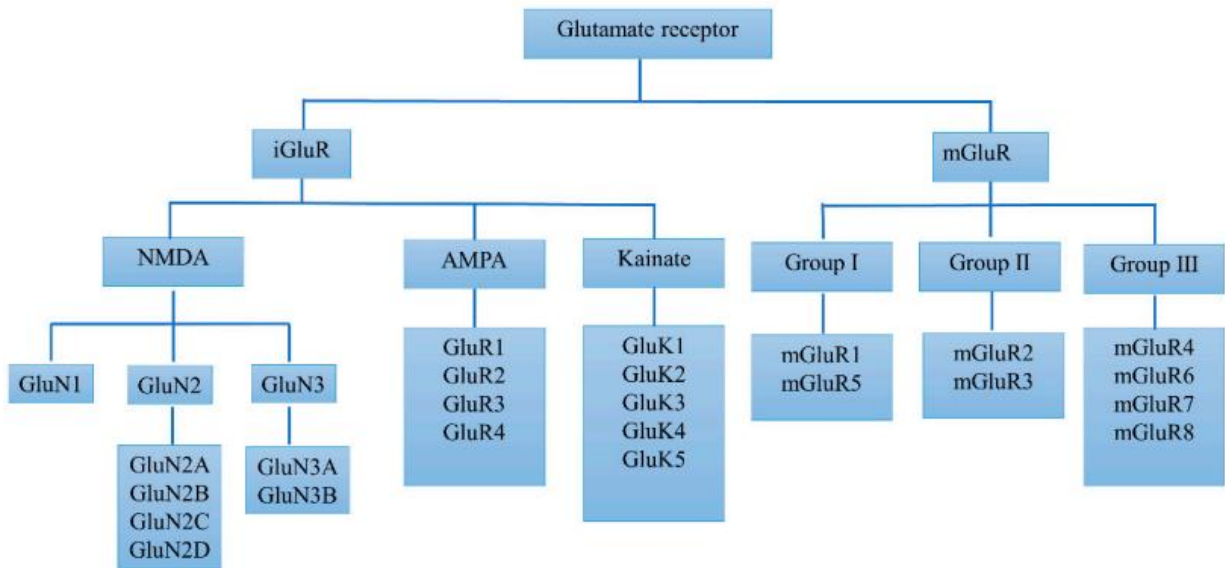


Рис. 1.1 Класифікація глутаматних рецепторів [7]

iGluR є мультимерними іонними каналами та відповідають за швидку передачу збудження в ЦНС. Завдяки зв'язуванню пресинаптично вивільненого глутамату, iGluR перетворюють сигнали на збудження постсинаптичних нейронів. Цей процес генерує синаптичний струм, важливий для роботи мозку та регулює процес навчання та пам'ять – когнітивні функції. iGlu рецептори класифікують на рецептори N-метил- d - аспартату (NMDA), рецептори  $\alpha$ -аміно-3-гідрокси-5-метил-4-ізоксазолпропіонової кислоти (AMPA) і рецептори каїнату. mGluRs також є членами родини G-білка, посередником повільної глутаматної відповіді, що сприяє довготривалим змінам в синаптичній активності [8]. mGlu рецептори на основі гомологічної послідовності, механізмів передачі сигналу та фармакологічного профілю розділені на три групи, які і собі поділяються на 8 підтипів. У патофізіології

ХП спостерігаються регуляторні та різноманітні зміни глутаматних рецепторів у базальних гангліях. Зміни у глутаматних рецепторах спостерігаються і в процесі ЛІД. Зокрема це стосується збільшується зв'язування з NMDA-рецепторами і зменшується зв'язування з mGlu2/3 рецепторами [9].

Таким чином, розуміння функції глутаматних рецепторів у патофізіології ХП та щодо лікування ХП є пріоритетним напрямком для розробки нових лікарських засобів.

## 1.2. Модулятори іонотропних рецепторів глутамату при лікуванні хвороби Паркінсона

Фармакотерапія ХП через модуляцію глутаматних рецепторів приводить до покращення моторних симптомів хвороби Паркінсона, підвищенню ефективності антипаркінсонічних дофамінергічних агентів і захисту нейронів чорної субстанції.

### 1.2.1 Антагоністи NMDA-рецепторів як антипаркінсонічні агенти

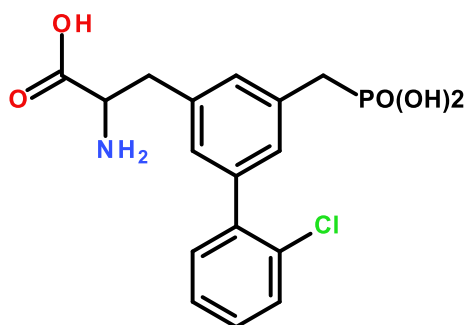
За механізмом впливу на NMDA-рецептори антагоністи поділяють на конкурентні антагоністи – ZDZ 220, неконкурентні антагоністи – дізоцилін, PD 174494, траксопроділ, а також антагоністи гліцинового сайту – MRZ 2/570, L-701,324, 7-хлорокінуренат, (R)-HA-966) [9] (рис. 1.2).

Велика кількість досліджень демонструє, що антагоністи NMDA-рецепторів можуть послаблювати каталепсію та протидіяти паркінсонічній ригідності, індукованих антагоністами дофамінових рецепторів у щурів, а також акінезії та іншим рухових патологій у гризунів із недостатністю моноамінів [10].

Також було доведено, що підпорогові дози антагоністів NMDA-рецепторів виявляють синергізм до антипаркінсонічного ефекту леводопи, 7-нітроіндазолу, опіоїдного глікопептиду - лактоморфіну, а також

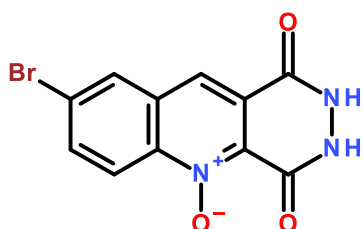
профілактично запобігають появі моторних реакцій, пов'язаних з тривалим застосуванням леводопи як у щурів, так і на моделях ХП у приматів [11].

#### Конкурентні антагоністи

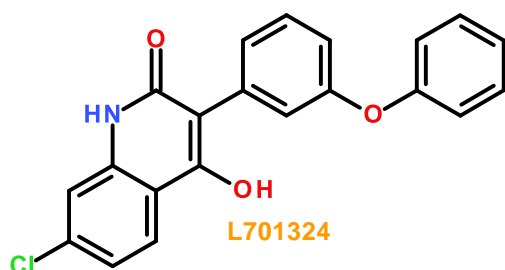


ZDZ-220

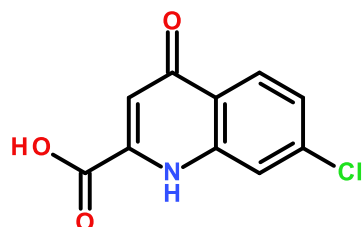
#### Антагоністи гліцинового сайту



MRZ 2/570

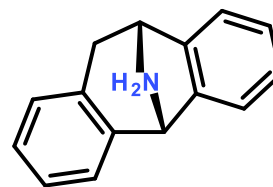


L701324

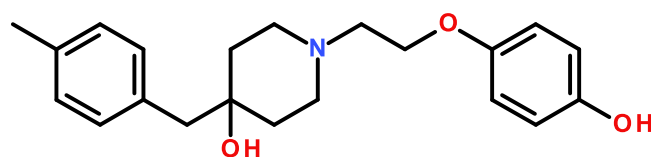


7-Хлорокінуренова кислота

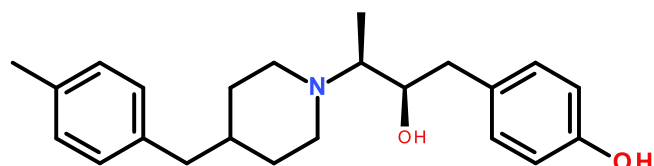
#### Неконкурентні антагоністи



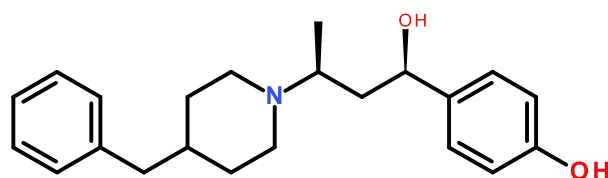
Дізоцилпін



PD174494



Траксопродил



Іфенпроділ

Рис. 1.2. Представники антагоністів NMDA-рецепторів

Одержані дані свідчать, що ці препарати можуть застосовуватися як додаткова терапія для покращення ефективності та переносність дофамінергічної терапії. З іншого боку, значне інгібування цих рецепторів може призвести до різних небажаних побічних ефектів, таких як атаксія, порушення когнітивної функції, навчання та психозу [12]. Все більше досліджень зосереджено на скринінгу препаратів, селективних до однієї з субодиниць NMDA-рецепторів, а саме NR2B, яка переважно експресується в смугастому тілі та інших областях базальних гангліїв [13]. Тому вважається, що ліганди, які цілеспрямовано діють на рецептори, що містять NR2B субодиницю, володіють більш специфічними ефектами щодо ділянок головного мозку, пов'язаних з патофізіологією ХП. Додатково це було доведено на прикладі іфенпроділу та траксопроділу – селективних антагоністів субодиниці NR2B NMDA-рецепторів, які полегшують симптоми ХП та знижують ЛД у гризунів і приматів, уражених МРТР - 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридином [14].

Застосовували також комбіновану терапію селективними антагоністами NR2B з іншими препаратами. Наприклад, комбінація GluN2B-селективного антагоніста - радіпроділу та антагоніста аденозинових рецепторів  $A_2A$  - тозаденапта призвела до значного покращення моторики як у щурів, уражених МРТР [15].

### 1.2.2 Антагоністи АМРА -рецепторів як антипаркінсонічні агенти

Антипаркінсонічні властивості антагоністів АМРА-рецепторів були досліджені та доведені на різних *in vivo* моделях ХП. NBQX – 2,3-дигідрокси-6-нітро-7-сульфамойл-бензо[f]хіноксалін-2,3-діон (рис. 1.2), селективний антагоніст АМРА-рецепторів, пригнічує м'язову ригідність у щурів із виснаженням моноамінів і викликає достовірне покращення моторних функцій у тварин, уражених МРТР [16]. Ще один цікавий висновок щодо спільного введення антагоністів АМРА-рецепторів, зокрема NBQX, з

леводопою продемонстрував синергізм їх дії з покращенням симптоматики паркінсонізму у щурів, уражених 6-ОНДА (6-гідроксидофамін) та МРТР.

### Антагоністи АМРА-рецепторів

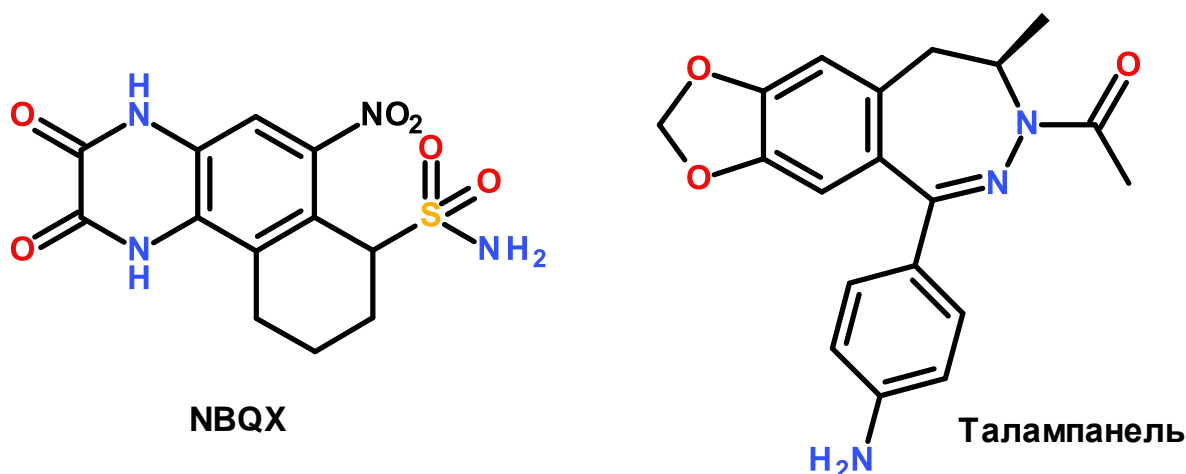


Рис. 1.2. Антагоністи АМРА-рецепторів

Це свідчить про те, що антагоністи АМРА-рецепторів можна використовувати як ад'юванти леводопи для підвищення ефективності лікування. До того ж розвиток ЛІД сприяє експресії та активації АМРА-рецепторів, тому їх блокування може полегшити ЛІД-терапію [17]. Наприклад, після введення неконкурентного антагоніста АМРА-рецепторів - талампанелю мавпам, які отримували лікування леводопою і були уражені МРТР, рухова активність потенціювалася, а ЛІД знижувалися [18].

### 1.3. Модулятори метаботропних рецепторів глутамату при лікуванні хвороби Паркінсона

Щодо ролі метаботропних рецепторів глутамату у корекції симптомів паркінсонізму повідомлялося, що mGluR5 рецептори ефективно інгібуються серією похідних фенілпіридину: МРЕР – (2-метил-6-(фенілетиніл)-піридин, МТЕР – 3-[(2-метил-1,3-тіазол-4-іл)етил]піридин, мавоглюрант, фенобам та діпраглюрант (рис. 1.3) [19]. Відповідно до цієї гіпотези серією експериментів було доведено, що ці антагоністи виявляють антипаркінсонічні ефекти на різних *in vivo* моделях ХП. МРЕР, зокрема, полегшив ЛІД у щурів, уражених 6-ОНДА [20].

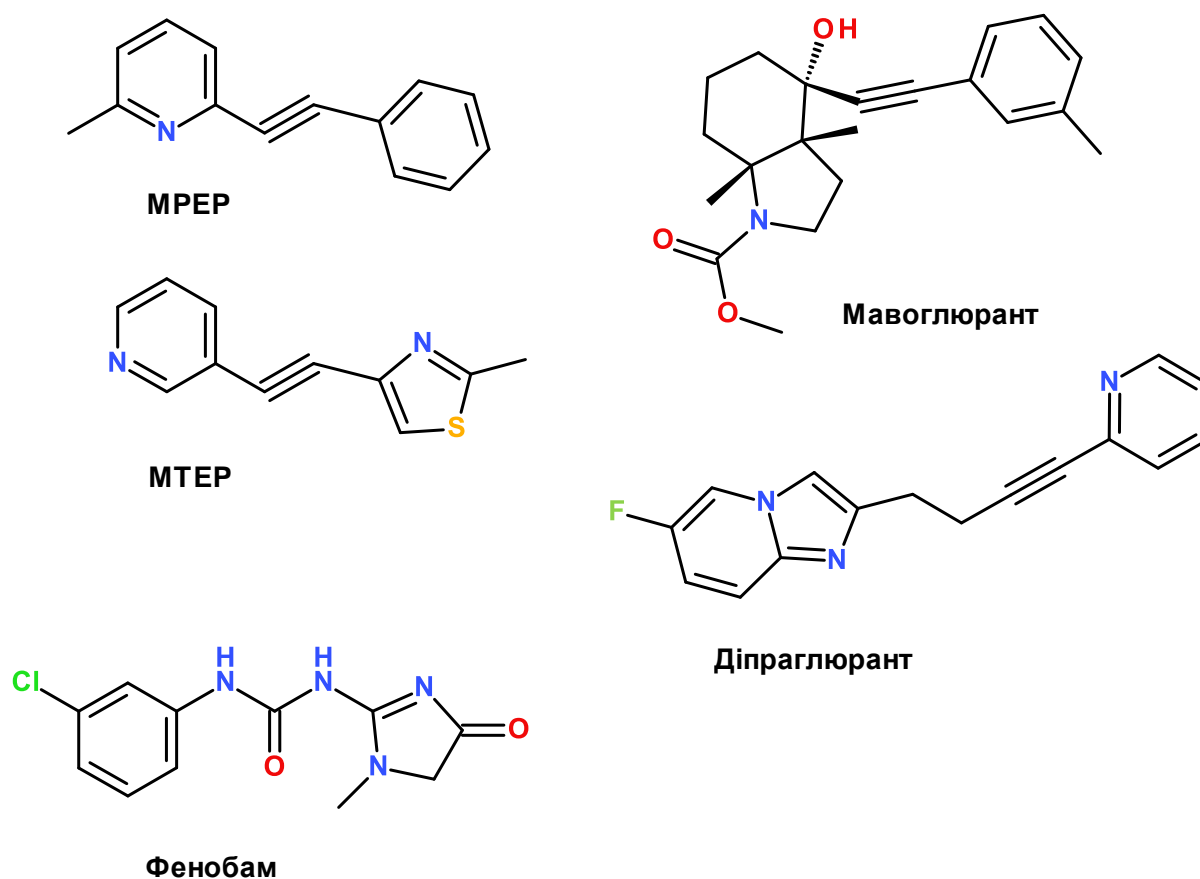


Рис. 1.3. Антагоністи mGluR5 рецепторів

Сполука МТЕР, має більшу розчинність, ніж МРЕР, що суттєво зменшує дегенерацію катехоламінергічних нейронів у мавп, які отримували МРТР, і покращує ЛІД у моделі ХП у макак, уражених МРТР [19]. У сукупності дані, отримані на моделях гризунів і мавп, свідчать, що антагоністи mGluR5 є потенційними лікарськими засобами для зменшення дегенерації моноамінергічних нейронів при ХП. Комбінація менших доз МРЕР і антагоніста NMDA-рецепторів МК-801 скасовувала моторний дефіцит у щурів, уражених 6-ОНДА, що підтверджує доцільність одночасного блокування mGluR5 та NMDA рецепторів для сприятливого лікування ХП [21]. Також визначено, що мавоглюрант може збільшити антипаркінсонічну тривалість леводопи у мавп, уражених МРТР [22].

На відміну від mGluR5, менше досліджень було зосереджено на оцінці mGluR1 рецепторів як потенційних мішеней для антипаркінсонічної дії. У

дослідженні, яке порівнювало ефективність антагоніста mGluR5 МТЕР і антагоніста mGlu1 – EMQMCM – (3-етил-2-метилхінолін-6-іл)-(4-метоксициклогексил)метанонметансульфонат на різних моделях ХП, продемонстровано, що саме МТЕР, а не EMQMCM, пригнічує розлади, спричинені леводопою, і полегшує симптоми ЛД. Це свідчить про те, що модуляція mGlu1 рецепторів не може бути ефективною мішенню для симптоматичного лікування ХП [23].

У вчених немає єдиного висновку щодо точних механізмів нейропротекторних ефектів, спричинених антагоністами mGlu5 рецепторів. Є дані, що селективні агоністи або позитивні алостеричні модулятори групи II mGluR рецепторів можуть сприяти лікуванню ХП через їхнє пресинаптичне зниження передачі глутамату, яка надмірно стимулюється в моделях ХП. Згідно з цією гіпотезою, агоністи mGluR2/3 – LY379268 – (S)-(+)-альфа-аміно-4-карбокси-2-метилбензолотова кислота, послаблювали акінезію на *in vivo* моделях привведенні фенциклідину та амфетаміну [24]. Відповідно до цих спостережень було доведено, що агоністи II групи mGlu рецепторів – LY379268 та 2R,4R-APDC – демонструють нейропротекторну дію через зменшення ступеня токсичності в 6-ОНДА-уражених гризунів на моделі ХП [25].

Подібно до результатів для II групи mGlu рецепторів, накопичення експериментальних даних свідчить про те, що активація рецептора mGlu4 може бути корисною для лікування ХП. Системне або внутрішньоплевральне введення агоніста mGluR4, а саме PHCCC – феніл-7-(гідроксіаміно)циклопропа[b] хром-1а-карбоксаміду, сприяло зниженню рівня токсичності, індукованого МРТР у мишей (рис 1.4). Це підтверджує потенціал селективної активації mGluR4 як терапевтичної стратегії для лікування ХП [26]. Крім того, mGluR4-позитивний алостеричний модулятор VU0364770 потенціює моторну стимуляцію підпорогової дози L-ДОФА у щурів, уражених 6-ОНДА [27].



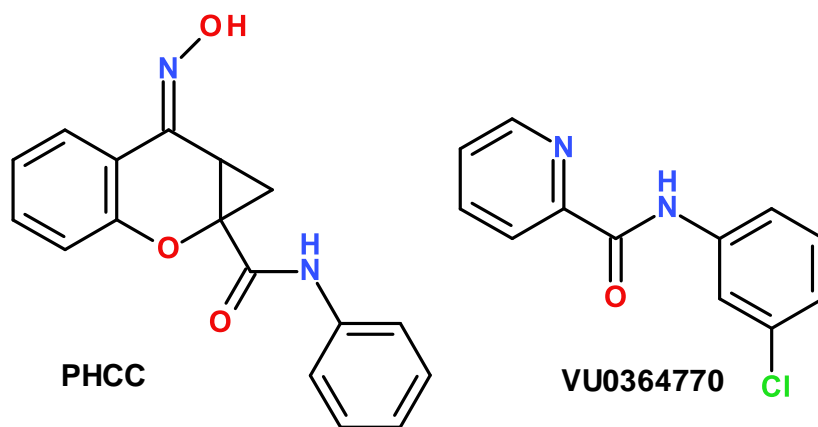


Рис. 1.4 Позитивні алостеричні модулятори mGlu4 рецепторів

На відміну від mGlu4 рецепторів, дослідження антипаркінсонічних і нейропротекторних властивостей інших підтипів III групи mGluR обмежені. Підсумовуючи вищезазначене, можна стверджувати, що підтипи селективних агоністів III групи mGluR слід розглядати як потенційні мішені для лікування ХП.

### Висновки до розділу 1:

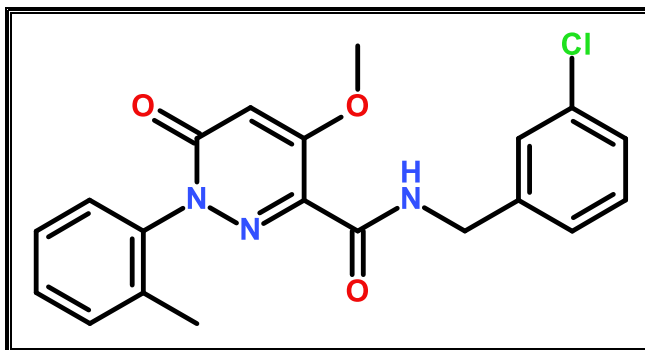
Було розглянуто епідеміологію, патогенез та напрямки фармакокорекції хвороби Паркінсона. Проаналізовано будову та особливості модуляції метаботропних та іонотропних рецепторів глутамату різними лігандами. Проведено літературний аналіз та вивчено структуру модуляторів глутаматних рецепторів різних підтипів, визначено пріоритетні таргети для подальшого віртуального скринінгу перспективних антипаркінсонічних агентів.

## РОЗДІЛ 2

### ВИЗНАЧЕННЯ АФІННОСТІ ПОХІДНОГО 5-МЕТОКСИ-2-(2-МЕТИЛФЕНІЛ)ПІРИДАЗИН-3-ОНУ ДО МЕТАБОТРОПНИХ РЕЦЕПТОРІВ ГЛУТАМАТУ

Перспективність дослідження сполук щодо модуляції метаботропних mGlu рецепторів як потенційних антипаркінсонічних агентів, була доведена ще в 2003 [28] і продовжує бути актуальною і зараз [7].

Об'єкт дослідження – похідна 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону, загальної формули 2.1 – була синтезована під керівництвом доктора хімічних наук професора кафедри органічної хімії Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна С.М. Коваленка



#### 2.1. Визначення афінності похідної піридазину до I групи метаботропних рецепторів глутамату

Оцінку афінитету похідної **2.1** до активного сайту I групи метаботропних рецепторів глутамату проводили в рецептор типу mGlu 5 (PDB ID 6FFH). Кристалічна структура трансмембранного домену рецептора mGlu5 в закритій конформації з негативним алостеричним модулятором – мавоглурантом – в активному сайті була визначена у 2014 р. [29]. Мавоглурант пройшов 2 фазу клінічних випробувань щодо лікування дискінезії, індукованою леводопоєю. Однак, компанія Новартіс припинила його через невтішні результати випробувань щодо побічних ефектів. Тому афінитет похідної піридазину **2.1** до активного сайту трансмембранного домену mGlu5 [5] визначали у порівнянні з іншим антагоністом – фенобамом. Структури відомих негативних

алостеричних модуляторів mGluR5 та досліджуваної похідної, з виділенням фармакофорних фрагментів, наведено на рис. 2.1.

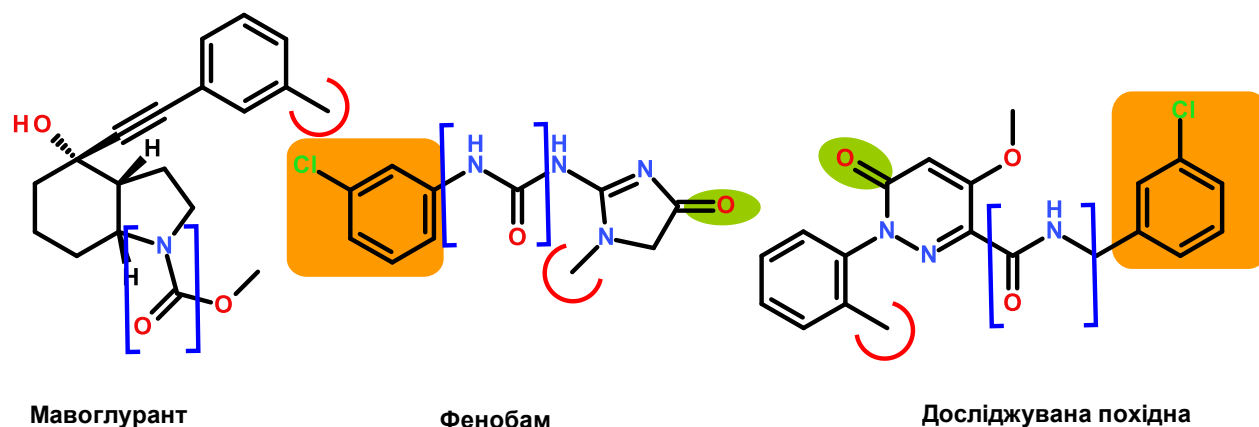


Рис. 2.1 Структура антагоністів mGluR5.

Трансmemбранний домен рецептора mGlu5 (PDB ID 6FFH) складається із семи трансmemбранних  $\alpha$ -спіралей (рис. 2.2).

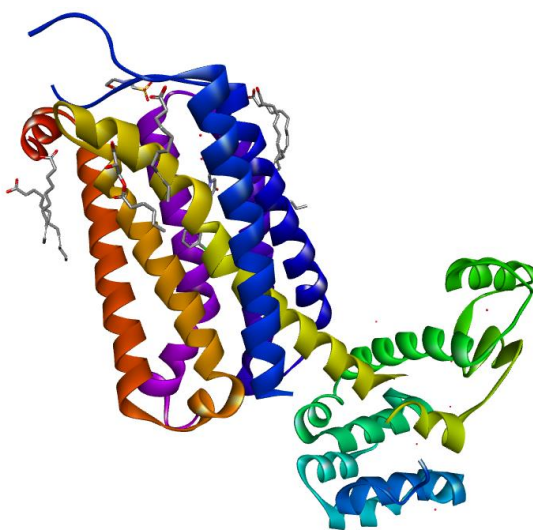


Рис. 2.2 3D Структура mGlu5 з негативним алостеричним модулятором фенобам в активному сайті [5]

Конфігурація спірального пучка разом із позаклітинними петлями сильно обмежують вхід в кишеню зв'язування, що зумовлює її відносно невеликі розміри - радіус входу близько  $\sim 7 \text{ \AA}$ . До того ж сам алостеричний сайт знаходиться на відстані близько  $8 \text{ \AA}$  від поверхні рецептора і є досить вузьким гідрофобним простором [5]. Такий розмір входу в кишеню та

розташування активного сайту визначає необхідність невеликого розміру ліганду та може погіршити значення скорингових функцій під час проведення докінгу.

За експериментальними даними [5, 29] основну гідрофобної кишені активного сайту фенобаму утворюють залишки: валіну (Val806), метіоніну (Met802), триптофану (Trp785), фенілаланіну (Phe788), лейцину (Leu741), ізолейцину (Ile651), аспарагіну (Asn747), проліну (Pro655) та гліцину (Gly652). Потужна фіксація фенобаму відбуваються між залишками аланіну (Ala810) та проліну (Pro655), з границею з залишком ізолейцину (Ile625), гліцину (Gly624), серином (Ser654 та 658) з одного боку та з тирозином (Tyr659) – з іншого. Гідрофобна взаємодія відбувається з серином (Ser 809), тирозином (Tyr659), проліном (Pro 655), валіном (Val806), При оцінці відтворюваності методології докінгу в mGluR5 нативного ліганду, вдалося досягти відповідної конформації та задовільного значення скорингової функції, яка для фенобаму склала -8.7 ккал/моль. Як видно на рис. 2.3 фенобам повністю занурився у вузьку гідрофобну щілину активного сайту та утворив стійку конформацію, вступивши у гідрофобну взаємодію. Конформація додатково стабілізується водневими зв'язками, зокрема з гідроксильними групами серину і тирозину (Ser809, Tyr659), що відповідає даним літератури [5].

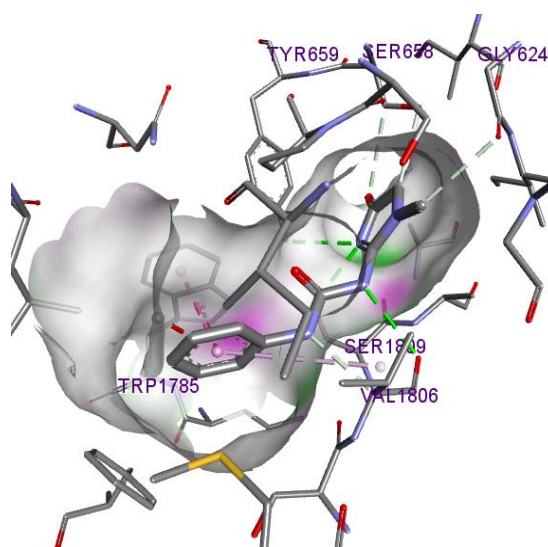


Рис. 2.3 3D візуалізація конформації фенобаму в активному сайті mGluR 5 рецептора

Деталізація взаємодій наступна: 3-хлорфенільний радикал зв'язується з триптофаном і валіном ( Trp 785, Val 806), амідний фрагмент – з серином та валіном (Ser 809, Val 806) – карбонільна група серином (Ser 658), а метильна – з гліцином (Gly 624) (рис. 2.3). Крім того, з тирозином, серином та валіном спостерігаються водневі зв'язки (Tyr 659, Val 806, Ser 658).

Таблиця 2.1

**Результати докінгу похідної 2.1 та референс-лігандів в активні сайти метаботропних рецепторів глутамату**

Рецептор	Енергія зв'язування ккал/моль	Гідрофобна взаємодія	Гідрофільне взаємодія	Інші взаємодії	Нативний ліганд
<b>Метаботропні глутаматні рецептори</b>					
I група mGluR 5	-6.8	Tyr659*, Pro655*, Leu752, Leu786, Val789(2), Cys782, Val741, Leu744	Ser 658*, Trp785*, Gly1748	Cys782, Pi-Sulfur	-8.7 (Phenobam)
II група mGluR3	-3.9	Tyr150*, Pro329	Asp334	Glu385Pi-anion	-8.2(Ly354740)
II група mGluR2	-0.5	Arg271, Tyr144*, Pro39, Arg57, Arg271	Arg57, Ser145*, Ser167, Gly214, Ala166*	Glu213 (Hal), Arg57, Arg271, Pi-Cation	-7.9 (Ly354740)
III група mGluR8	-8.3	Tyr227*, Ala155(4)*, Ala154(2), Arg108, Arg255(2), Ala177*, Lys57, Arg108	Ser156*, Ser157(3), Ser310, Ser223, Glu224		-6.1 (LAP-4)

Візуалізація результатів докінгу похідної піридазину в активний сайт mGluR 5 рецептора (рис. 2.4) демонструє не здатність ліганда повністю зануритися в гідрофобну кишеню активного сайту. Відносно глибоке розташування активного сайту від поверхні білка призвело до гідрофобної фіксації досліджуваного ліганду лише на вході в активний сайт. Фактично лише 3-хлорметилфенільний фрагмент досяг поверхні активного сайту і вступив у гідрофобну взаємодію з 4-гідроксифенільним радикалом тирозину

(Tyr 659) і піролідиновим кільцем проліну (Pro655). Водневі зв'язки утворені із серином і триптофаном.

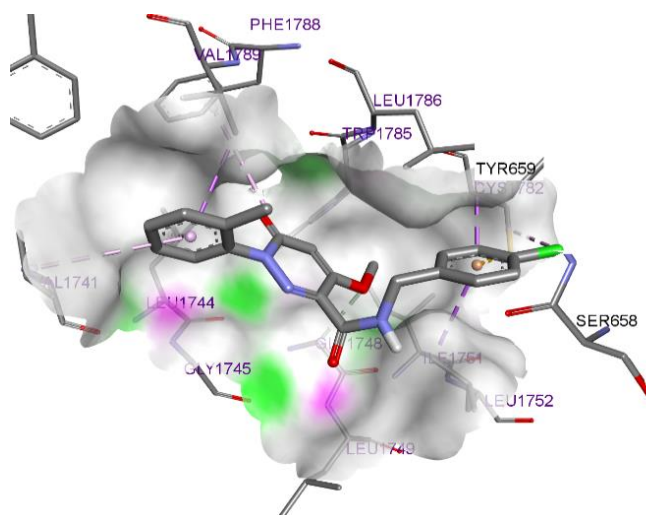


Рис. 2.4 3D візуалізація конформація похідної 2.1 в активному сайті mGlu5

На рис. 2.5 при спільному зануренні похідної 2.1 (жовта) і нативного ліганду (сірий) добре видно, що лише хлорфенільні фрагменти обох молекул розташовуються максимально близько один до одного і, судячи з амінокислотної взаємодії, знаходяться в активному сайті.

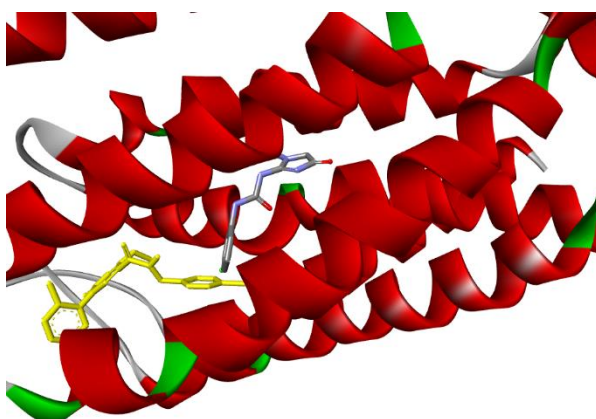


Рис. 2.5. Конформація фенобаму (сіра молекула) та похідної 2.1 в активному сайті рецептора mGluR 5

Вірогідно, ця взаємодія і зумовила значення енергії зв'язування сполуки 2.1 -6.8 ккал/моль, що значно вище за цей показник у фенобаму -8.7 ккал/моль. Основна частина молекули похідної 2.1 залишається у вхідному просторі до

активного сайту. Характеристика всіх зв'язків представлена у табл. 2.1. Підсумовуючи отримані дані, можна стверджувати про низьку афінність похідної 2.1 до сайту зв'язування негативних алостеричних модуляторів метаботропних глутаматних рецепторів 5 підтипу I групи (mGluR 5).

## 2.2 Визначення афінності похідної піридазину до II групи глутаматних рецепторів

На наступному етапі досліджено спорідненість сполуки 2.1 до активного сайту II групи глутаматних метаботропних рецепторів 2 підтипу – mGluR2. Як референс-ліганд використовували алостеричний агоніст рецепторів mGlu2/3 – (1S,2S,5R,6S)-2-амінобіцикло[3.1.0]гексан-2,6-дикарбонову кислоту (LY354740) [30-32].

Рекомбінантний білок аміно-термінального домену mGlu3 в конформації с LY354740 – PDB ID 4XAR – з макроскопічної точки являє собою замкнуту топологію, де верхня (LB1) і нижня (LB2) долі білка тісно пов'язані з лігандом у так званій шарнірній зоні (рис. 2.6 а) Зв'язування агоніста індукує процес з'єднання долей білка, що, своєю чергою приводить до відкриття каналу та активації рецептора.

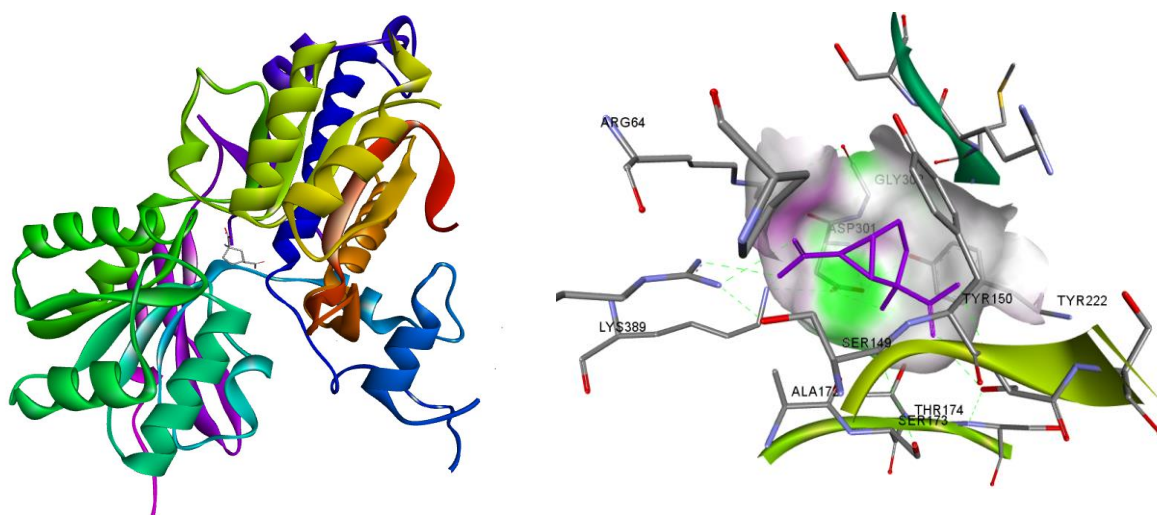


Рис. 2.6. а) 3D макроскопічна б) 3D візуалізація активного сайту структура mGlu3 з алостеричним mGluR3 з лігандом LY354740 агоністом – LY354740 [33] (фіолетовий)



Візуалізація експериментально встановленої взаємодії та зображення гідрофобної кишені представлено на рис. б. Характеризуючи сайт зв'язування mGluR3 слід відзначити досить просторий вхід у кишеню зв'язування, переважна більшість водневих взаємодій, серед яких тетраедрична мережа зв'язків аміногрупи ліганду з карбоксильними групами аланіну (Ala172) та аспарагіну (Asp301), і гідроксилом треоніну Thr 174. Участь у фіксації амінокислотних залишків обох долей білка та можливість конформаційної рухливості ліганду. Амінокислотами сайту зв'язування за літературними даними є [33]:

- ✓ верхня доля (LB1) - лізин (Lys389), треонін (Thr174), аланін (Ala172), аргінін (Arg68), серин (Ser 151) - беруть участь в утворенні водневих зв'язків; тирозин (Tyr222) – гідрофобні зв'язки;
- ✓ нижня доля (LB2) – тирозин (Tyr150) та аспарагінова кислота (Asp301)

Здатність використовуваного алгоритму докінгу відтворювати експериментальні дані продемонстрована на рис. 2.7.

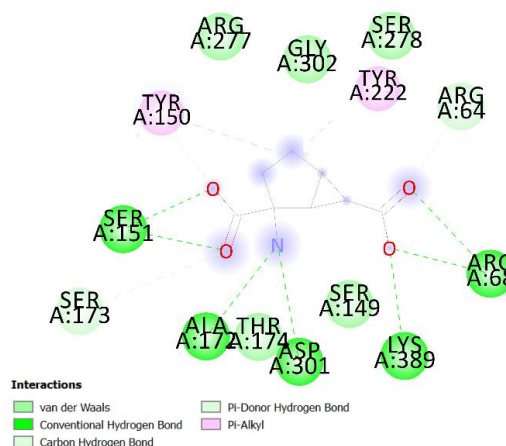


Рис. 2.7 Референс взаємодія Lu354747 з амінокислотами активного сайту mGlu3 рецептора.

Розташування ліганду та всі взаємодії відповідають експериментальним даним. За винятком відсутності водневого зв'язку з треоніном (Thr174). Однак його близьке розташування свідчить про відповідність розташування ліганду в активному сайті. Успішність методики також підтверджується низьким значенням енергії зв'язування нативного ліганду -8.2 ккал/моль.



За результатами молекулярного докінгу похідної 2.1 в активний сайт агоніста mGlu3 II групи спрогнозовано дуже низький афінитет і, відповідно, високе значення енергії зв'язування – -3.5 ккал/моль. Таке незадовільне значення скорингової функції щодо референс-препарату (-8.2 ккал/моль) стає зрозумілим відразу після візуалізації спільної конформації досліджуваних лігандів (рис. 2.8а).

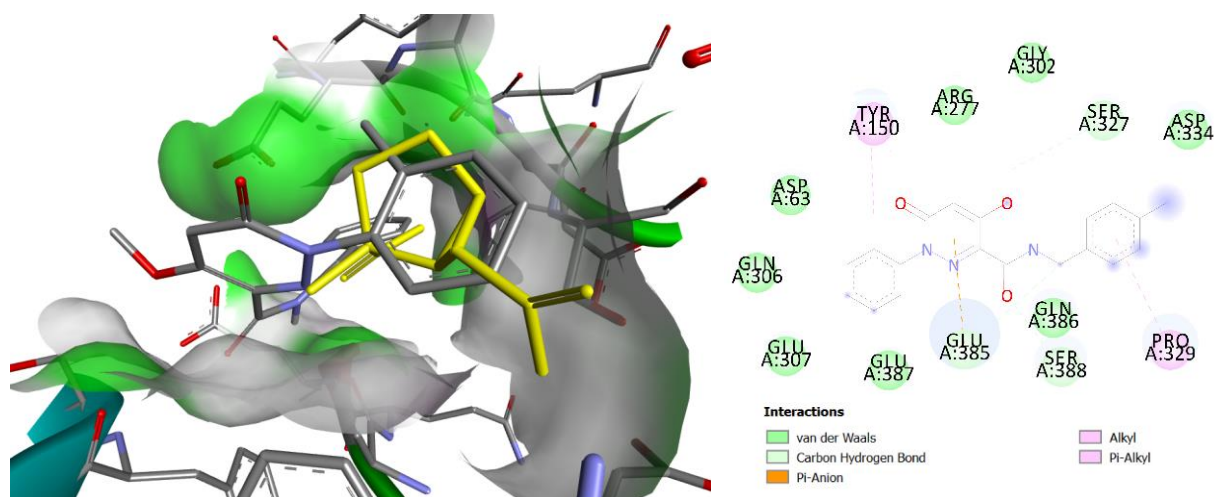


Рис. 2.8 а) 3 D візуалізація сумісної конформації похідної 2.1 (сіра молекула) та LY 354740 (жовта молекула) – агоніста mGlu 2/3 рецептора

б) 2 D візуалізація взаємодії похідної 2.1 з амінокислотними залишками mGlu3

Спостерігалось фрагментарне розташування похідної 2.1 в активному сайті, а саме занурення лише 2-метилфенільним фрагментом, тоді як основна частина молекули залишалася поза кишенею зв'язування. Серед амінокислот, які є експериментально визначеними залишками активного сайту, лише 4-гідроксифенільний фрагмент тирозину (Tyr 150) утворює гідрофобний зв'язок з метильною групою піридазинового циклу (табл.2.1, рис. 2.8б). Аргінін (Arg 277) і гліцин (Gly 302) знаходяться поруч через їх розташування в ланцюзі, але не вступають у взаємодію з групами досліджуваного ліганда.

Попри те, що mGlu 2 і mGlu 3 були кластеризовані разом у II групу mGlu рецепторів за схожістю гомології структури, загальних механізмів передачі сигналу, активації та інгібування, переліку селективних лігандів, все ж таки ці

семи-спіральні трансмембранні білки мають деякі особливості чутливості до глутамату та по-різному експресуються в ЦНС і регулюють різні фізіологічні процеси [34].

Для остаточного розуміння афінності похідної 2.1 до алостеричних сайтів зв'язування агоністів II групи метаботропних рецепторів також було здійснено докінг в рецептор mGlu2 – PDB ID 4XAQ. Референс-препарат був аналогічний mGlu 2 рецептору – (1S, 2S, 5R, 6S)-2-амінобіцикло[3.1.0]гексан-2,6-дикарбонова кислота (LY354740) [31, 35], оскільки ця речовина є доведеним агоністом рецепторів двох підтипів mGlu2/3. Сайти зв'язування цих рецепторів відрізняються лише двома амінокислотними залишками, а саме: аспарагінова кислота (Asp279) та глутамін (Gln306) у рецепторі mGlu3, а в рецепторі mGlu2 – глутамінова кислота (Glu270) та лейцин Lys377.

Відтворюваність результатів експериментальних даних при ре-докінгу референс-препарату проілюстрована на рис. 2.9а

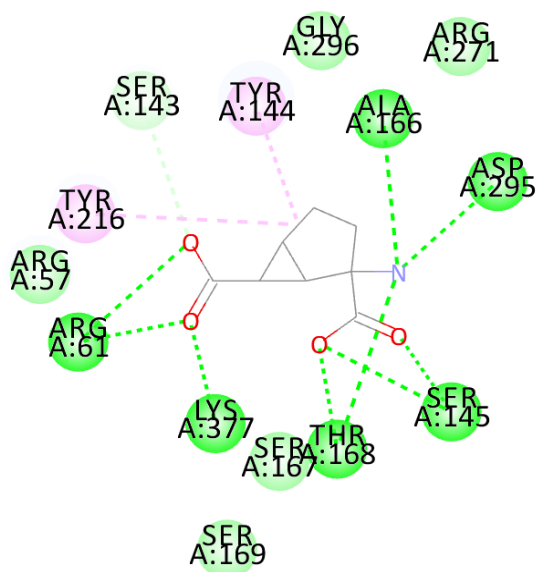
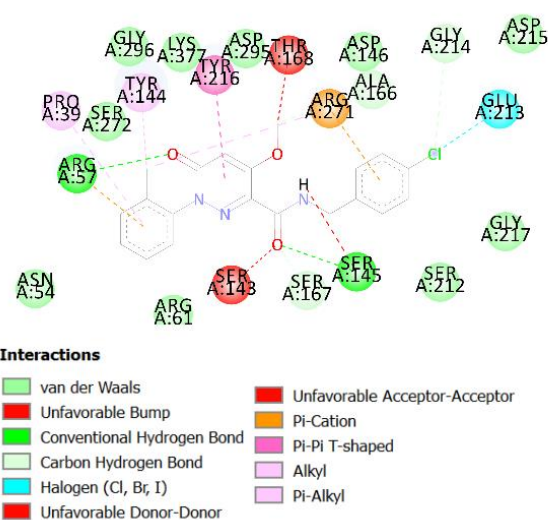


Рис. 2.9 а) 2D візуалізація ре-докінгу Ly354747 у mGlu2 рецептор



б) 2D візуалізація взаємодії похідної 2.1 з mGlu2 рецептором

Результати докінгу похідної 2.1 виявилися дуже несподіваними, оскільки енергія зв'язування з активним сайтом mGluR 2 складала -0.5 ккал/моль,

тоді як у референс-ліганду даний показник склав  $-7.9$  ккал/моль. Попри повне та глибоке розміщення досліджуваного ліганда в кишені активного сайту (рис. 2.10) (на відміну від кишені рецептора mGluR3) для нього прогножуються три несприятливі взаємодії, що і призвело до незадовільного значення скорингової функції (рис. 2.9б).

Крім того, аналізуючи характер взаємодії похідної 2.1 в активному сайті слід зазначити, що серед безлічі прогнозованих зв'язків, всього три відбуваються з експериментально встановленими залишками амінокислот: тирозином, серином і аланіном (табл. 2., рис. 2.11). Довжина гідروفобної взаємодії між метильною групою піридазинового циклу та фенільним кільцем тирозину становила  $5,34 \text{ \AA}$ , що свідчить про її нестабільність.

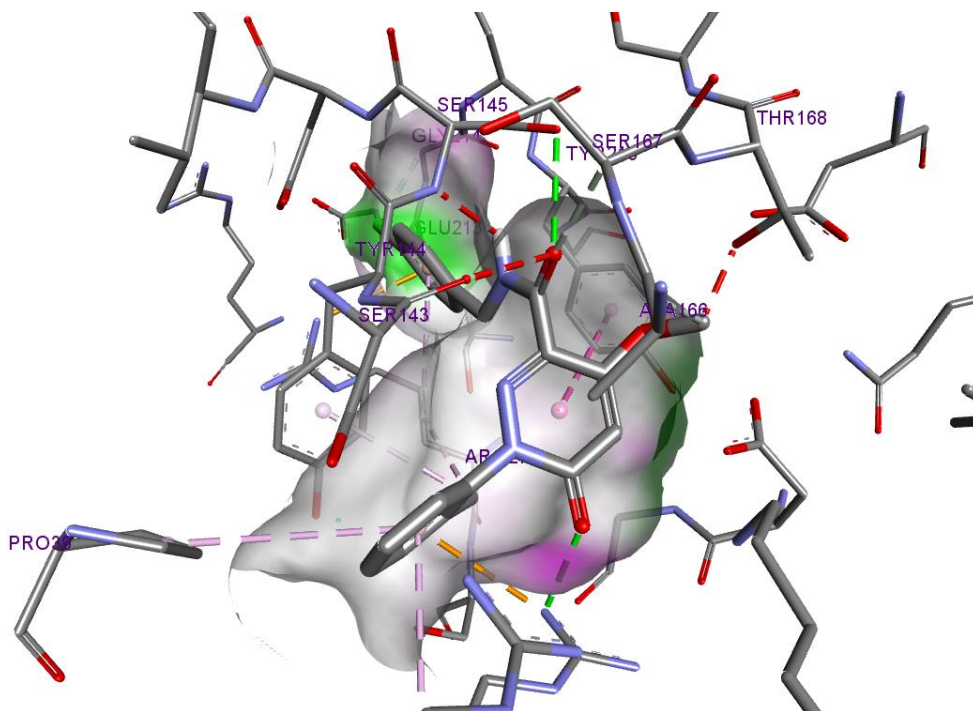


Рис. 2.10 3D візуалізація взаємодії похідної 2.1 з амінокислотами активного сайту mGlu2 рецептора

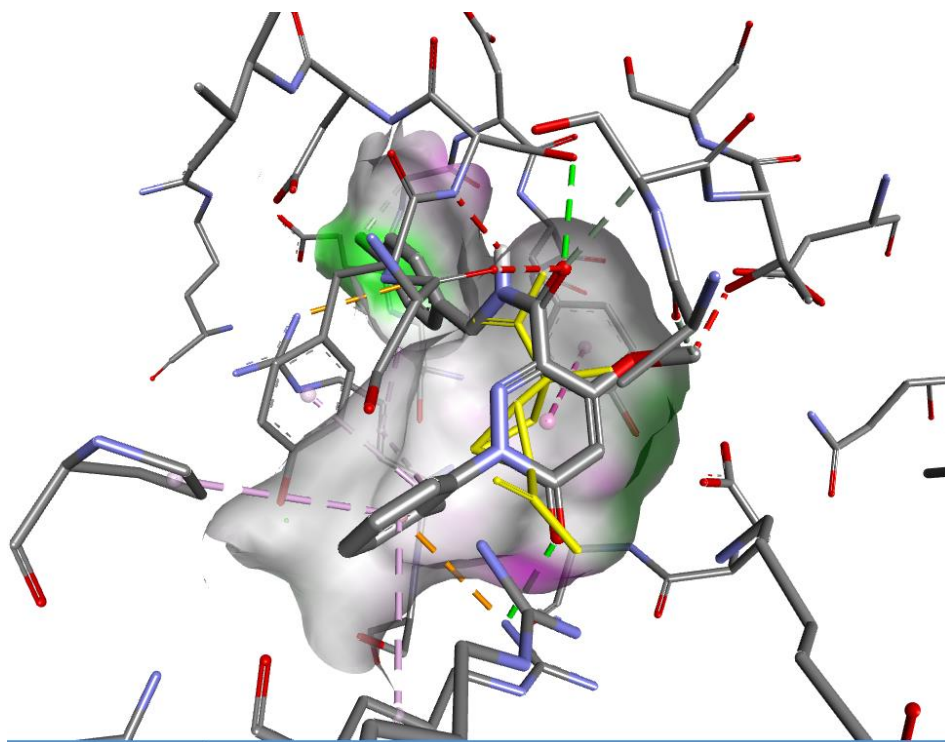


Рис. 2.11 3D Конформація похідної 2.1 (сіра молекула) та агоніста mGlu 2/3 рецептора LY 354740 (жовта молекула) в активному сайті mGlu2 рецептора

Підсумовуючи сказане вище, прогнозується низький афінитет похідної 2.1 до алостеричних сайтів зв'язування агоністів II групи метаботропних рецепторів людини mGlu 2 та mGlu 3.

### 2.3. Дослідження афінності похідної піридазину до III групи рецепторів глутамату

Першим лігандом, що виявляє сильний селективний агонізм до III групи mGlu рецепторів, але водночас не володіє селективністю до окремих підтипів III групи mGlu рецепторів, є L-2-аміно-4-фосфономасляна кислота (L-AP4). Вперше ця речовина була описана ще в 1997 р. [36]. Кристалічна структура рекомбінантного аміно-термінального домену людини mGlu8 у комплексі з селективним агоністом L-AP4 була виділена та описана лише у 2018 – PDB ID 6BT5. На жаль, наразі кристалічна структура закритих конформацій з агоністами інших підтипів III групи mGlu рецепторів – mGlu4, mGlu6, mGlu7 не визначена. Однак є дані про значну схожість амінокислотної послідовності

активних сайтів III групи mGlu рецепторів, що, відповідно, певною мірою дозволяє прогнозувати афінитет до всіх рецепторів даної групи.

Аміно-термінальний домен mGlu8 рецептора складається з двох несиметричних протомерів, які утворюють гомодимер (рис. 2.12) [36]. Центром зв'язування селективного агоніста L-AP4 є шарнірна область білка, розташована між комплементарними глобулами (LB1/LB2), які з'єднані між собою трьома короткими петлями.

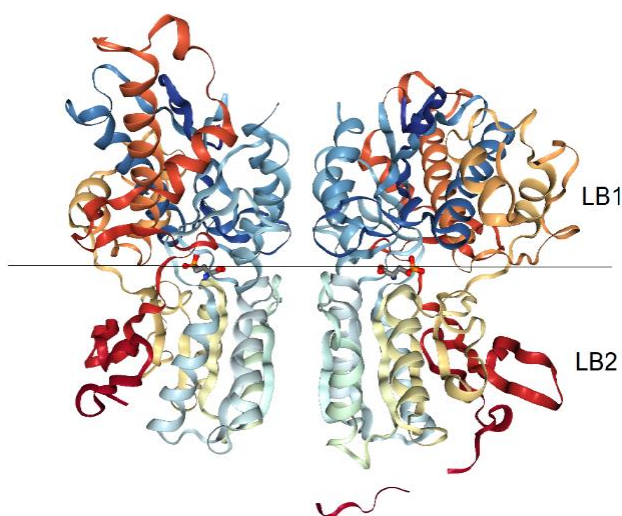


Рис. 2.12 3D структура mGlu8 рецептора з агоністом L-AP4 в активному сайті [36].

Експериментально визначеними та описаними в літературі амінокислотними залишками, які беруть участь у фіксації агоніста L-AP4 є: дві молекули аланіну (Ala 155, 177), серин (Ser156), треонін (Thr179) з верхньої долі протомера (LB1), тирозин, аспарагінова кислота (Asp309) – із нижньої долі LB2. Автори стверджують, що магістральними взаємодіями, які можуть відповідати за селективність L-AP4 до mGlu8, є іонні взаємодії фосфату з утворенням сольових містків з залишками лізину (Lys71,401), аргініну (Arg75) (LB1), а також його воднева бідентатна взаємодія з лізином (Lys314) – верхня доля LB2.

У цьому дослідженні при докінгу референс-ліганда L-AP4 в активний сайт mGlu8 аміно-термінального домену енергія зв'язування склала -6.1



ккал/моль. Візуалізація результатів докінгу (рис. 2.13) демонструє майже повну відповідність одержаної конформації L-AP4/mGlu8 з експериментально визначеними даними: характерна тетраедрична мережа водневих зв'язків між аміногрупою ліганду та гідроксилом треоніну (Thr179), карбонілом аспарагіну (Asp309), а також усі сольові містки між фосфатом. Винятком став водневий зв'язок із молекулою води, оскільки методологія докінгу передбачає видалення молекул води із макромолекули білка.

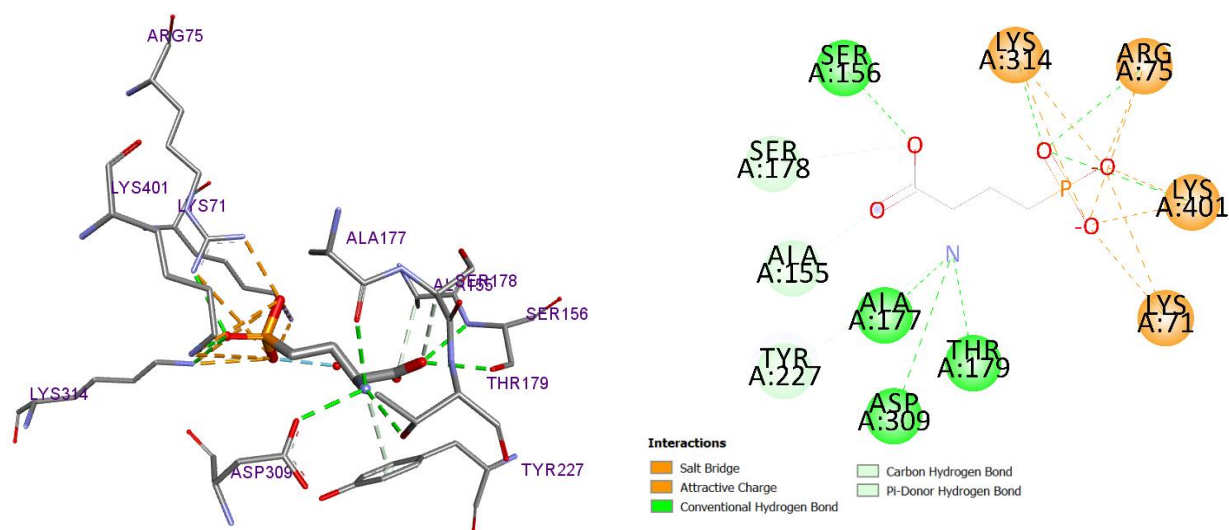


Рис. 2.13 3D та 2D взаємодія L-AP4 з амінокислотами сайту зв'язування mGlu8.

Енергія зв'язування нативного ліганду становила -6.1 ккал/моль.

Результатом молекулярного докінгу похідної 2.1 в активний сайт селективного агоніста mGlu8 рецептора став високий рівень афінності — енергія зв'язування -8.3 щодо -6.1 ккал/моль у референс-ліганду.

Конформація похідної 2.1 щодо конформації LAP-4 в активному сайті mGlu8 візуалізовано на рис. 2.14 Попри значно більші розміри молекули сполуки 2.1, він ідеально увійшов до кишені в тій же площині.

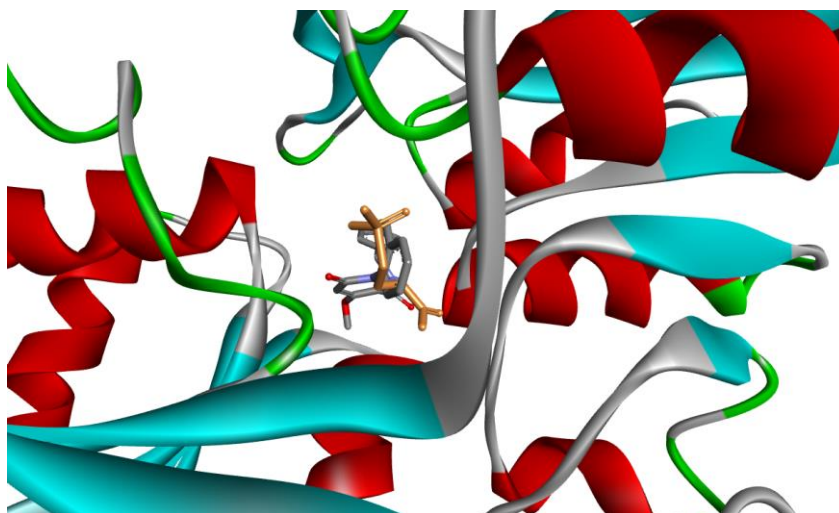


Рис. 2.14 Сумісна конформація похідної 2.1 (сіра) та LAP - 4 (помаранчева) в активному сайті mGlu 8 рецептора

Про стабільність конформації ліганда 2.1 свідчить значна кількість гідروفобних взаємодій – 13, які охоплюють усі фрагменти молекули та обидві долі білка – LB 1 та LB 2 (рис. 2.14). Шість водневих зв'язків, з довжиною від 1.73 до 3.23 Å, додатково фіксують і стабілізують положення ліганда 2.1 в порожнині кишені зв'язування (рис. 2.15).

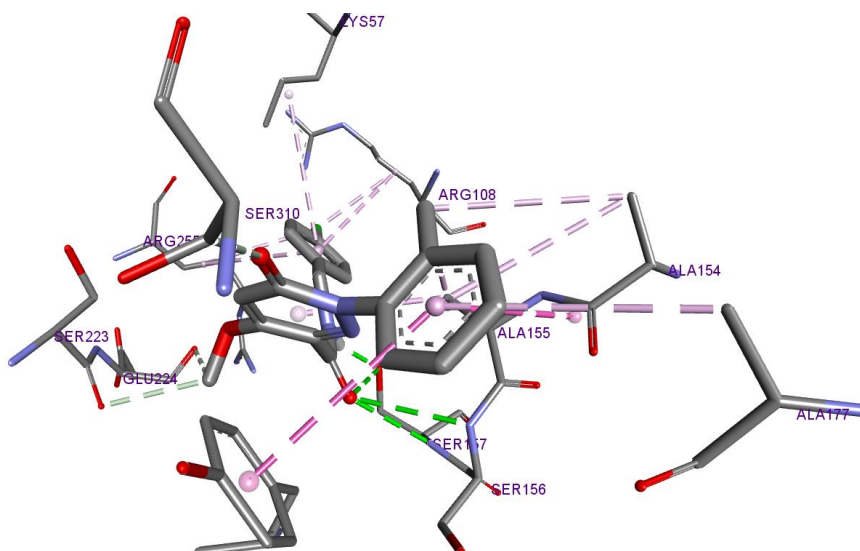


Рис. 2.15 3D та 2D взаємодія похідної 2.1 з амінокислотами сайту зв'язування mGlu8 рецептора. Гідрофільна взаємодія – зелені пунктирні лінії, гідروفобна – фіолетові, Ван-дер-Ваальсовий контакт – без ліній.

Серед амінокислот, які є експериментально визначеними залишками активного сайту рецептора, з похідною 2.1 у взаємодію вступають:

- аланін (Ala155) утворює 3 гідрофобні зв'язки з піридазиновим і хлорфенільним фрагментом, а також метильною групою у 2 положенні піридазинового циклу, з нею ж вступає в гідрофобну взаємодію інший залишок аланіну (Ala177); аміногрупа серину (Ser 156) утворює водневий зв'язок з киснем карбоксамідної групи (довжина зв'язку 3,23 Å) – *глобула LB 1*
- 4-гідроксифенільний фрагмент тирозину (Tyr 227) вступає в Pi - Pi гідрофобну взаємодію з 2-метилфенільним фрагментом похідної 2.1. Ван-дер-Ваальсовий контакт із залишками треоніну (Thr 179) та аспарагінової кислоти (Asp 309), а також цілого ряду інших пептидних груп ланцюга, свідчать про стабільність конформації, що утворилася, – *глобула LB 2*

Підсумовуючи одержані дані молекулярного докінгу, можна стверджувати про високу афінність похідної 2.1 до метаботропних глутаматних рецепторів mGluR8 – III групи 8 підтипу. На цей час кристалічна структура амінотермінгальних доменів інших підтипів III групи mGluR – mGlu 4, mGlu 6, mGlu 7 – у закритих конформаціях з агоністами не визначено. Однак, згідно з літературними даними, амінокислотні залишки ліганд-зв'язувальних кишень для III групи mGlu рецепторів практично ідентичні і відрізняються лише двома амінокислотними залишками верхньої частки (LB1) білка: ділянка аланін/лізин (Ala155/ Lys71) у mGlu 8, гліцин/лізин ( Gly 158/Lys74) в mGlu4, аланін/глутамін (Ala153/Gln64) у mGlu6 і гліцин/аспарагін (Gly158/Asn74) – в mGlu 7. Зважаючи на незначні відмінності структури та властивостей аланіну та гліцину, а саме наявності метильної групи біля  $\alpha$ -карбону у аланіну, однакової довжини залишків у структурі пептидного ланцюга, а також не здатності у складі ланцюга до водневої взаємодії, існує значна ймовірність високої афінності похідної 2.1 також до рецепторів mGlu 4 підтипу. Також можлива сполучна здатність активного сайту mGlu6



рецептора, проте різниця в довжині й будові амінокислотних залишків і, відповідно, зв'язувальна здатність лізину-глутаміну (mGlu8-mGlu 6) більш істотна: додаткова  $\text{CH}_2$  в ланцюзі та кінцева аміногрупа у глутаміні, замість амідної групи у лізині, хоча обидві вони здатні брати участь в утворенні водневих зв'язків.

### **Експериментальна частина**

Дослідження афінності до біологічної мішені проводилося за допомогою гнучкого молекулярного докінгу. Як біологічні мішені були використані макромолекули з Protein Data Bank (PDB), які знаходяться у вільному доступі.

Метаботропні рецептори глутамату: mGlu5 - PDB ID 6FFH; mGlu3 - PDB ID 4XAR; mGlu3 - PDB ID 6BT5.

Підготовка ліганду.

Структура речовини 2.1 була отримана з використанням BioviaDraw2021 та збережені у форматі mol. Після цього вони були оптимізовані програмою Chem3D з використанням молекулярно-механічного алгоритму MM2 та збережені у вигляді pdb.файлів. Використовуючи AutoDockTools-1.5.6, pdb.файли були перетворені на PDBQT [37].

Підготовка протеїнів. PDB файли були завантажені з даних банку білка Protein Data Bank (PDB). Discovery Studio V17.2.0.16349 використовувалась для видалення молекул води та ліганду з макромолекули. Структури білків були збережені як файли pdb. У AutoDockTools-1.5.6 були додані полярні водні та збережені як PDBQT. Grid box було визначено щодо нативних лігандів. AutoDock Vina використовувалася для докінгу. Для візуалізації отриманих результатів стикування використовувався Discovery Studio V17.2.0.16349. Гідрофобні взаємодії позначені фіолетовими пунктирними лініями, водневі зеленими.

## Висновки до розділу 2.1

1. Низький рівень афінітету похідної 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону прогнозується:

- до сайту зв'язування негативного алостеричного модулятора I групи mGlu5 рецепторів глутамату: енергія зв'язування склала -6.8 ккал/моль щодо -8.7 ккал/моль у референс-ліганда фенобаму;

- до сайту зв'язування алостеричних агоністів II групи рецепторів глутамату – mGlu2/mGlu3: енергія зв'язування -0.5/-3.5 ккал/моль проти -7.9/-8.2 ккал/моль у нативного ліганду LY354747;

2. Високий рівень афінітету прогнозується до наступних рецепторів:

- до активного сайту алостеричного селективного агоніста III групи рецепторів глутамату – mGlu8 (PDB 6BT5) рецепторів: енергія зв'язування -8.3 щодо -6.1 ккал/моль у референс-ліганду LAP-4, повна конформаційна відповідність взаємодій, що охоплюють усі фрагменти молекули, з амінокислотами активного сайту обох часток білка та додаткова стабілізація конформації водневими зв'язками. Амінокислотні залишки ліганд-зв'язувальних кишень для III групи mGlu рецепторів відрізняються лише двома амінокислотними залишками верхньої частки білка: ділянка аланін/лізин (Ala155/Lys71) у mGlu8, гліцин/лізин (Gly158/Lys74) у m ) у mGlu6 та гліцин/аспарагін (Gly158/Asn74) – у mGlu7. Тому можна припускати високий афінітет і до інших підтипів III групи глутаматних рецепторів.

### РОЗДІЛ 3

## ВИЗНАЧЕННЯ АФІННОСТІ ПОХІДНОЇ 5-МЕТОКСИ-2-(2-МЕТИЛФЕНІЛ)ПІРИДАЗИН-3-ОНУ ДО ІОНОТРОПНИХ РЕЦЕПТОРІВ ГЛУТАМАТУ

Іонотропні рецептори належать до класу тетрамерних ліганд-залежних катіонних каналів. В залежності від ендogenousного ліганду, який селективно активує певний тип рецепторів, вони поділяються на 3 типи: NMDA-рецептори (N-метил-D-аспартату), AMPA-рецептори ( $\alpha$ -амінометилізоксазолілпропіонової кислоти) і кайнової кислоти (КА - рецептор). Науково доведено, що перспективними мішенями для пошуку нових антипаркінсонічних засобів є NMDA-рецептори та дещо меншою мірою AMPA-рецептори. Саме на цих видах рецепторів і ми зосередили наше дослідження.

### 3.1. Визначення афінності похідної піридазину до NMDA- рецепторів глутамату

Оцінку афінності похідної 2.1 до NMDA - рецептора глутамату проводили у макромолекулу білка, який представляє собою комплекс амінотермінальних доменів субодиниць GluN1/GluN2B NMDA-рецептора в закритій конформації з іфенпроділом – PDB ID 3QEL. Іфенпроділ – селективний негативний алостеричний модулятор обох субодиниць (GluN2B/GluN1B) NMDA-рецептора.

Іонотропний NMDA рецептор глутамату являє собою гетеротетрамер двох субодиниць - N1R і N2R, при цьому кожна з субодиниць має класичну ієрархічну будову йонного каналу: амінотермінальний домен (ATD), ліганд-зв'язуючий домен (LBD), трансмембранний та С-термінальний домен (CTD) [38]. Активність іонних каналів NMDA-рецепторів регулюється шляхом алостеричного зв'язування малих молекул з амінотермінальним доменом або лігандзв'язуючим доменом, специфічним для підтипу способом: зокрема, після одночасного зв'язування гліцину та глутамату з субодиницями GluN1 і

GluN2. Молекулою, яка виявляє специфічну інгібувальну активність до N1 і N2 підтипів рецепторів NMDA, є іфенпроділ - 4-[(1R,2S)-2-(4-бензилпіперазин-1-іл)-1-гідроксипропіл]фенол [39, 40]. Останній виявляє негативну алостеричну модуляцію рецепторів NMDA через зв'язування з активними сайтами амінотермінального домену. Саме цей комплекс амінокінцевих доменів GluN1/GluN2B у закритій конформації з іфенпроділом ми використовували для визначення спорідненості похідної піридазину до NMDA-рецепторів. (рис. 3.1).

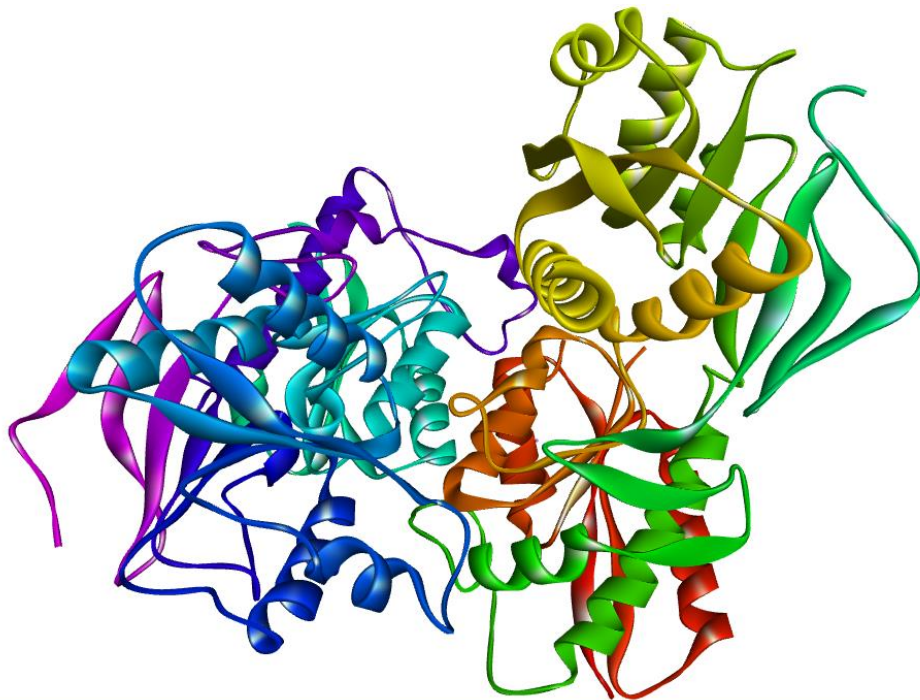


Рис. 3.1 Макромолекула аміно-термінального домену NMDA-рецептора з негативним алостеричним негативним модулятором в активному сайті [38]

Експериментально визначено, що гідروفобна кишеня зв'язування іфенпроділу, представлена амінокислотними залишками обох субодиниць:

- GluN1b – серин (Ser132), тирозин (Tyr109), лейцин (Leu 135), фенілаланін (Phe113), треонін (Thr110),
- GluN2B – глютамінова кислота (Glu236), пролін (Pro177), глютамін (Gln110), аланін (Ala107), ізолейцин (Ile111), фенілаланін (Phe176).

Поруч з кишенею зв'язування знаходиться порожнина, вистелена гідрофобними амінокислотними залишками аланін (Ala75) субодиниці GluN1b та фенілаланін (Phe114), ізолейцин (Ile 82) – GluN2B.

Точність використаної методології докінгу та здатність відтворювати параметри експериментально визначених даних підтверджена при оцінці афінитету нативного референс-ліганду іфенпроділу в активний сайт аміно-термінального домену NMDA-рецептора глутамату (рис. 3.2).

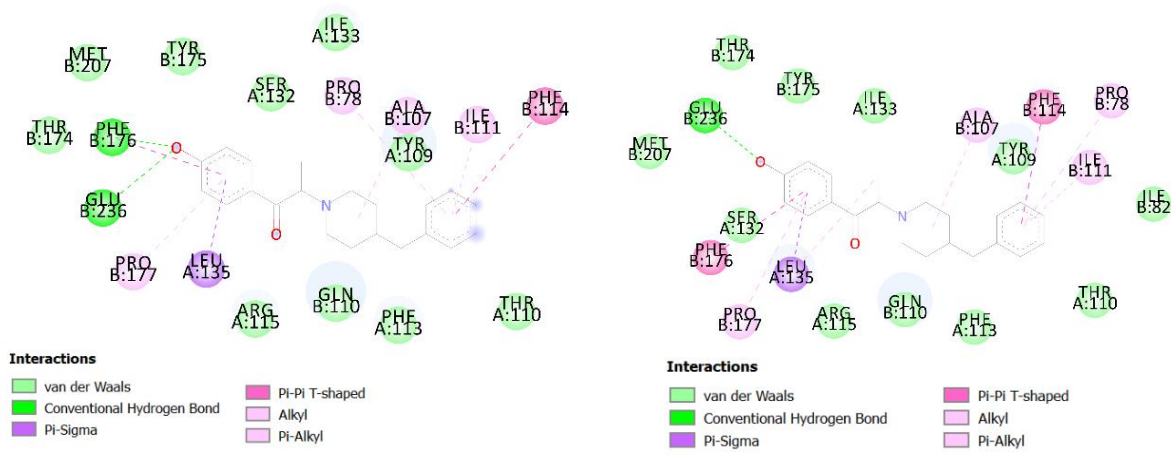


Рис. 3.2. Валідація методології докінгу в активний сайт аміно-термінального домену NMDA-рецептора глутамату – експериментальна (а) та референс-взаємодія (б) іфенпроділу з амінокислотами в активному сайті.

Порівнюючи експериментальні літературні дані та результати референс-взаємодії очевидна відтворюваність конформаційного розміщення: всі гідрофобні та водневі зв'язки наявні, розташування фрагментів іфенпроділу щодо амінокислотних залишків ідентичні. Відмінність при референс-взаємодії полягає у відсутності одного водневого зв'язку між фенілаланіном (Phe176) і гідроксильним залишком іфенпроділу, при цьому зберігається гідрофобна взаємодія. Енергія зв'язування нативного ліганду іфенпроділу склала -11.3 ккал/моль, що демонструє високу афінність до рецептора.

Грунтуючись на літературних даних, існування стабільної, жорсткої та дуже міцної конформації іфенпроділ-NMDA - рецептор можливе внаслідок наступних взаємодій: визначальним для існування конформації є гідрофобна

взаємодія фенільного радикала іфенпроділа та фенільного кільця феніланіну (Phe 115), метильною групою ізолейцину (Ile111) і піролідиновим циклом проліну (Pro78); додаткова стабілізація відбувається через фіксацію піперазинового кільця іфенпроділу метильною групою аланіну (Ala107), трьома гідрофобними взаємодіями з метильними групами проліну (Pro 77), які фіксують 4-гідроксифенільний фрагмент ліганду; водневі зв'язки утворюються між зарядженою третинною аміногрупою іфенпроділу та глутаміном GluN2B (Gln 110), а також 4-гідроксифенільним фрагментом глутамінової кислоти (Glu236) (рис. 3.3).

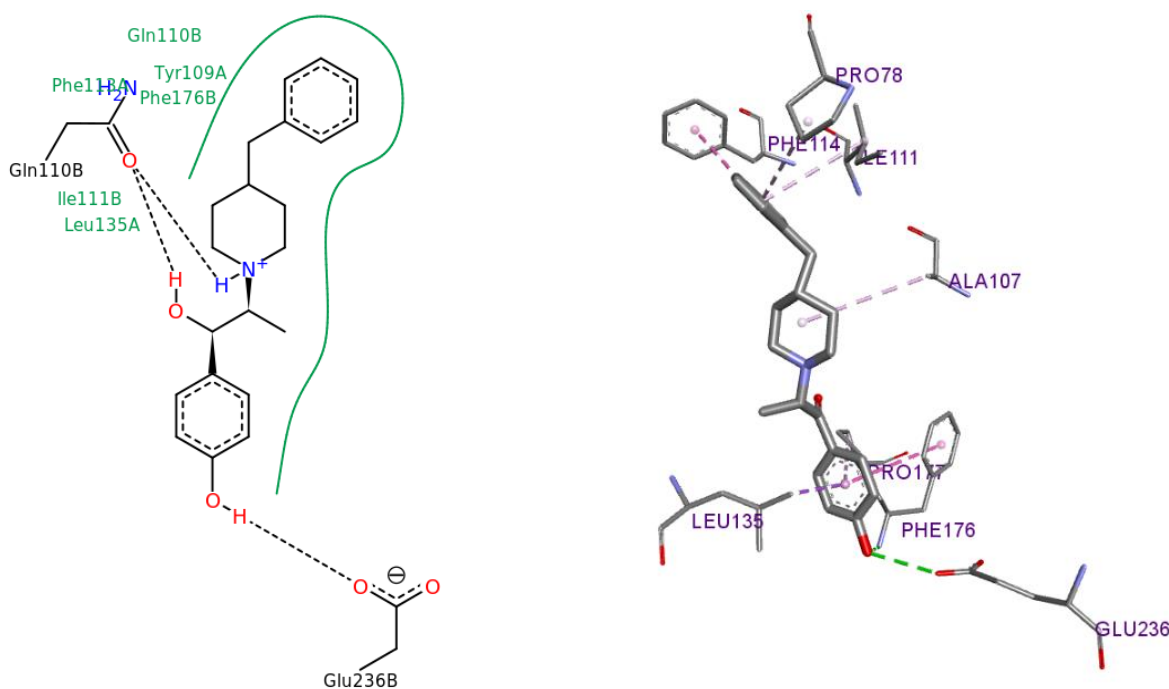
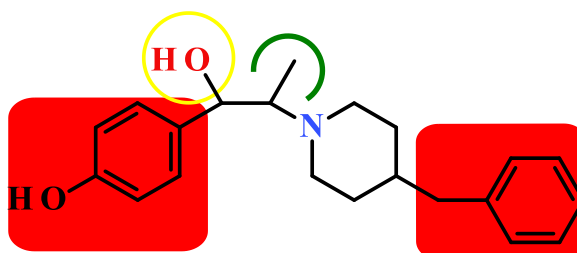


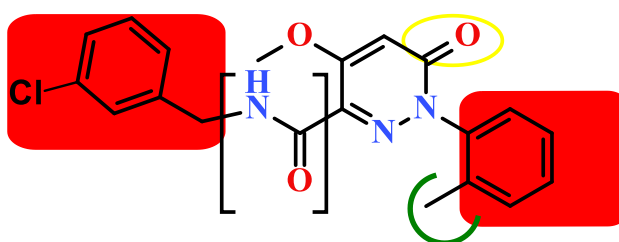
Рис. 3.3 Експериментально визначені зв'язки [38] іфенпроділу з амінокислотами активного сайту NMDA -рецептора та 3D візуалізація референс-взаємодії при валідації методики

Досліджувана похідна 2.1 продемонструвала високий рівень афінитету до активного сайту NMDA-рецептора: скорингова функція спрогнозована - 11.1 ккал/моль, що фактично відповідає енергії зв'язування нативного ліганда іфенпроділу, яка для нього становила -11.3 ккал/моль. Такий подібний афінитет

двох лігандів, в першу чергу, може бути пояснений структурною подібністю обох лігандів, і витягнутої вздовж осі молекули лігандів (рис. 3.4).



**Іфенпродил**



**2.1**

Рис.3.4 Фармакофорні фрагменти іфенпроділу та похідної 2.1.

Аналізуючи конформацію похідної 2.1 при спільній візуалізації з нативним лігандом в активному сайті домену NMDA-рецептора, стає очевидно (рис. 3.5), що обидві молекули розташовуються в просторі в одній площині та фактично накладаються одна на одну фенільними та гетероциклічними фрагментами – піперидиновим і піридазиновим.

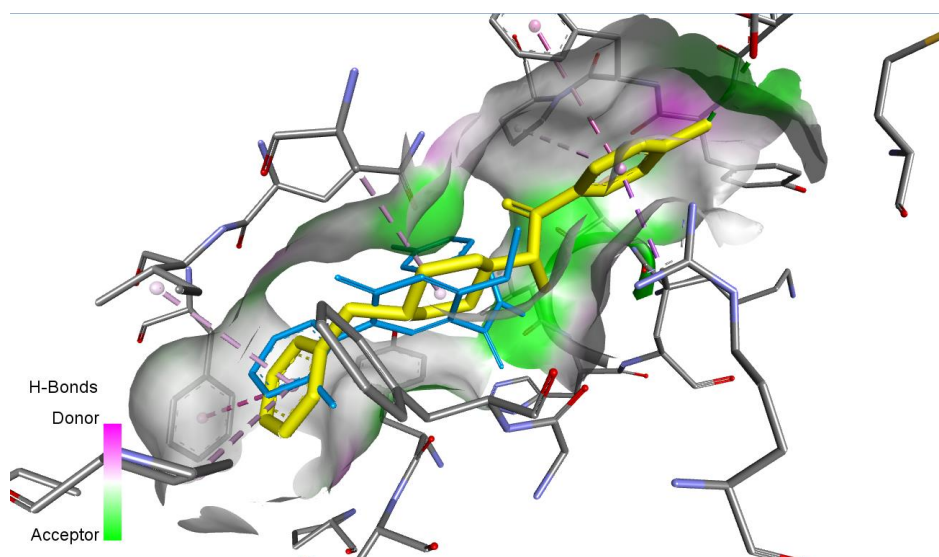


Рис. 3.5 Конформації похідної 2.1 (блакитна молекула) та іфенпроділу (жовта молекула) в активному сайті NMDA – рецептора

Як говорилося вище, розміщення саме фенільного фрагмента іфенпроділу є визначальною у формуванні та стабільності конформації ліганд-рецептор. Аналізуючи рис., слід відзначити більш витягнуте положення референс-ліганду, тоді як карбоксамідний «хвіст» похідної 2.1 загинається, але вступає у додаткові гідрофобні взаємодії з амінокислотними залишками активного сайту (рис. 3.6). Можна стверджувати, що похідна 2.1 глибоко і повністю увійшла у порожнину гідрофобної кишені макромолекули, сформувавши стійку конформацію ліганд-рецептор внаслідок тринадцяти гідрофобних та одного водневого зв'язку (табл. 3.1).

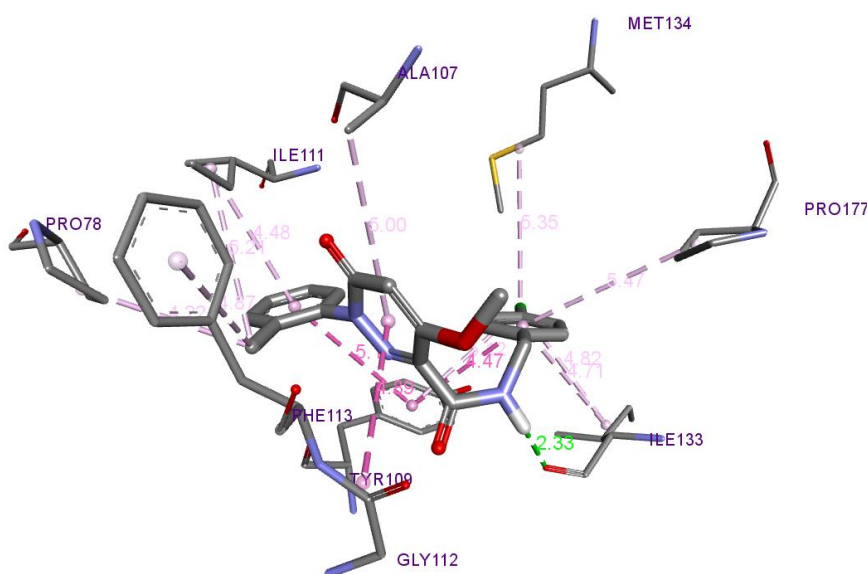


Рис.3.6 3D взаємодія похідної 2.1 з амінокислотними залишками сайту інгібітора NMDA - рецептора.

Гідрофобні зв'язки утворюють наступні фрагменти (рис.): 2-метилфенільний радикал з алкільним залишком ізолейцину (Ile111) та 4-гідроксифенільним фрагментом тирозину (Tyr109); мережа тетраедричних зв'язків прогнозується для метильної групи у 2 положенні фенільного радикала з піролідиновим циклом проліну (Pro78), метиленовою групою ізолейцину (Ile 111), фенільним радикалом фенілаланіну (Phe 113); для піридазинового циклу спрогнозовано два зв'язки з алкільними фрагментами амінокислот гліцину та аланіну (Gly 112, Ala07); 3-хлорметилфенільний радикал з метильною групою



ізолейцину (Phe 133), піролідиновим циклом проліну (Pro 78), метиленою групою метіоніну (Met134).

Таблиця 3.1

**Результати докінгу похідної 2.1 та нативних лігандів в активні сайти іонотропних рецепторів глутамату**

Рецептор	Енергія зв'язування ккал/моль	Гідрофобна взаємодія	Водневі зв'язки	Інші взаємодії	Нативний ліганд
<b>Іонотропні глутаматні рецептори</b>					
NMDA	-11.1	Tyr109A(3)*, Gly112A, Phe113A*, Pro78B, Ile111B(2)*, Phe133A(2)*, Met134B, Tyr109A*, Ala107B*, Pro177B*	Phe133A		-11.3 (Іфенпроділ)
AMPA	-7.1	Tyr61*, Leu138	Thr174*(2) Tyr220*(2) Pro89*(2) Glu193*		-8.2 (NBQX)

Водневий зв'язок прогнозується між карбоксамідною групою та карбонілом ізолейцину (Phe 133). З описаних взаємодій тільки три залишки амінокислот, а саме метіонін (Met 134), гліцин (Gly 112) та пролін (Pro 78) не вступають у взаємодію з референс-лігандом, але розташовані в безпосередній близькості від активного сайту та візуалізуються у в оточенні конформації референс-іфенпроділу 3.7.

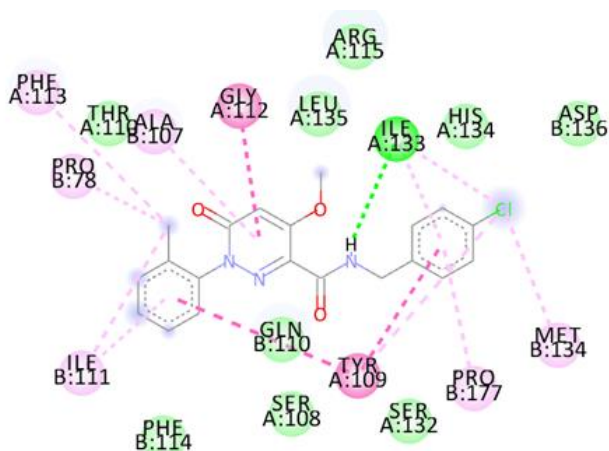


Рис. 3.7 2D візуалізація взаємодії похідної 2.1 з амінокислотними залишками сайту інгібітора NMDA - рецептора.

Підсумовуючи одержані дані, можна стверджувати про високу афінність похідної 2.1 до активного сайту алостеричного негативного модулятора іонотропних NMDA-рецептора глутамату.

### 3.2 Визначення афінності похідної піридазину до AMPA-рецепторів глутамату

Оцінку афінності похідної 2.1 до AMPA-рецепторів глутамату проводили в активний сайт димерного ліганд-зв'язуючого домену субодиниці GluR2 у відкритій конформації з NBQX – 2,3-дигідрокси-6-нітро-7-сульфамойл-бензо[f]хіноксалін – PDB ID 6FQH, кристалічна структура була встановлена рентгеноструктурним аналізом у 2019 [41]. Як видно на рис., субодиниця GluR2 складається з верхньої та нижньої частки (LB1/ LB2), які симетрично зв'язують молекули лігандів (рис. 3.8). Нативний ліганд NBQX — негативний алостеричний модулятор AMPA-рецепторів глутамату [42]. Для оцінки ефективності методології докінгу при відтворенні експериментальних даних було здійснено докінг нативного ліганду у верхню долю білка (LB1).

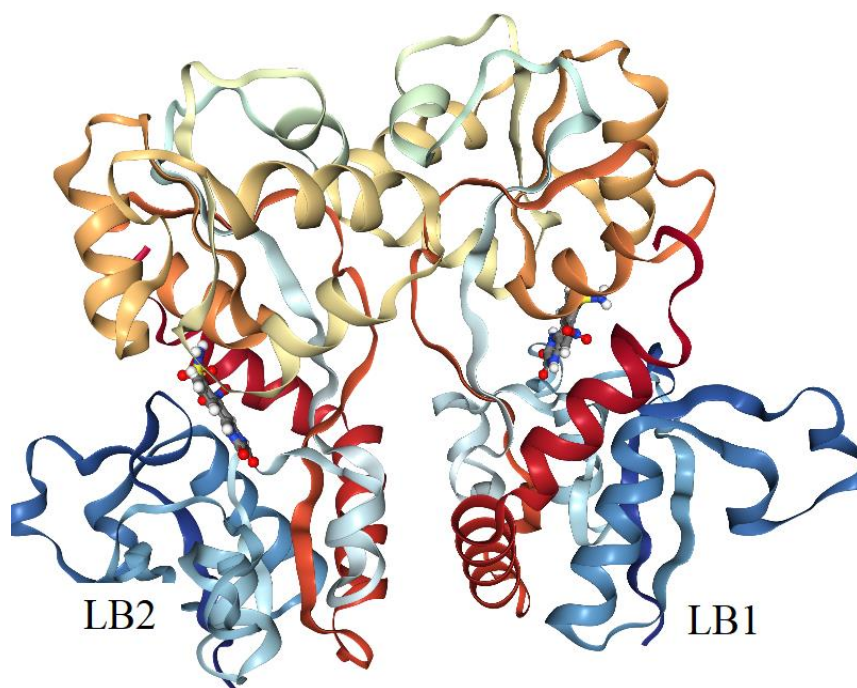


Рис. 3.8 Макроскопічна структура ліганд-зв'язуючого домену AMPA-рецептора з негативним алостеричним модулятором NBQX у сайті зв'язування [41].

Експериментально встановленими амінокислотами ліганд-сполучного сайту є два залишки треоніну (Thr 91,174) та – тирозину (Tyr 61, 220), глутамінова кислота (Glu193), пролін (Pro89), аргінін (Arg 96). 2 D схема референс- взаємодії нативного ліганду при докуванні в активний сайт представлена на рис. 2 4Б, а скорингова функція склала -8.2 ккал/моль.

Результатом молекулярного докінгу досліджуваної похідної 2.1 в зазначений активний сайт АМРА-рецептора стало значення енергії зв'язування -7.1 ккал/моль, що поступається значенню референс взаємодії (табл. 3.1). При аналізі спільного розміщення двох лігандів (рис. 3.9), очевидно, що похідна 2.1 повністю увійшла до порожнини активного сайту і зайняла схоже просторове положення щодо NBQX.

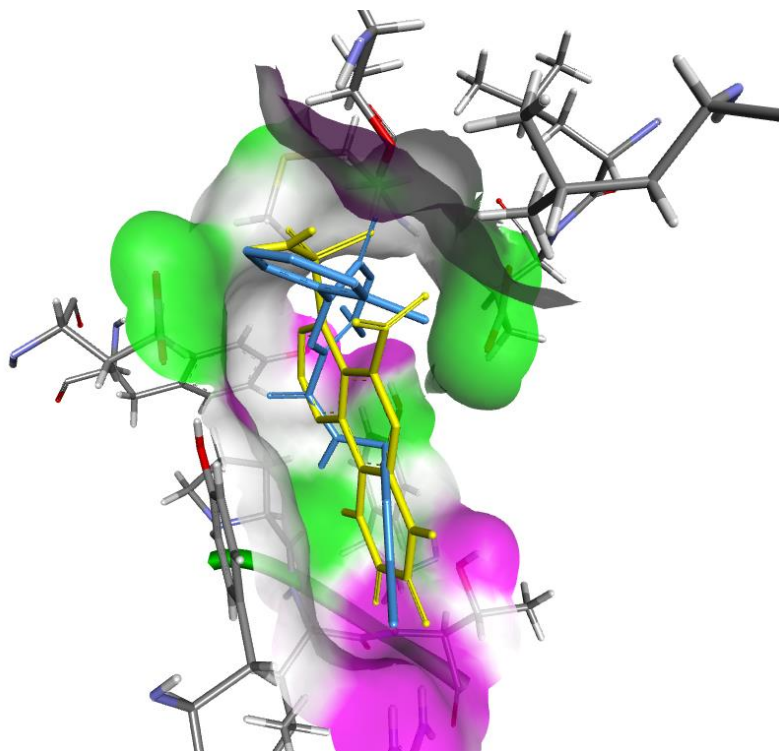


Рис. 3.9 Конформації похідної 2.1 (блакитна молекула) та NBQX (жовта молекула) в активному сайті АМРА-рецептора.

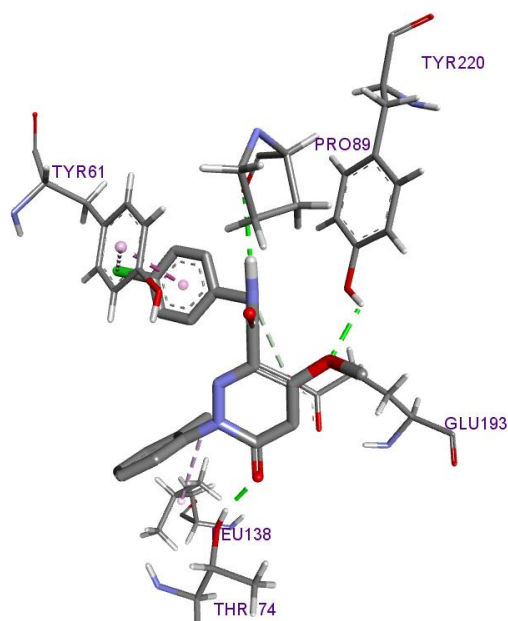


Рис. 3.10 3D взаємодія похідної 2.1 з амінокислотами активного сайту АМРА – рецептора глутамата

Менш задовільне значення скорингової функції стає зрозумілим під час аналізу взаємодії з пептидними залишками активного сайту (рис. 3.10). Для похідної 2.1 не прогнозується гідрофобна взаємодію з глутаміновою кислотою (Glu193), водночас з'являється гідрофобна взаємодія між метильними групами у другому положенні фенільного радикала та лейцину (Leu138), який не позиціонується як пептидний залишок активного сайту.

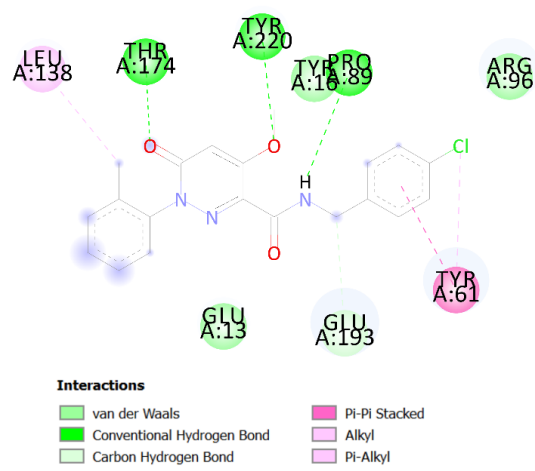


Рис. 3.11 2D візуалізація взаємодій похідної 2.1 в активному сайті АМРА - рецептора

В оточенні похідної 2.1 немає амінокислоти треоніну (Thr 174). Все це, ймовірно, вказує на вихід з активного сайту 2-метилфенільного фрагменту сполуки 2.1 або його неповне розміщення в ньому. Список всіх взаємодій представлений у таблиці 3.1.

Фактично один гідрофобний зв'язок і дещо несприятливе розміщення 2-метилфенільного фрагмента, а також незадовільне значення скорингової функції свідчать про нестабільність конформації та його низьку афінність до активного сайту ліганд-зв'язуючого домену GluR2 AMPA- рецептора.

### **Експериментальна частина**

Дослідження афінності до біологічної мішені проводилося за допомогою гнучкого молекулярного докінгу. Як біологічні мішені були використані макромолекули з Protein Data Bank (PDB), які знаходяться у вільному доступі.

Метаботропні рецептори глутамату: mGlu5 - PDB ID 6FFH; mGlu3 - PDB ID 4XAR; mGlu3 - PDB ID 6BT5.

Іонотропні рецептори глутамату: NMDAR - PDB ID 3QEL; AMDAR - PDB ID 6FQH

Підготовка ліганду. Структура речовини 2.1 була отримана з використанням BioviaDraw2021 та збережені у форматі mol. Після цього вони були оптимізовані програмою Chem3D з використанням молекулярно-механічного алгоритму MM2 та збережені у вигляді pdb.файлів. Використовуючи AutoDockTools-1.5.6, pdb.файли були перетворені на PDBQT [37].

Підготовка протеїнів. PDB файли були завантажені з даних банку білка Protein Data Bank (PDB). Discovery Studio V17.2.0.16349 використовувалась для видалення молекул води та ліганду з макромолекули. Структури білків були збережені як файли pdb. У AutoDockTools-1.5.6 були додані полярні водні та збережені як PDBQT. Grid box було визначено щодо нативних лігандів. AutoDock Vina використовувалася для докінгу. Для візуалізації

отриманих результатів стикування використовувався Discovery Studio V17.2.0.16349. Гідрофобні взаємодії позначені фіолетовими пунктирними лініями, водневі зеленими.

### Висновки до розділу 3.1

1. Високий афінитет прогнозується до активного сайту алостеричного негативного модулятора іонотропних NMDA-рецепторів глутамату (PDB3QEL): енергія зв'язування порівнянна з референс-препаратом іфенпроділом -11.1 та - 11.3 ккал/моль, відповідно; ліганди в активному сайті розташовуються у просторі в одній площині та фактично накладаються один на одного фенільними та гетероциклічними фрагментами – піридазиновим та піперидиновим; досліджувана похідна повністю входить у порожнину гідрофобної кишені рецептора, створює стійку конформацію ліганд-рецептор шляхом множинних гідрофобних та одного водневого зв'язку.
2. Низький рівень афінитету спрогнозовано до сайту зв'язування негативного алостеричного модулятора AMPA-рецепторів глутамату Glu2 субодиниці (PDB 6FQH): скорингова функція склала -7.1 ккал/моль щодо -8.2 ккал/моль нативного ліганду NBQX.

## ВИСНОВКИ

1. Проведено літературний аналіз щодо ролі модуляторів рецепторів глутамату різних підтипів у фармакотерапії хвороби Паркінсона.
2. Визначено пріоритетні таргети для подальшого *in silico* дослідження перспективного антипаркінсонічного агента – 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону.
3. Валідовано методології докінгу в активні сайти метаботропних та іонотропних рецепторів глутамату щодо нативних референс-лігандів процедурою ре-докінгу.
4. За результатами молекулярного докінгу похідної 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону спрогнозовано високий рівень афінітету до наступних рецепторів:
  - сайт позитивного алостеричного модулятора метаботропних рецепторів глутамату III групи на прикладі підтипу mGlu8 (енергія зв'язування -8.3 у досліджуваної похідної 2.1 проти -6.1 ккал/моль у нативного референс-ліганду);
  - сайт конкурентного антагоніста іонотропних NMDA-рецепторів глутамату GluN2 субдиниці (-11.1 проти -11.3 ккал/моль в іфенпроділу).
5. Низький афінітет спрогнозований до активних сайтів інгібіторів I та II груп метаботропних рецепторів глутамату та сайт інгібітора іонотропних AMPA-рецепторів глутамату.
6. Передбачено можливість мультитаргетної фармакологічної дії похідної 2.1 через позитивну алостеричну модуляцію пресинаптичних метаботропних mGlu8 рецепторів та інгібування постсинаптичних іонотропних NMDA-рецепторів глутамату.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. De P. E., Lees A. J., Holton J. L., Warner T. T. Prognosis and neuropathologic correlation of clinical subtypes of Parkinson disease. *JAMA Neurol.* 2019. Vol. 76. P. 470–479.
2. Dickson D. W. Neuropathology of Parkinson disease. *Parkinsonism Relat. Disord.* 2018. Vol. 46. P. S30–S33.
3. Chen J. J., Swope D. M. Pharmacotherapy for Parkinson's disease. *Pharmacotherapy.* 2007. Vol. 27. P. 161S–173S.
4. Bastide M.F., Meissner W.G., Picconi B., Fasano S., Fernagut P.O., Feyder M., Francardo V., Alcacer C., Ding Y., Brambilla R. Pathophysiology of L-dopa-induced motor and non-motor complications in Parkinson's disease. *Prog. Neurobiol.* 2015. Vol. 132. P. 96–168.
5. Christopher J.A., Orgovan Z., Congreve M., Dore A.S., Errey J.C., Marshall F.H., Mason J.S., Okrasa K., Rucktooa P., Serrano-Vega. Structure-based optimization strategies for G protein-coupled receptor (GPCR) allosteric modulators: A case study from analyses of new metabotropic glutamate receptor 5 (mGlu5) X-rays. *J. Med. Chem.* 2019. Vol. 62. P. 207-222.
6. Mironova Y.S., Zhukova I.A., Zhukova N.G., Alifirova V.M., Izhboldina, O.P., Latypova A.V. Parkinson's disease and glutamate excitotoxicity. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii imeni SS Korsakova.* 2018. Vol. 118. P. 50–54.
7. Zhang Z., Zhang S., Fu P., Zhang Z., Lin K., Ka-Shun Ko J., Yun K. Ki. Roles of glutamate receptors in Parkinson's disease. *International Journal of Molecular Sciences.* 2019. Vol. 20(18). P. 4391-4399.
8. Carrillo M.P., Silva A.D., Villaseñor A.K. Glutamate in Parkinson's disease: Role of antiglutamatergic drugs. *Basal Ganglia.* 2013. Vol. 3. P. 147–157.
9. Johnson K. A., Conn P. J., Niswender C. M. Glutamate receptors as therapeutic targets for Parkinson's disease. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets.* 2009. Vol. 8. P. 475–491.
10. Melo-Thomas L., Gil-Martínez A. L., Cuenca L., Estrada C., Gonzalez-Cuello A., Schwarting R.K., Herrero M.T. Electrical stimulation or MK-801 in the



- inferior colliculus improve motor deficits in MPTP-treated mice. *Neurotoxicology*. 2018. Vol. 65. P. 38–43.
11. Flores A. J., Bartlett M.J., Root B.K., Parent K.L., Heien M.L., Porreca F., Polt R., Sherman S.J., Falk T. The combination of the opioid glycopeptide MMP-2200 and a NMDA receptor antagonist reduced L-Dopa-induced dyskinesia and MMP-2200 by itself reduced dopamine receptor 2-like agonist-induced dyskinesia. *Neuropharmacology*. 2018. Vol. 141. P. 260–271.
  12. Starr M. Anti-Parkinsonian actions of glutamate antagonists-alone and with L-DOPA: A review of evidence and suggestions for possible mechanisms. *J. Neural. Transm. Parkinson's Dis. Dement. Sect.* 1995. Vol. 10. P.141–185.
  13. Schito A.M., Pizzuti A., Di M.E., Schenone A., Ratti A., Defferrari R., Bellone E., Mancardi G., Ajmar F., Mandich P. mRNA distribution in adult human brain of GRIN2B, a N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor subunit. *Neurosci. Lett.* 1997. Vol. 239. P. 49–53.
  14. Igarashi M., Habata T., Akita H., Noda K., Ogata M., Saji M. The NR2B antagonist, Ifenprodil, corrects the L-Dopa-induced deficit of bilateral movement and reduces C-Fos expression in the subthalamic nucleus of hemiparkinsonian rats. *Neurosci. Res.* 2015. Vol. 96. P. 45–53.
  15. Michel A., Nicolas J.M., Rose S., Jackson M., Colman P., Briône W., Sciberras D., Muglia P., Scheller D.K., Citron M. Anti-Parkinsonian effects of the “Radiprodil and Tozadenant” combination in MPTP-Treated marmosets. *PLoS ONE*. 2017. Vol. 12. P. e0182887.
  16. Klockgether T., Turski L., Honor T., Zhang Z., Gash D.M., Kurlan R. Greenamyre T. The AMPA receptor antagonist NBQX has anti-Parkinsonian effects in monoamine-depleted rats and MPTP-treated monkeys. *Ann. Neurol.* 1991. Vol. 30. P. 717–723
  17. Brotchie J.M. Nondopaminergic mechanisms in levodopa-induced dyskinesia. *Mov. Disord.* 2005. Vol. 20. P. 919–931.

18. Ouattara B., Hoyer D., Grégoire L., Morissette M., Gasparini F., Gomez-Mancilla B., Paolo T.D. Changes of AMPA receptors in MPTP monkeys with levodopa-induced dyskinesias. *Neuroscience*. 2010. Vol. 167. P. 1160–1167.
19. Masilamoni G.J., Bogenpohl J.W., Alagille D., Delevich K., Tamagnan G., Votaw J.R., Wichmann T., Smith Y. Metabotropic glutamate receptor 5 antagonist protects dopaminergic and noradrenergic neurons from degeneration in MPTP-treated monkeys. *Brain*. 2011. Vol. 134. P. 2057–2073.
20. Huang Y., Shu H., Li L., Zhen T., Zhao J., Zhou X., Luo W. L-DOPA-induced motor impairment and overexpression of corticostriatal synaptic components are improved by the mGluR5 antagonist MPEP in 6-OHDA-lesioned rats. *ASN Neuro*. 2018. Vol. 10. P.11-16.
21. Turle-Lorenzo N., Breyse N., Baunez C., Amalric M. Functional interaction between mGlu 5 and NMDA receptors in a rat model of Parkinson's disease. *Psychopharmacology*. 2005. Vol. 179. P. 117–127.
22. Grégoire L., Morin N., Ouattara B., Gasparini F., Bilbe G., Johns D., Vranesic I., Sahasranaman S., Mancilla B.G., Paolo T.D. The acute anti-Parkinsonian and antidyskinetic effect of AFQ056, a novel metabotropic glutamate receptor type 5 antagonist, in 1-Dopa-treated parkinsonian monkeys. *Parkinsonism Relat. Disord*. 2011. Vol. 17. P. 270–276.
23. Dekundy A., Pietraszek M., Schaefer D., Cenci M.A., Danysz W. Effects of group I metabotropic glutamate receptors blockade in experimental models of Parkinson's disease. *Brain Res. Bull*. 2006. Vol. 69. P. 318–326.
24. Woolley M.L., Pemberton D.J., Bate S., Corti C., Jones D.N.C. The mGlu2 but not the mGlu3 receptor mediates the actions of the mGluR2/3 agonist, LY379268, in mouse models predictive of antipsychotic activity. *Psychopharmacology*. 2008. Vol. 196. P. 431–440
25. Vernon A.C., Palmer S., Datla K.P., Zbarsky V., Croucher M.J., Dexter D.T. Neuroprotective effects of metabotropic glutamate receptor ligands in a 6-hydroxydopamine rodent model of Parkinson's disease. *Eur. J. Neurosci*. 2005. Vol. 22. P. 1799–1806.

26. Battaglia G., Busceti C.L., Molinaro G., Biagioni F., Traficante A., Nicoletti F., Bruno, V. Pharmacological activation of mGlu4 metabotropic glutamate receptors reduces nigrostriatal degeneration in mice treated with 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine. *J. Neurosci.* 2006. Vol. 26. P. 7222–7229.
27. Iderberg H., Maslava N., Thompson A.D., Bubser M., Niswender C.M., Hopkins C.R. Pharmacological stimulation of metabotropic glutamate receptor type 4 in a rat model of Parkinson's disease and L-DOPA-induced dyskinesia: Comparison between a positive allosteric modulator and an orthosteric agonist. *Neuropharmacology.* 2015. Vol. 95. P. 121–129
28. Marino M., Valenti O., Jeffrey P. Glutamate Receptors and Parkinson's Disease Opportunities for Intervention. *Drugs Aging.* 2003. Vol. 20 (5). P. 377-397
29. Doré A. S., Okrasa K., Patel J. C., Serrano-Vega M., Bennett K., Cooke R. M., Errey J. C., Jazayeri A., Khan S., Tehan B., Weir M., Wiggin G. R., Marshall F. H. Structure of class C GPCR metabotropic glutamate receptor 5 transmembrane domain. *Nature.* 2014. Vol. 511. P. 557–562.
30. Darryle D., SWright R.A., Levine L. R., Gaydos B., Potter W.Z. LY354740, an mGlu2/3 Receptor agonist as a novel approach to treat anxiety/Stress. *Stress.* 2003. Vol. 6 (3). P.189-97.
31. Linden A.-M., Shannon H., Baez M., Yu J. L., Koester A., Schoepp D. D. Anxiolytic-like activity of the mGlu2/3 receptor agonist LY354740 in the elevated plus maze test is disrupted in metabotropic glutamate receptor 2 and 3 knock-out mice. *Psychopharmacology.* 2005. Vol. 179. P. 284-291.
32. Menezes M. M., Santini M. A., Benvenga M. J., Marek G. J., Merchant K. M., Mikkelsen J. D., Svensson K. A.. The mGlu2/3 receptor agonists LY354740 and LY379268 differentially regulate restraint-stress-induced expression of c-Fos in rat cerebral cortex. *Neurosci J.* 2013. Vol. 73. P. 6439
33. Monn J.A., Prieto L., Taboada L., Pedregal C., Hao J., Reinhard M.R., Henry S.S., Goldsmith P.J., Beadle C.D., Walton L., Man T., Rudyk H., Clark B., Tupper D., Baker S.R., Lamas C., Montero C., Marcos A. Synthesis and

- pharmacological characterization of C4-disubstituted analogs of 1S,2S,5R,6S-2-aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate: identification of a potent, selective metabotropic glutamate receptor agonist and determination of agonist-bound human mGlu2 and mGlu3 amino terminal domain structures. *J. Med. Chem.* 2015. Vol. 58. P. 1776-1794
34. Gu G., Lorrain D. S., Wei H., Cole R. L., Zhang X., Daggett L. P., Schaffhauser H., Bristow L. J., Lechner S. M. Distribution of metabotropic glutamate 2 and 3 receptors in the rat forebrain: implication in emotional responses and central disinhibition. *Brain Res.* 2008. Vol. 1197. P. 47-62.
35. Dominguez C., Prieto L., Valli M. J., Massey S. M., Bures M., Wright R. A. Johnson B. G., Andis S. L., Kingston A., Schoepp D. D., Monn J. A. Methyl substitution of 2-aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylate (LY354740) determines functional activity at metabotropic glutamate receptors: identification of a subtype selective mGlu2receptor agonist. *J. Med. Chem.* 2005. Vol. 48. P. 3605-3612.
36. Schkeryantz J.M., Chen Q., Ho J.D., Atwell S., Zhang A., Vargas M.C., Wang J., Monn J.A., Hao J. Determination of L-AP4-bound human mGlu8 receptor amino terminal domain structure and the molecular basis for L-AP4's group III mGlu receptor functional potency and selectivity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2018. Vol. 28. P. 612-617
37. Trott O., Olson A.J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J. Comput. Chem.* 2010. Vol. 31. P. 455-461.
38. Karakas E., Simorowski N., Furukawa H. Subunit arrangement and phenylethanolamine binding in GluN1/GluN2B NMDA receptors. *Nature.* 2011. Vol. 475(7355). P. 249-53.
39. Gallagher M. J., Huang H., Pritchett D. B., Lynch D. R. Interactions between ifenprodil and the NR2B subunit of the N-methyl-D-aspartate receptor. *J. Biol. Chem.* 1996. Vol. 271. P. 9603-9611.

40. Williams K. Ifenprodil discriminates subtypes of the N-methyl-D-aspartate receptor: selectivity and mechanisms at recombinant heteromeric receptors. *Mol. Pharmacol.* 1993. Vol. 44. P. 851–859.
41. Coombs I.D., Soto D., McGee T.P., Gold M.G., Farrant M., Cull-Candy S.G. Homomeric GluA2(R) AMPA receptors can conduct when desensitized. 2019. *Nat Commun.* Vol. 10. P. 4312-4312
42. Klockgether T., Turski L., Honor T., Zhang Z., Gash, D.M., Kurlan R., Greenamyre T. The AMPA receptor antagonist NBQX has anti-Parkinsonian effects in monoamine-depleted rats and MPTP-treated monkeys. *Ann. Neurol.* 1991. Vol. 30. P. 717–723.

## **ДОДАТКИ**

Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю  
«YOUTH PHARMACY SCIENCE»

---

**IN SILICO ДОСЛІДЖЕННЯ АФІННОСТІ ПОХІДНОГО ПІРИДАЗИН-3-ОНУ  
ДО ІОНОТРОПНИХ РЕЦЕПТОРІВ ГЛУТАМАТУ**

Масліченко Г. І.

Науковий керівник: Северіна Г. І.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

severina.ai@ukr.net

**Вступ.** За даними світової статистики темпи зростання інвалідності та смертності від хвороби Паркінсона випереджає усі інші неврологічні розлади. За останні чверть сторіччя розповсюдженість хвороби Паркінсона зросла вдвічі. На 2019 р. кількість осіб, які страждають на вказану патологію, становить понад 8,5 млн осіб. За поточними оцінками хвороба Паркінсона стала причиною смерті 329 000 осіб (зростання на 100% порівняно з 2000 р.). Наразі відсутні способи лікування хвороби Паркінсона, можливе лише покращення симптомів її перебігу медикаментозним та/або хірургічним шляхом. Тож пошук нових ефективних лікарських засобів, які б селективно впливали на необхідну мішень залишається актуальним питанням сьогодення. Розроблений арсенал *in silico* методів проведення аналізу та оцінки афінитету ліганду до рецептора дозволяють максимально раціоналізувати пошук нових речовин із бажаним фармакологічним ефектом.

**Мета дослідження.** Визначення афінності похідного 5-метоки-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону до іонотропних рецепторів глутамату – алостеричного сайту NMDA рецептора та AMPA-рецептора.

**Матеріали та методи.** Молекулярний докінг здійснювали за допомогою програм AutoDock Vina та AutoDockTools4. Біомішень використали макромолекули з Protein Data Bank: іонотропні рецептори глутамату NMDA – PDB ID 3QEL; AMPA – PDB ID 6 FQH. Конструювання структури – BIOVIADraw 2017R2. Оптимізація структури – Chem3D. Discovery Studio Visualizer 2017/R2 – для візуалізації результатів.

**Результати дослідження.** Перспективними мішенями для пошуку нових антипаркінсонічних агентів є NMDA(N-метил-D-аспартат)-рецептори та, меншою мірою, AMPA ( $\alpha$ -амінометилізоксазолілпропіонової кислоти) – рецептори глутамату. Для молекулярного докінгу використано комплекс амінокінцевих доменів GluN1/GluN2B NMDA-рецептора у закритій конформації з іфенпроділом – селективним негативним алостеричним модулятором субодиниць NMDA-рецепторів. Досліджуваний ліганд продемонстрував високий афінитет до активного сайту NMDA-рецептора: значення енергії зв'язування склало – 11.1 ккал/моль, що фактично ідентично енергії зв'язування нативного референс-ліганда іфенпроділу (–11.3 ккал/моль). Порівнюючи з референс-лігандом афінитет, ймовірно, обумовлений в першу чергу структурною подібністю фармакофорних фрагментів, і витягнутої вздовж осі молекули лігандів. Аналізуючи сумісну конформацію двох лігандів в активному сайті домену NMDA-рецептора, очевидно, що обидві молекули розташовуються в просторі в одній площині і фактично накладаються одна на одну фенільними та гетероциклічними фрагментами – піперидиновим та піридазиновим. Слід відзначити більш витягнуте положення референс-ліганда, тоді як карбоксамідний фрагмент досліджуваного піридазинового похідного загинається, але вступає у додаткові гідروفобні взаємодії з амінокислотними залишками активного сайту. Можна стверджувати про глибоке і повне занурення у порожнину гідروفобної кишені рецептора та стійкість конформації ліганд-рецептор за рахунок 13

гідрофобних взаємодій: Tyr109A(3), Gly112A, Phe113A, Pro78B, Ile111B(2), Ile133A(2), Met134B, Tyr109A, Ala107B, Pro177B, Ile133A.

Оцінку афінності піридазинового похідного до AMPA-рецепторів глутамату проводили в активний сайт ліганд-зв'язуючого домену GluR2 субодиниці у конформації з нативним лігандом NBQX – 2,3-дигідрокси-6-нітро-7-сульфамойл-бензо[f]хіноксалін – негативним алостеричним модулятором AMPA-рецепторів глутамату. Афінність референс ліганда склала –8.2 ккал/моль. Результатом докінгу досліджуваного ліганда в активний сайт AMPA-рецептора стало значення енергії зв'язування –7.1 ккал/моль, що поступається значенню референс взаємодії. При аналізі спільного розміщення двох лігандів, очевидно, що сполука повністю увійшла у активний сайт і зайняв схоже положення у просторі з NBQX. Гірше значення скорингової функції стає зрозумілим під час аналізу взаємодії з пептидними залишками активного сайту: не прогнозується гідрофобна взаємодія з глутаміною кислотою (Glu 193), водночас з'являється гідрофобна взаємодія між метильними групами у другому положенні фенільного радикалу та лейцину (Leu 138), який не позиціонується як експериментально визначений пептидний залишок активного сайту. Крім того, в оточенні не має амінокислоти треоніну (Thr 174), що вказує на вихід з активного сайту фенільного фрагменту. Амінокислотні залишки з якими спрогнозовано взаємодію наступні: Tyr61, Leu138, Thr174(2), Tyr220(2), Pro89(2), Glu193.

**Висновки.** Лише один гідрофобний зв'язок і незадовільне розміщення фенільного фрагмента, а також високе значення скорингової функції свідчать про нестабільність конформації досліджуваного ліганда та його низьку афінність до активного сайту ліганд-зв'язуючого домену AMPA- рецептора. Натомість, одержані дані свідчать про високу афінність досліджуваного ліганда до активного сайту негативного алостеричного модулятора іонотропних NMDA - глутаматних рецепторів. Одержані дані *in silico* досліджень доводять перспективність подальшого дослідження 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону як можливого модулятора NMDA-рецепторів глутамату.

### БІОЛОГІЧНІ ЕФЕКТИ ЛАКТОФЕРИНУ

Найдьонов О. Ю., Саморукова А. Є.

Науковий керівник: Найдьонова О. В.

Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

Alex15386qw@gmail.com

**Вступ.** Лактоферин (ЛФ) – ендогенний білок з низкою позитивних антимікробних, противірусних, антиоксидантних, імуномодуючих та онкопротекторних властивостей.

**Мета дослідження.** Представити спектр біологічних властивостей ЛФ і потенціал його використання в медицині.

**Матеріали та методи.** Проведено огляд літератури та баз даних PubMed.

**Результати дослідження.** ЛФ, як впливає з назви (лакто+ферин=молоко+залізо), це білок молока, що зв'язує залізо та підтримує його баланс в організмі людини. Надлишок заліза в організмі є токсичним, оскільки він має здатність віддавати електрони кисню, що призводить до утворення його активних форм: супероксид-аніон та гідроксильні радикали. Спорідненість





Міністерство  
охорони здоров'я  
України

Національний  
фармацевтичний  
університет

# ГРАМОТА

нагороджується

**Масліченко  
Ганна**

у секційному засіданні студентського  
наукового товариства кафедри  
фармацевтичної хімії

III Всеукраїнська науково-практична  
конференція з міжнародною участю

## YOUTH PHARMACY SCIENCE

Ректор Фах  
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

7-8 грудня 2022 р.,  
м. Харків, Україна



**Національний фармацевтичний університет**

Факультет фармацевтичний  
Кафедра фармацевтичної хімії  
Ступінь вищої освіти магістр  
Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація  
Освітня програма Фармація

**ЗАТВЕРДЖУЮ**  
**Завідувачка кафедри**  
**фармацевтичної хімії**  
**Вікторія ГЕОРГІЯНЦ**  
“24” серпня 2022 року

**ЗАВДАННЯ**  
**НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ**

**Ганни МАСЛІЧЕНКО**

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Дизайн та *in silico* дослідження похідного 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону як антипаркінсонічного агента», керівник кваліфікаційної роботи: Ганна СЕВЕРІНА, д.фарм.н., доцент  
затверджений наказом НФаУ від “ 01 ” листопада 2022 року № 238
2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи: грудень 2022 р.
3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: Дизайн та *in silico* дослідження похідно-го 5-метокси-2-(2-метилфе-ніл)піридазин-3-ону як антипаркінсонічного агента
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): провести літературний огляд щодо етіології, патогенезу хвороби Паркінсона, проаналізувати дані щодо сучасних антипаркінсонічних біомішеней та структури лігандів для їх модуляції; на основі літературного пошуку визначити цільові таргети для *in silico* досліджень; провести валідацію методології докінгу щодо нативних референс-лігандів; здійснити віртуальний молекулярний докінг досліджуваного ліганда 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону до метаботропних та іонотропних рецепторів глутамату; за результатами докінгу спрогнозувати можливий механізм фармакологічної дії досліджуваного ліганда.
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов’язкових креслень):  
таблиць – 2, рисунків – 30

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Ганна СЕВЕРІНА, доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії	25.08.2022	25.08.2022
2	Ганна СЕВЕРІНА, доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії	22.09.2022	22.09.2022
3	Ганна СЕВЕРІНА, доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії	28.10.2022	28.10.2022

7. Дата видачі завдання: 24.08.2022

**КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН**

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1.	Роль рецепторів глутамату та їх лігандів при хворобі паркінсона(огляд літератури)	Серпень-вересень 2022	<b>виконано</b>
2.	Визначення афінності похідного 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону до метаботропних рецепторів глутамату	Жовтень 2022	<b>виконано</b>
3.	Визначення афінності похідної 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону до іонотропних рецепторів глутамату	Листопад 2022	<b>виконано</b>
4.	Узагальнення матеріалів у висновки та оформлення роботи	Листопад-грудень 2022	<b>виконано</b>

Здобувач вищої освіти

\_\_\_\_\_ Ганна МАСЛІЧЕНКО

Керівник кваліфікаційної роботи

\_\_\_\_\_ Ганна СЕВЕРІНА

**ВИТЯГ З НАКАЗУ № 238**  
**по Національному фармацевтичному університету**  
**від 01 листопада 2022 року**

Затвердити тему, керівника та рецензента кваліфікаційної роботи здобувачу вищої освіти заочної форми навчання фармацевтичного факультету НФаУ 2023 року випуску:

№ з/п	Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
1.	Масліченко Ганна Ігорівна	Дизайн та <i>in silico</i> дослідження похідного 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону як антипаркінсонічного агента	Design and <i>in silico</i> investigation of a derivative of 5-methoxy-2-(2-methylphenyl)pyridazin-3-one as antiparkinson agent	доц. Северіна Г. І.	проф. Кошовий О. М.

**ПІДСТАВА:** службова записка завідувача кафедри про затвердження теми кваліфікаційної роботи, керівника та рецензента.

Вірно: пров. фахівець деканату

Н. В. Фоменко

## ВИСНОВОК

**Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу  
щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі  
здобувача вищої освіти  
№ 110761 від «26» грудня 2022 р.**

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти заочної форми навчання Масліченко Ганни Ігорівни, \_\_\_\_ курсу, \_\_\_\_\_ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Дизайн та *in si-lico* досліджен-ня похідного 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону як антипаркінсонічного агента / Design and *in silico* investigation of a derivative of 5-methoxy-2-(2-methylphenyl)pyridazin-3-one as antiparkinson agent», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копіляції).

**Голова комісії,  
професор**



**Інна ВЛАДИМИРОВА**

**1%**

**31%**

**ВІДГУК**

**наукового керівника на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти  
магістр, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація**

**Ганни МАСЛІЧЕНКО**

**на тему: «Дизайн та *in silico* дослідження похідного 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону як антипаркінсонічного агента»**

**Актуальність теми.** Хвороба Паркінсона - це прогресуюче нейродегенеративне захворювання, що виникає внаслідок дегенерації пігментних дофамінергічних нейронів у чорній субстанції компактного тіла. Це викликає низку функціональних модифікацій у гангліях і призводить до тяжких рухових порушень. Доведено, що глутаматні рецептори беруть участь у модуляції збудливості нейронів при зміненій нейротрансмісії при хворобі Паркінсона. Тому саме вони вважаються новими та перспективними мішенями для поліпшення терапевтичних стратегій, що використовуються для лікування хвороби Паркінсона. А пошук нових малих молекул з високим ступенем афінності до активних сайтів рецепторів глутамату є актуальним завданням сучасної фармацевтичної та медичної хімії.

**Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість.** За результатами роботи визначено пріоритетні таргети для *in silico* дослідження перспективного антипаркінсонічного агента – 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону. Валідовані методології докінгу до метаботропних та іонотропних рецепторів глутамату щодо нативних референс-лігандів процедурою ре-докінгу. Одержані результати можуть бути використані для подальших досліджень щодо прогнозування афінності експериментальних лігандів щодо глутаматних рецепторів. За результатами молекулярного докінгу похідної піридазин-3-ону спрогнозовано високий рівень афінитету до сайту позитивного алостеричного модулятора метаботропних глутаматних рецепторів III групи та сайту конкурентного антагоніста іонотропних NMDA-рецепторів глутамату.

**Оцінка роботи.** Кваліфікаційна робота виконана на високому теоретичному та практичному рівні з використанням сучасних методів дослідження. Усі висновки, зроблені в роботі, є достовірними є достовірними.

**Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту.** Кваліфікаційна робота Ганни МАСЛІЧЕНКО може бути представлена до захисту на здобуття другого (магістерського) рівня вищої освіти спеціальності 226 Фармація, промислова фармація.

Науковий керівник

\_\_\_\_\_

Ганна СЕВЕРІНА

"12" грудня 2022 р.

**РЕЦЕНЗІЯ**

**на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти магістр, спеціальності  
226 Фармація, промислова фармація**

**Ганни МАСЛІЧЕНКО**

**на тему: «Дизайн та *in silico* дослідження похідного 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону як антипаркінсонічного агента»**

**Актуальність теми.** Сьогодні хвороба Паркінсона має чи не найбільші темпи поширення з-поміж неврологічних захворювань. За оцінками експертів, у світі налічується 4 млн пацієнтів, а 2040 р. їхня кількість сягне 14,2 млн, оскільки людство стрімко старіє. Згідно зі статистикою МОЗ, в Україні зареєстровано понад 23 000 людей із хворобою Паркінсона. Кожного року про цей діагноз дізнаються від лікарів 2 500 українців. Наразі не існує способу лікування хвороби Паркінсона, доступні лише методи, які допомагають полегшити симптоми та підтримувати якість життя. Тому пошук нових ефективних засобів для фармакокорекції симптомів паркінсонізму є безперечно актуальним та необхідним завданням.

**Теоретичний рівень роботи.** Загалом робота справляє гарне враження. Грамотне планування експерименту, фундаментальна теоретичне підґрунтя для кожного етапу, виваженість кожного кроку, використання комплексу сучасних методів дослідження дало змогу досягти поставленої мети та вирішити всі завдання.

**Пропозиції автора на тему дослідження.** Визначені на основі проведених досліджень ступені афінності похідної піридазину та результати аналізу конформаційного розміщення в активних сайтах метаботропних та іонотропних рецепторах глутамату дозволили передбачити можливий механізм реалізації фармакологічного ефекту та речовини як антипаркінсонічного агента.

**Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість.** Валідація методологій докінгу в активні сайти метаботропних та іонотропних



рецепторів глутамату щодо нативних референс-лігандів процедурою редокінгу дозволить використовувати ці методики для подальшого прогнозування афінності експериментальних речовин до зазначених мішеней. Визначені механізми впливи на глутаматергічну систему дозволить оптимізувати подальші фармакологічні дослідження.

**Недоліки роботи.** У роботі трапляються граматичні помилки та стилістично невдалі вирази, окремі недоліки в оформленні рисунків. Проте вони незначні та не знижують загальної цінності роботи.

**Загальний висновок і оцінка роботи.** Подана на рецензування робота Ганни МАСЛІЧЕНКО за обсягом і змістом відповідає вимогам, що висуваються до кваліфікаційних робіт другого (магістерського) рівня вищої освіти та може бути представлена до захисту в Екзаменаційній комісії.

Рецензент \_\_\_\_\_ проф. Олег КОШОВИЙ

"16" грудня 2022 р.

**ВИТЯГ З ПРОТОКОЛУ № 6**

**засідання кафедри фармацевтичної хімії  
Національного фармацевтичного університету  
від 20 грудня 2022 р.**

**ПРИСУТНІ:**

Георгіянц В.А. зав.каф., проф., Власов С.В. проф., Абу Шарк Амжад Ібрагим М. доц., Бевз Н.Ю. доц., Гарна Н.В. доц., Грудько В.О. доц., Головченко О.С. доц., Горохова О.В. доц., Гриненко В.В. доц., Колісник О.В. доц., Сидоренко Л.В. доц., Северіна А.І. доц., Григорів Г.В. асис.

**ПОРЯДОК ДЕННИЙ:** заслухати звіт про стан виконання кваліфікаційних робіт.

**СЛУХАЛИ:** доповідь здобувача вищої освіти Ганни МАСЛІЧЕНКО, студентки фармацевтичного факультету на тему: «Дизайн та *in silico* дослідження похідного 5-метоки-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону як антипаркінсонічного агента», керівник доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії, д.ф.н. Ганна СЕВЕРІНА.

**УХВАЛИЛИ:** рекомендувати кваліфікаційну роботу Ганни МАСЛІЧЕНКО до офіційного захисту в ЕК.

**Голова**

Зав. кафедри, доктор фарм. наук, проф. \_\_\_\_\_ Вікторія ГЕОРГІЯНЦ  
(підпис)

**Секретар**

канд. фарм. наук, доц. \_\_\_\_\_ Олена КОЛІСНИК

## НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

### ПОДАННЯ ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Направляється здобувач вищої освіти Ганни МАСЛІЧЕНКО до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «Дизайн та *in silico* дослідження похідного 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону як антипаркінсонічного агента»

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету \_\_\_\_\_ / Микола ГОЛІК /

#### Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувачка вищої освіти Ганна МАСЛІЧЕНКО провела літературний аналіз щодо ролі модуляторів рецепторів глутамату у фармакотерапії хвороби Паркінсона, визначила пріоритетні таргети для *in silico* досліджень перспективного антипаркінсонічного агента, здійснила валідацію методології докінгу до активних сайтів метаботропних та іонотропних рецепторів глутамату та провела молекулярний докінг експериментального ліганду. Зробила висновки щодо механізму реалізації фармакологічного ефекту похідної піридазину. Під час виконання кваліфікаційної роботи Ганна МАСЛІЧЕНКО виявила здібності до наукового пошуку, аналізу та систематизації даних.

Керівник кваліфікаційної роботи

Ганна СЕВЕРІНА

“12” грудня 2022 року

#### Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Ганна Масліченко допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри  
фармацевтичної хімії

Вікторія ГЕОРГІЯНЦ

“20 ” грудня 2022року

Кваліфікаційну роботу захищено  
у Екзаменаційній комісії

« 8 » лютого 2023р.

З оцінкою \_\_\_\_\_

Голова Екзаменаційної комісії,

доктор фармацевтичних наук, професор

\_\_\_\_\_ / Лена ДАВТЯН /