

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
факультет по подготовке иностранных граждан
кафедра медицинской химии**

КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

на тему: **«ДОКИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НООТРОПНОГО
ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ РАЦЕТАМОВ»**

Выполнил: соискатель высшего образования группы
Фм18(5,0д)i-10

специальности: 226 Фармация, промышленная фармация
образовательной программы Фармация

Єлязид МАИЗУ

Руководитель: доцент заведения высшего образования
кафедры медицинской химии, к.фарм.н., доц.
Маргарита СУЛЕЙМАН

Рецензент: доцент заведения высшего образования
кафедры фармацевтической химии, д.фарм.н., доц.
Анна СЕВЕРИНА

Харков – 2023 год

АННОТАЦИЯ

Работа посвящена оптимизации поиска новых ноотропных агентов из группы рацетамов с использованием современного метода прогнозирования сродства к определенным мишеням (молекулярный докинг). Полученные результаты исследований могут быть полезны для рационального дизайна новых молекул выбранной группы и дальнейшего проведения экспериментального скрининга. Работа состоит из введения, трех разделов, выводов, списка использованной литературы, который содержит 153 наименования. Содержание работы изложено на 60 страницах машинописного текста и содержит 4 таблицы и 21 рисунок.

Ключевые слова: рацетамы, производные пирролидин-2-она, ноотропная активность, ацетилхолиновые рецепторы, глутаматные рецепторы, молекулярный докинг.

ANNOTATION

The work is devoted to optimizing the search for new nootropic agents from the racetam group using a modern method for predicting affinity for certain targets (molecular docking). The obtained research results may be useful for the rational design of new molecules of the selected group and further experimental screening. The work consists of an introduction, three sections, conclusions, a list of references, which contains 153 titles. The content of the work is set out on 60 pages of typewritten text and contains 4 tables and 21 figures.

Key words: racetams, pyrrolidin-2-one derivatives, nootropic activity, acetylcholine receptors, glutamate receptors, molecular docking.

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ	4
РАЗДЕЛ 1. ПИРРОЛИДИНОВЫЙ СКАФФОЛД КАК СТРАТЕГИЧЕСКАЯ ПЛАТФОРМА ПРОЕКТИРОВАНИЯ ЛЕКАРСТВ. ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАЦЕТАМОВЫХ НООТРОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	7
ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 1	23
РАЗДЕЛ 2. ХАРАКТЕРИСТИКА И АРГУМЕНТАЦИЯ ВЫБОРА ОБЪЕКТОВ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.	24
2.1. Аргументация выбора объектов исследований	
2.2. Характеристика и аргументация выбора метода молекулярного докинга	27
ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 2	40
РАЗДЕЛ 3. ДОКИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НООТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ РАЦЕТАМОВ	
3.1. Органайзер кристаллографических моделей ноотропных мишеней.....	41
3.2. Молекулярный докинг новых рацетамов как потенциальных ноотропных агентов.	45
ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 3	58
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	59
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	61
ПРИЛОЖЕНИЯ	77

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. На сегодняшний день существует достаточное количество данных мета-анализа клинической эффективности ноотропов с группой рацетамов, касающейся фармакологии, фармакокинетики, фармакодинамики, механизма действия, дозировки, токсикологии и побочных эффектов. Лекарственные препараты данной группы - пирацетам, анирацетам, оксирацетам, фенилпирацетам и прамирацетам по данным исследований за последние 10 лет показали улучшение когнитивного дефицита, связанного с черепно-мозговыми травмами и проявляли нейропротекторный эффект при применении во время операции коронарного шунтирования, в лечении когнитивных расстройств травматического и цереброваскулярного происхождения. Механизмы действия пирацетама и пирацетамо- подобных средств остаются загадкой. Обще принятым является участие в дифференциальных эффектах на подтипы глутаматных рецепторов, которые способны влиять на ацетилхолиновые мишени; активация поступления кальция в нейрональные клетки; связывание с другими нейротропными рецепторами и т.д. Отсутствие общего молекулярного механизма действия делает актуальным выявление ноотропных средств рецепторов и синаптических процессов, с помощью которых они оказывают влияние на когнитивные функции. Выявление таких закономерностей будет способствовать оптимизации лечения когнитивных расстройств известными рацетамами, а также для разработке новых высокоэффективных ноотропов.

Целью исследования является оптимизация поиска новых ноотропных средств из группы рацетамов с использованием современного метода прогнозирования сродства к заданным мишеням (молекулярного докинга).

Задачи исследования:

- обосновать структурную модификацию базового 1-бензил-4-пирролидин-2-она с целью создания оптимальных молекул для молекулярной стыковки;

- создать органайзер кристаллографических моделей ноотропных мишеней с целью оптимизации выбора для дальнейшей молекулярной стыковки;
- с помощью полученных оценочных значений установить активность исследуемых молекул по отношению к выбранной оптимальным мишеням;
- провести детальный анализ геометрического расположения испытуемых молекул в активном сайте мишени с целью предоставления рекомендаций по оптимизации поиска будущих ноотропных кандидатов.

Объекты исследования. Замещенные 1-бензил-4-пирролидин-2-она, ноотропная активность, ацетил холиновые рецепторы, глутаматные рецепторы, докинг-исследования.

Предмет исследования – рецепторно-ориентированный гибкий молекулярный докинг

Методы исследования. *In silico* методы: молекулярный докинг.

Элементы научных исследований. С целью оптимизации поиска ноотропных средств проведена структурная модификация основного каркаса 1-бензил-4-пирролидин-2-она с другой фармакофорной группировкой. Таким образом были получены новые производные с замещением в бензильном и пирролидиновом фрагментах базового каркаса. В качестве препарата сравнение выбрано Небрацетам в связи со структурным сходством базового скаффолда. Выбор глутаматных и ацетилхолиновых рецепторов для докинга базировался на анализе архитектуры мишеней и на структурном сходстве генерируемых объектов с референс препаратом Небрацетамом, который способен влиять на глутаматные рецепторы и усиливать холинергические функции гиппокампа. Активность исследуемых молекул по отношению к выбранным рецепторам может быть реализована за счет образования между ними комплексов, устойчивость которых обеспечивается за счет энергетически выгодного геометрического расположения тестируемых

молекул в активных центрах рецепторов, образование межмолекулярных взаимодействий между ними, а именно: водородных связей, электростатических и гидрофобных взаимодействий. Результат такой стыковки подтверждается высокими абсолютными значениями функции скоринга (Affinity DG, ккал/моль), значениями свободной энергии EDoc (ккал/моль) и констант связывания K_i (мкМ). Рассчитанные значения указывают на наличие аффинитета как в отношении глутаматных, так и ацетилхолиновых рецепторов, абсолютные значения некоторые объектов превышают абсолютные значения и препарата сравнения. Подробный анализ геометрического расположения исследуемых молекул в активных сайтах мишеней свидетельствует о том, что в образовании комплексов участвуют одинаковый набор аминокислотных остатков с соответствующими ключевыми фрагментами тестируемых молекул. Полученные данные стыковки могут использоваться при планировании экспериментального скрининга на ноотропную активность и при предоставлении рекомендаций для оптимизации поиска новых рацетамовых ноотропов.

Апробация результатов исследования и публикации. Результаты исследований были представлены в виде тезисов на XXIX международной научно практической конференции молодых учёных и студентов «Актуальні питання створення нових лікарських засобів», по результатам конференции были получены Сертификат участника и Диплом II степени за участие в секционном заседании студенческого научного общества кафедры медицинской химии.

Структура и объем квалификационной работы. Выпускная работа состоит из введения, обзора литературы, раздела аналитико-исследовательской аргументации объектов и методов исследований, раздела экспериментальных исследований, выводов, списка использованной литературы. Общий объем работы составляет 60 стр. Работа иллюстрирована, 4 таблицами, 21 рисунком. Список использованной литературы включает 153 наименования.

РАЗДЕЛ 1. ПИРРОЛИДИНОВЫЙ СКАФФОЛД КАК СТРАТЕГИЧЕСКАЯ ПЛАТФОРМА ПРОЕКТИРОВАНИЯ ЛЕКАРСТВ. ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАЦЕТАМОВЫХ НООТРОВ. (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Разработка клинически активных препаратов все больше полагается на использование гетероциклических каркасов, многие из которых содержат азот. Об этом свидетельствует широкий арсенал биологически активных молекул, доступных на сегодняшний день. Введение гетероатомных фрагментов являются полезным инструментом для модификации физико-химических параметров и получения наилучших результатов ADME/Tox для будущих кандидатов в лекарственные препараты [1-7].

Двухмерные (2D) липофильные гетероароматические кольцевые каркасы широко используются из-за их легкой структурной модификации, что позволит получить большие шансы создать структурное разнообразие. Такая молекулярная сложность была определена через два дескриптора, sp^3 -гибридизацию и количество хиральных центров, оба из которых важны для установления клинического эффекта новых биоактивных молекул. Химическая сложность и шаровидная трехмерная (3D) форма предоставляют больше возможностей для улучшения пригодности лекарства путем изменения таких параметров, как растворимость и липофильность [8-12].

В последние два десятилетия промышленность прилагала много усилий, чтобы обеспечить химическую библиотеку новыми 3D-блоками, обогащенными sp^3 , как коммерческими источниками для производства молекул, релевантных с точки зрения медицинской химии. В этом контексте ученые сделали акценты на инструкции проектирования и стратегических целей при разработке новых реагентов для проектов создания лекарств, а трехмерная форма установлена как одна из стратегических платформ в программе проектирования лекарств [13, 14].

Трехмерные формы неароматических пирролидинов и цикlopентановых колец с ароматическим пирольным кольцом приведены на рис. 1.1.

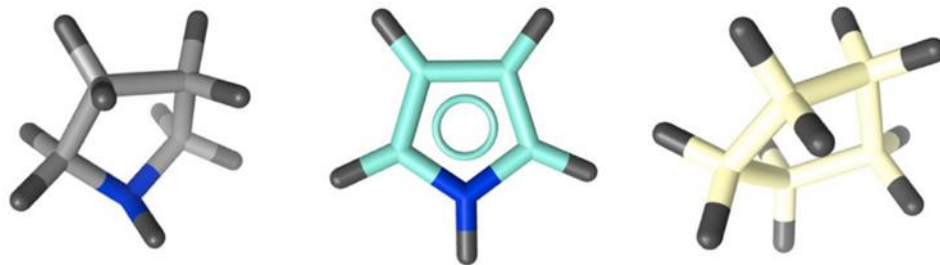


Рис. 1.1. Трехмерная (3D) форма неароматического пирролидинового, цикlopентанового колец и ароматического пирольного каркаса.

Статистический анализ, проведенный исследователями [15] обнаружил, что 70% из 15 тыс. каркасов, принадлежащих к натуральным продуктам (НП), являются обезжиренными и представляют интересный ресурс для разработки новых синтетических молекул [16]. Среди таких насыщенных кольцевых систем пирролидиновая часть широко представлена в алкалоидах, выделенных из растений или микроорганизмов [17-19]. Поэтому не случайно пирролидиновое ядро является одним из наиболее предпочтительных каркасов в фармацевтической науке и дизайне лекарств [20], о чем свидетельствует тот факт, что оно занимает первое место среди пятерки наиболее распространенных пяти неароматических гетеро циклов азота, одобренных Управлением по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) [21]. Кроме того, пирролидин и его производные широко используются в качестве лигандов для переходных металлов, органокатализаторов и эффективных хиральных контроллеров в асимметричном синтезе [22–24].

В исследования [25–28] установлено, что в отличие от исходного ароматического соединения пиррола, являющегося общим каркасом нескольких биологически активных соединений, большой интерес к синтетическим пирролидинам был связан с возможностью наличия соответствующих стереоизомеров. Благодаря «псевдоротации», свойствам

насыщенных пятичленных колец, пирролидины приобретают энергетически выгодные конформации, предоставляя интересные трехмерные покрытия, что является важным инструментом для проектирования целевых молекул на основе пирролидиновых фрагментов. [29-31].

Пятичленное оксопирролидиновое кольцо является базовым каркасом лекарственных молекул, которые влияют на ЦНС, а именно являются агентами нейротропного и ноотропного действия. На рис. 1.2 представлены химические структуры известных ноотропов из группы рацетамов.

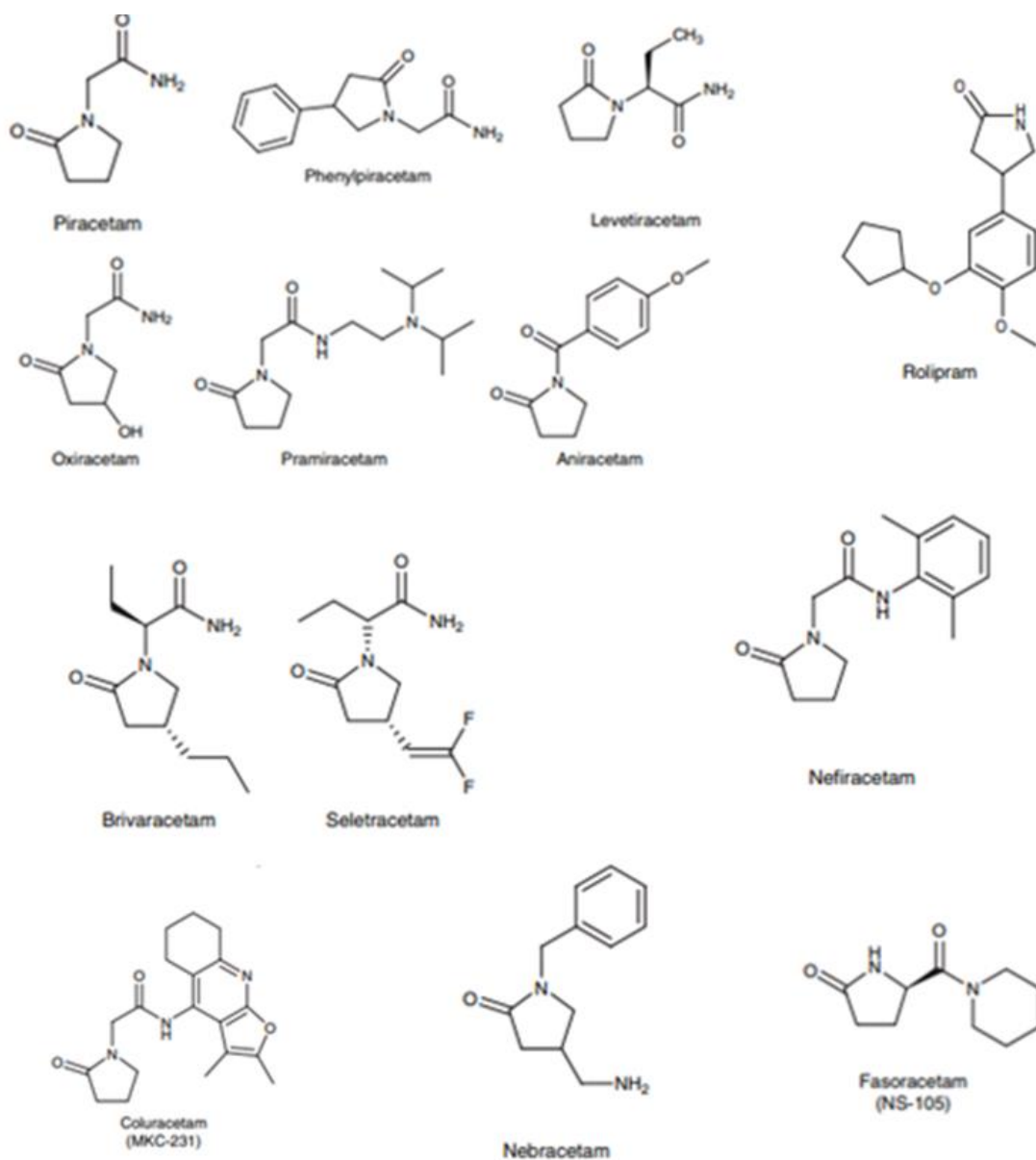


Рис. 1.2. Химические структуры известных ноотропов из группы рацетамов

Пирацетам и его производные являются модуляторами церебральных функций. Эти молекулы используются для восстановления памяти и работоспособности мозга у пациентов с энцефалопатиями различной этиологии, включая черепно-мозговые травмы, воспаление и осложнение ишемии, инсульта после операции шунтирования, некоторые аналоги показаны для купирования судорог. С момента открытия пирацетама было получено много пирацетам-подобных молекулы, которые используют для лечения когнитивных нарушений и расстройств ЦНС. Эти расстройства базируются на открытых или неконтролируемых исследованиях на животных и людях [32, 33]. Также имеются данные касательно назначения для различных терапевтических вмешательств, связанных с ЦНС таких, как когнитивные функции или память; эпилепсия и судороги; нейродегенеративные заболевания; инсульт; стресс и тревога. Пирацетам подобные соединения были широко исследованы и опубликованы в большом количестве публикаций за последние десятилетия [34-36].

Пирацетам впервые был одобрен в Европе в начале 1970-х для лечения головокружения и возрастных расстройств. В последних исследованиях были использованы высокие дозы в зависимости от показаний [37]. Побочные эффекты, включают в себя тревогу, бессонницу, сонливость и возбуждение [37]. Мета-анализ двойных слепых плацебо-контролируемых исследований, по применению пирацетама при возрастных психических расстройствах, подтвердил, что у лиц, получавших пирацетам, улучшились когнитивные функции. Пирацетам принес пользу большинству пациентов с кратковременной памятью и когнитивным ухудшением, вызванным церебральной ишемией, после операции сердечного шунтирования. Новые данные подтверждают нейропротекторный эффект пирацетама при таком назначении [38-39]. В соответствии с этим исследование показало, что из многих различных тестов, связанных со зрительно-моторными обследованиями, только способность распознавать и смещать цифры и буквы была значительно улучшена, и результат был довольно значительным [40].

Эти независимые исследования показали, что пирацетам является нейропротекторным средством. Лечение пирацетамом пациентов с хроническими цереброваскулярными расстройствами показало лишь умеренное улучшение памяти с умеренным антидепрессивным действием [41-42]. Однако при черепно-мозговой травме подростков показатели реакции памяти и внимания были увеличены примерно до 60% [43]. Пирацетам вместе с сосудорасширяющим препаратом циннаризином (антагонист кальциевых каналов) как комбинированный продукт (Фезам) умеренно улучшили различные когнитивные способности, такие как активность, настроение у пациентов с рассеянным склерозом. Однако оказалось, что это в меньшей степени принесло пользу пациентам без рассеянного склероза с хроническими церебральными поражениями [44]. Исходя из обоснования того, что глутаматергический дефицит может быть основной причиной аутизма, исследуемое использование пирацетама в качестве дополнительной терапии к антипсихотику рисперидона у детей с аутизмом привело к заметному улучшению необычного поведения и было более эффективным, чем моно терапия последнего. Применение пирацетама по нескольким другим расширенным показаниям не продемонстрировало благоприятного эффекта, включая пожилых с легкими когнитивными нарушениями, у которых подозревали развитие деменции, электросудорожная терапия вызывала когнитивные расстройства у пациентов с шизофренией [45]. Кроме того, он не улучшил когнитивные функции у детей с синдромом Дауна и у пациентов, воздерживавшихся от кокаина, хотя по неизвестным причинам он способствовал кокаиновой зависимости [46-47].

Пирацетам как дополнительная терапия вальпроатом или их комбинация с клоназепамом существенно улучшает индекс моторных нарушений у пациентов с эпилепсией. При поздней дискинезии, которая может возникнуть как неблагоприятный эффект обычных антипсихотических препаратов, таких как хлорпромазин, примерно 67% пациентов, получавших

пирацетам, дали благоприятный ответ с пиком эффективности на 4 неделе по сравнению с 24% в группе плацебо; однако улучшение симптомов ухудшилось после прекращения терапии. Исследователи заявили, что для определения эффективности пирацетама по этому показанию необходимы большие хорошо контролируемые исследования [48].

Исследования на моделях инсульта или ишемии головного мозга у крыс подтверждает потенциальную эффективность пирацетама. Рецензенты предупредили, что результаты были опубликованы по крайней мере через 10 лет после клинических испытаний и что количество надежных исследований слишком мало, чтобы сделать надежный вывод, и повторили, что именно пирацетам, а не оксирацетам и леветирацетам, уменьшил объем инфаркта почти на 50%. Они также отметили, что эти данные согласуются с ретроспективным клиническим выводом «если пирацетам будет введен вскоре после начала инсульта, он может оказать благоприятный эффект». В предварительном обзоре было указано, что пирацетам эффективен у пациентов с предполагаемым ишемическим инсультом, хотя другие потенциальные полезные эффекты пирацетама остаются неясными из-за недостаточно хорошо контролируемых исследований [49]. Надежность данных, полученных посредством моделирования инсульта у крыс, и их релевантность для людей сомнительны. Негативный результат клинических испытаний основывался на оценке уровня выживания как конечной точки, а не на размере инфаркта. Согласно этому, пирацетам способствовал восстановлению вербальных навыков у пациентов с инсультом и афазией, но он не смог улучшить зрительную память и память распознавания, а также когнитивные функции, такие как рассуждения [50].

Исследователи считали, что пирацетам улучшает микроциркуляцию сетчатки и, вероятно, действует как ГАМК-миметик, поскольку ГАМК также присутствует в сетчатке. Применение Фезама для лечения сениальной дегенерации желтого пятна значительно улучшило остроту зрения, хотя довольно изменчиво (50–30%), у 76% глаз, и это было связано с

вазоактивным действием цинаризина и нейротоническим эффектом пирацетама [51].

Замещение гидроксильной группы в оксопирролидоновом ядре оксирацетама демонстрирует благоприятный фармакокинетический профиль и биодоступность при пероральном применении. В двойном слепом исследовании на 12 здоровых добровольцах он в зависимости от дозы смягчал вызванное скополамином ухудшение нейропсихологической деятельности. Поэтому его применение в течение 2–6 месяцев у людей старше 65 лет улучшило их когнитивные дефициты неспецифической этиологии, но не принесло пользы пациентам с болезнью Альцгеймера, хотя продолжительность лечения составляла всего 1 месяц [52-54].

Полученный замещением пирацетама амида дипропан-2-ил-аминоэтиловой группой, прамирацетам демонстрирует превосходную биодоступность при пероральном приеме. Обладает значительным действием на ЦНС и поэтому используется в меньших дозах, чем пирацетам [55]. Единственное исследование, проведенное в США, было с участием четырех молодых мужчин, которые имели когнитивные проблемы после травмы головы. Это значительно улучшило некоторые виды памяти, особенно отсроченное упоминание (30–50%) в течение 18 месяцев терапии и 1 месяца наблюдения [56]. Однако результаты тестов были очень разными. Позже итальянские исследователи продемонстрировали уменьшение индуцированных скополамином амнестических эффектов у здоровых добровольцев, то есть два из пяти когнитивных параметров (включая тесты на немедленное и отсроченное словесное припоминание) были примерно на 50% лучше, чем у тех, кто получал плацебо, во время теста инъекции скополамина [57]. В Украине было проведено два небольших исследования: одно у пациентов с цереброваскулярными заболеваниями и другое у пациентов с сотрясением мозга. В первом исследовании утверждается, что зрительные и вербальные воспоминания умеренно улучшились у младших пациентов с хроническими цереброваскулярными и постинсультными

когнитивными симптомами и в меньшей степени у пожилых пациентов. Данные второго исследования показывают, что прамирацетам был более эффективным, чем пирацетам в восстановлении потери памяти, дезориентации у пациентов с легкой черепно-мозговой травмой [58-59].

Прамирацетам увеличивает скорость натрий-зависимого высокоаффинного поглощения холина в синапсосамах гиппокампа крыс *in vitro*, что свидетельствует о том, что его влияние на когнитивные функции может происходить из-за ускорения потока холинергических нейронных импульсов в септально-гиппокампальной области [60].

Аналоги по N-боковой цепи, анирацетам имеет низкую биодоступность в плазме и быстро выводится у животных [61]. Были исследованы показатели у пожилых людей с почечной дисфункцией, Период полураспада его основных метаболитов (п-метоксигипуровой кислоты, анисовой кислоты, 2-пирролидона и сукцинимиды) увеличился в 4-7 раз по сравнению с показателями у молодых добровольцев. В исследовании [62] установлены улучшения психометрических параметры до 30% у пожилых пациентов по сравнению с плацебо. В другом небольшом исследовании с участием пожилых пациентов с небольшими и умеренными сосудистыми церебральными патологиями зафиксирована положительная тенденция применения, однако анирацетам не был эффективен у людей с нарушениями памяти и когнитивных функций, связанными с хроническим воздействием опасных органических растворителей [63-64].

Фармакология рацетамовых ноотропов, исследована меньше, чем их клиническое применение. Эти соединения взаимодействуют с целевыми рецепторами в мозге и модулируют процессы возбуждения и торможения нейромедиаторов, нейрогормонов и постсинаптических сигналов. Воздействие на передачу сигналов может повлиять на познание и неврологическое поведение. Также была установлена роль пирацетама в энергетическом метаболизме, включая увеличение использования кислорода в мозге и проницаемость клеточных митохондриальных мембран для цикла

Кребса и синтез цитохрома [65-67]. Такой механизм действия, возможно, является следствием влияния пирацетама на ионные каналы или транспортеры ионов в нейронах. Сходство его химической структуры к циклической производной ГАМК позволяет предположить, что пирацетам, вероятно, оказывает ГАМК-миметическое действие [68]. Существуют предположения, что пирацетам работает как антиоксидант-нейротоник и повышает плотность рецептора ацетилхолина [69-71]. На сегодня отсутствуют доказательства касательно одно векторного действия аналогов пирацетама. Фармакокинетика, кинетика распада, метаболизм и даже свойства ADMET (адсорбция, распределение, метаболизм, выведение и токсичность) могут изменяться. Однако следует отметить, что молекулы с минимальными изменениями в их химических структурах имеют одинаковый механизм действия, такой как связывание или модуляция селективной подгруппы рецепторов нейромедиаторов. Также существуют различные гипотезы, которые сосредоточены на модуляции ионотропных, управляемых лигандами и зависимых от напряжения ионных каналов, таких как $[Na^+/Ca^{2+}] / K^+$ обменные насосы в клеточных мембранах нейронов или нервно-мышечных соединениях. Рацетамовые ноотропы активируют глутаматные рецепторы аминокислоты-3-гидрокси-5-метилизоксазол-4-пропионата (AMPA) или NMDA-рецепторы в нейронных культурах. Такое действие увеличивает плотность сайтов связывания рецепторов для AMPA и поглощения кальция, что приводит к повышению внутриклеточного кальция ($[Ca^{2+}]$) [72].

Леветирацетам является гомологом пирацетама второго поколения с замещением боковой цепи на этильную группу. Такая структурная модификация привела к улучшению фармакокинетики, профиля безопасности и является единственным разрешенным препаратом в данной подгруппе рацетамов [69]. В недавних исследованиях было выявлено потенциальное негативное влияние на прочность и формирование костей, а также наблюдались изменения в поведении или настроении [74-75]. Однако

он улучшил память и когнитивные функции у пациентов с рефрактерными парциальными приступами и языковыми дисфункциями детей с доброкачественными приступами [76-77]. Ретроспективный анализ [78] и неконтролируемые испытания с участием пациентов как без эпилепсии [79], так и с эпилепсией [80] с тревогой и депрессией показали эффективность леветирацетама. Эти результаты могут свидетельствовать о том, что леветирацетам стимулирует определенное поведение и тормозит другие функции. Однако был выявлен благоприятный эффект при других показаниях, таких как аутизм. В отличие от предыдущего отчета, это не угнетало поведенческих расстройств у детей аутистов [81]. В качестве монотерапии он был неэффективным для лечения настроения и когнитивных расстройств, вызванных кортикостероидами [82].

Последние данные утверждают, что леветирацетам, вероятно, действует через альтернативный механизм своей противоэпилептической активности. В диапазоне терапевтических доз первоначально было показано, что он уменьшает поступление ионов в AMPA- и индуцированных токах в культивируемых нейронах коры мозга [83]. В отличие от других ноотропов группы рацетамов леветирацетам, очевидно, ингибирует нейрональные ионные каналы Ca^{2+} , которые, возможно, важны для его противоэпилептического эффекта [84-86].

В другом эксперименте с использованием модели судорог у мышей позже было продемонстрировано, что он связывается с синаптическими везикулами, а именно пептидом 2A (SV2A) в мембранах мозга и фибробластах. Данные коррелировали с клиническим применением леветирацетама в качестве противоэпилептического препарата [86].

В недавних исследованиях 4-Н-пропил-гомолог пирацетама под названием бриварацетам и дифторентенированное производное селетрацетам проявили потенциально противоэпилептическое действие на основе скрининга препаратов *in vitro* и тестов на животных [87]. Более высокая эффективность и, очевидно, общие механизмы действия,

продемонстрированные как для бриварацетама, так и селетрацетама, частично согласуются с клиническими результатами. Оба показали многообещающие, хотя и меньшие, чем ожидалось, преимущества во второй фазе испытаний [88]. Бриварацетам был безопасен для здоровых добровольцев. После перорального приема он быстро всасывается, достигая максимальной концентрации в плазме крови через 0,5–1 ч, а период полувыведения составил 7–8 ч. Наиболее распространенными побочными эффектами являлись сонливость и головокружение (подобно леветирацетаму), особенно при применении высоких дозировок. Применение этих средств привело к уменьшению частоты приступов у 55% пациентов и устранению судорог примерно у 8 пациентов [89]. Бриварацетам как вспомогательная терапия хорошо переносился с парциальными приступами у взрослых [90], хотя он не снизил частоту приступов в течение 7 недель лечения [91]. Хотя оба препарата могут быть не хуже леветирацетама, кажется, что существует определенный уровень неопределенности продолжения некоторых испытаний. Исследования бриварацетама для лечения эпилепсии, болезни Унверихта-Ландборга и нервной боли продолжается, а селетрацетам на данный момент приостановлена [92].

Бриварацетам и селетрацетам химические соединения нового поколения после леветирацетама, связываются с SV2A с более высоким сродством и клинически оцениваются в отношении их противоэпилептических свойств [93, 94]. Остается неясным, влияют ли эти препараты на другие физиологические роли SV2A или нарушают нормальный гомеостаз кальция в различных областях мозга. Маловероятно, что только один механизм действия работает *in vivo*, что обеспечивает селективное фармакологическое преимущество этих препаратов, учитывая близость их молекулярных структур и фармакодинамических свойств. Это утверждение особенно касается молекул указывающих на более значительные отличия в их химических структурах, чем большинство других аналогов.

Нефирацетам способен потенцировать рецепторы NMDA. В культивируемых корковых нейронах крыс это действие происходит опосредованно через активацию протеинкиназы С (PKC) и фосфорилирование одной из субъединиц гетеротетрамерного рецептора NMDA (NR1). Это, в свою очередь, усиливает связывание глицина с NMDA и устраняет подавление зависимых от напряжения токов, вызванных ионами Mg^{2+} [95]. Потеря ионов Mg^{2+} может открыть ворота и позволить Ca^{2+} поступать в цитозоль, вызывая деполяризацию. Такое действие может повлечь за собой чистый положительный или отрицательный эффект. Кроме того, предварительные противоречивые результаты потенцирования нефирацетамом рецепторов nACh типа $\alpha 4\beta 2$ в разных местах, возможно, согласованы, учитывая, что различные изоферменты PKC были задействованы в разных тканях [96]. Также существует вероятность того, что он в значительной степени взаимодействует с лиганд-управляемым рецептором NMDA. Это позволяет препарату угнетать чрезмерный $[Ca^{2+}]$ через каналы NMDA и, в меньшей степени, через зависимые каналы [96-97].

Фазорацетам модулирует подклассы метаботропных глутаматных рецепторов (mGluR), которые соединены с рецепторным комплексом G-белка, тем самым стимулируя или подавляя образование аденилатциклазы или циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). участие в различных процессах передачи сигнала, таких как обучение и память. Его роль была наиболее очевидной в смягчении дефицита обучения и памяти, вызванного одним из мощнейших ГАМК-миметиков, баклофеном, у крыс. Кроме того, повторное введение дозы фазорацетама усиливало регуляцию рецепторов GABA_B, что привело к возникновению антидепрессивного эффекта у крыс [98-100].

Колурацетам функционирует имеет некий другой механизм действия, который состоит в стимуляции высоко аффинных транспортеров холина [101] и усиление захвата холина в синапсах гиппокампа, таким образом облегчая синтез, высвобождение и доступность ацетилхолина [102].

Взаимосвязи между этими разнообразными сложными процессами на данный момент плохо изучены. Различные перекрывающиеся механизмы могут приводить к аддитивным, синергическим или антагонистическим эффектам, если в один прием вводится более одного из этих препаратов.

Фенильное производное пирацетама, фенотропил быстро всасывается и демонстрирует высокую биодоступность при пероральном приеме. Исследования на грызунах (100 мг/кг, внутримышечно, перорально) показали время абсорбции (400 мг/день) в сочетании с поливитаминами и физиотерапией [103-104]. Фенилпирацетам оказывал противоэпилептическое действие у грызунов. Его эффективная доза (300 мг/кг) на 50% уменьшила судорожный приступ, вызванный метрозолом (лекарственного средства, используемого в качестве стимулятора кровообращения и дыхания). Фенилпирацетам назначался пациентам в дополнение к одному стандартному противоэпилептическому препарату (вальпроиламид, карбамазепин, ламотриджин, топирамат, барбитурат или структурированную политерапию более чем одним из этих препаратов). Согласно этому, когнитивные функции пациентов с эпилепсией на основе теста MSE улучшились лишь в незначительной степени [105]. Результаты данного испытания рекомендовали фенилпирацетам в качестве дополнительного лечения эпилепсии. Изучена роль роль в патогенезе ишемического инсульта, у пациентов с острым церебральным инсультом. В испытании у пациентов, получавших фенилпирацетам, измеряли титры антител против основного белка миелина и фосфолипидов. Титры обоих антител снизились, что свидетельствует о возможном снижении текущей демиелинизации [106]. В параллельном исследовании с двумя группами пациентов, получавших одну таблетку (80 человек) и две таблетки (40 человек) в день, показатели MSE и тяжести инсульта значительно улучшились, но выявилась лишь тенденция к улучшению повседневной деятельности [107].

Причиной слепоты при глаукоме есть невропатия зрительного нерва и апоптоз клеток ганглиев. Использование нейропротекторного агента для

задержки или предотвращения гибели ганглиальных клеток было обоснованием недавнего исследования. Фенилпирacetам назначали пациентам с нестабильной открыто угловой глаукомой после нормализации глазного давления с помощью глазной гипотензивной терапии и лазерной пластики. Среднее количество слепых, островков потери или нарушение остроты зрения уменьшилось, а глаукома стабилизировалась у 80% пациентов во время 6-месячного наблюдения [108].

Родство фенилпирacetама с никотиновым рецептором ацетилхолина (nACh), но не с подтипом глутамата NMDA, было продемонстрировано в экспериментах по связыванию лиганда *in vitro*. Однако инъекция этого препарата (100 мг/кг, внутривентрикулярная) у крыс увеличивает количество как nACh, так и NMDA-рецепторов, но снижает аффинность к серотониновым и дофаминовым рецепторам в ткани мозга [109].

Аналог рацетамов Нефирацетам был разработан с целью лечения деменции. Он потенцировал никотиновые рецепторы ацетилхолина в первичной культуре кортикальных нейронов крыс в очень низких концентрациях (0,1–1 нмоль/л); в результате получены высокие результаты его активности [110]. В испытаниях его концентрация в крови достигала максимума через 2 часа с периодом полураспада 3-5 часов. Испытание второй фазы нефирацетама для пациентов с деменцией завершено, но результаты не опубликованы. Кроме того, нефирацетам не удалось продемонстрировать эффективность в 12-недельном исследовании когнитивного дефицита у пациентов с большой депрессией после инсульта. Дальнейший анализ показал заметное улучшение апатии в субпопуляции тех же лиц.

Небрацетам является холинергическим средством, преимущественно изучавшимся в Японии с конца 1980-х годов. У животных он оказывал нейропротекторное действие, возможно, из-за усиления как холинергических, так и лимбических норадренергических функций гиппокампа. Гистологические данные показали, что он защищает от

замедленной ишемической смерти нейрональных клеток в гиппокампе крыс, подверженных инсульту. В Европе были проведены клинические испытания на здоровых добровольцах, чтобы определить, влияет ли это на связанные с действиями церебральные потенциалы [111] и визуальное пространственное внимание [112]. Оба исследования не оказали существенного влияния на производительность памяти. Тем не менее, небольшое исследование с участием девяти пациентов продемонстрировало многообещающее улучшение деменции [113-114].

Изучено, что ролипрам подавляет фосфодиэстеразу типа 4 (ФДЭ4). Он имеет хорошую биодоступность и короткий период полураспада и, по-видимому, был безопасен в диапазоне доз 0,75–3 мг/сутки для людей. Его проверяли как антидепрессант в нескольких клинических испытаниях, но он был не лучше имеющихся препаратов, таких как амитриптилин [88, 89] и имипрамин [115, 116]. Его типичным побочным эффектом была тошнота, которая, вероятно, скомпрометировала его использование в качестве антидепрессанта. Нейропротекторный эффект ролипрама был очевиден в культуре клеток и животных. Он способствовал регенерации аксонов [117] и индуцировал восстановление диафрагмального нерва после травмы шейного отдела спинного мозга у крыс [118]. Эти результаты подтверждают его потенциальное использование для подобных состояний у людей. Однако ролипрам не смог снизить воспаления в мозге пациентов с рассеянным склерозом и даже продемонстрировал повышенную активность воспаления. Недавно было начато другое клиническое испытание по изучению корреляции между депрессией и модуляцией уровней цАМФ специфической PDE4. Также продолжается дополнительное исследование потенциального клинического применения ролипрама, предусматривающее лечение дефицита памяти и обучение после церебральной ишемии, вызванной эмболией [119].

Фазорацетам является относительно новым препаратом-кандидатом, имеющим потенциал усиливать когнитивных функций. Он быстро

всасывается после перорального введения у крыс (максимальная концентрация достигается через 0,5 ч), равномерно распределяется и выделяется преимущественно в неизменном виде почками [120]. Биодоступность у крыс, собак и обезьян составляла 97%, 90% и 79%, с периодом полураспада 0,91, 2,8 и 1,3 часа соответственно. В испытаниях на людях для пожилой категории выведения этого препарата заняло больше времени (период полураспада = 5,17 часа), чем у молодых людей (4,45 часа), что может ограничить его применение. Его безопасность и эффективность еще не установлены.

Тенденция рассмотренных исследований больше направлена на тестирование рацетамовых ноотропов для новых показаний. Эффективность этих препаратов по большинству показаний выглядит многообещающей, хотя большинство исследований неубедительны, и требуются хорошо контролируемых исследований. Их потенциальные нейропротекторные и нейрорегенеративные эффекты менее изучены. От низкой до умеренной активности большинства этих активных агентов и отсутствия целевой специфичности, возможно, способствовали частичной эффективности. В отличие от большинства ГАМК-миметиков, рацетамовые препараты относительно безопасны, достаточно динамичны и гибки, что является эффективным критерием для различных показаний. Долгосрочные последствия и потенциальные риски, связанные с применением этих препаратов не по назначению, неизвестны. Механизмы их действия также недостаточно изучены. Затруднительно исключить потенциальные рекомендации в дизайне, моделировании заболевания и интерпретации показателей результатов испытаний, особенно после выявления эффективности определенного препарата. Усовершенствование дизайна рацетамов нового поколения может привести к улучшению клинической эффективности.

ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 1

1. Систематизированы, проанализированы и обобщены данные литературных источников касательно изучению двух и трехмерных структур пирролидинов а также современных исследований рацетамовых ноотропов для новых показаний.
2. Установлены рекомендации в дизайне, моделировании заболевания и интерпретации показателей результатов испытаний, особенно после выявления эффективности определенного препарата.
3. Обобщая данные научных исследований, установлено, что усовершенствование дизайна рацетамов нового поколения может привести к улучшению клинической эффективности.

РАЗДЕЛ 2. ХАРАКТЕРИСТИКА И АРГУМЕНТАЦИЯ ВЫБОРА ОБЪЕКТОВ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследований, характеристика структур.

С целью оптимизации поиска ноотропных средств мы провели структурную модификацию основного каркаса 1-бензил-4-пирролидин-2-она с другой фармакофорной группировкой. Модификацию базового скаффолда проводили с помощью программы Marvin Sketch 20.5. Таким образом были получены 4 новых производных с замещением в бензильном и пирролидиновом фрагментах (рис. 2.1).

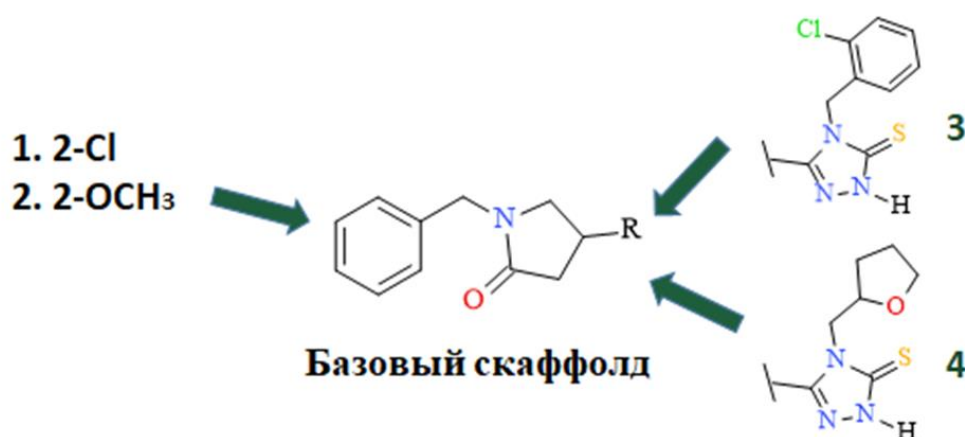
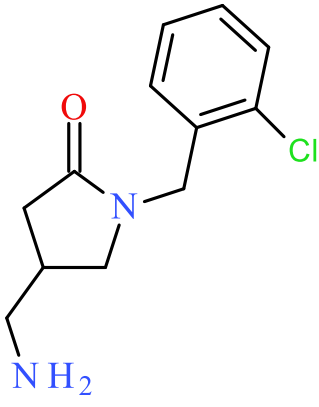
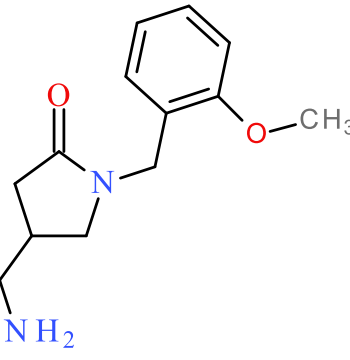


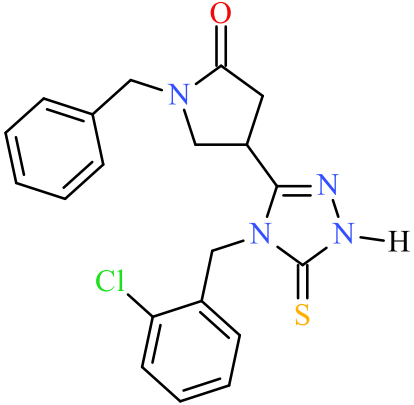
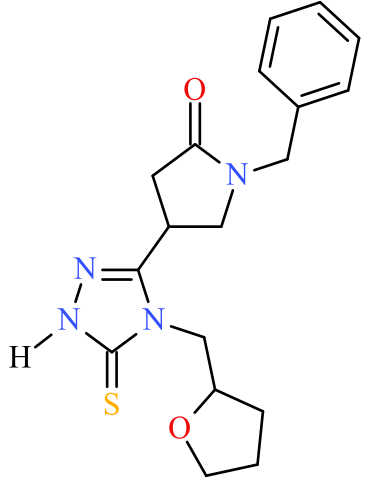
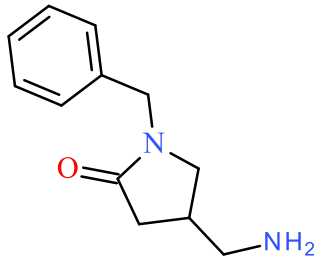
Рис. 2.1. Модификация базового скаффолда 1-бензил-4-пирролидин-2-она

Выбор 1-бензил-4-пирролидин-2-она был обусловлен структурным сходством с известными ноотропами. Для модификации были выбраны замещенные 5-тио-1,2,4-триазольные фрагменты и заместители разной электронной природы. Производные 1,2,4-триазола являются малотоксичными, высоко реакционно способными веществами, что позволяет их легко сочетать в одной структуре с другими фармакофорными фрагментами. Большинство производных этого ряда обладают высокой фармакологической активностью, имеют высокий аффинитет к разным

биологическим мишеням. Введение в базовую структуру 5-тио-1,2,4-триазольного фрагмента, имеющего не поделённые электронные пары, может способствовать образованию межмолекулярных донорно-акцепторных взаимодействий с атомами аминокислотных остатков соответствующего пептида. Насыщение триазольного каркаса, положения C1 и C4, замещенных ароматических и гетероциклических фрагментов могут повлиять на повышение активности. Введение заместителей различной электронной природы в бензильный фрагмент базового каркаса может повлиять на образование стабилизационных контактов, что в свою очередь может повысить сродство к исследуемым рецепторам. В таблице 2.1 представлены химические структуры генерируемых молекул

Таблица 2.1. Химические структуры генерируемых молекул

	<p><i>4-(аминометил)-1-[(2-хлорфенил)метил]пирролидин-2-он (1)</i></p>
	<p><i>4-(аминометил)-1-[(2-метоксифенил)метил]пирролидин-2-он (2)</i></p>

	<p><i>1-бензил-4-{5-сульфанилиден-4-[4-(2-хлорфенил-метил)-4,5-дигидро-1H-1,2,4-триазол-3-ил}пирролидин-2-он (3)</i></p>
	<p><i>1-бензил-4-{5-сульфанилиден-4-[(оксолан-2-ил)метил]-4,5-дигидро-1H-1,2,4-триазол-3-ил}пирролидин-2-он (4)</i></p>
	<p><i>Небрацетам</i></p>

2.2. Аргументация выбора метода молекулярного докинга

Молекулярная стыковка или докинг - это процесс молекулярного моделирования, при котором можно предсказать предпочтительную ориентацию связывания одной биомолекулы с другой, что приводит к образованию стабильного комплекса. Информация о биомолекулярном комплексе может быть полезна для анализа энергий ассоциации или энергии связи с использованием специальных функций подсчета. Относительная ориентация связывания биомолекул индуцирует различные сигналы во время биологических процессов, что приводит к агонистическим или антагонистическим явлениям. Следовательно, изучение аффинности связывания и ориентации связывания биомолекул имеет ключевое значение для понимания силы и типов сигналов. Также в условиях болезни знания о биомолекулярных комплексах необходимы для их регуляции путем рационального конструирования низкомолекулярных ингибиторов в качестве лекарств [121]. Проблема молекулярной стыковки может быть определена как проблема оптимизации, в которой пытаются определить наиболее подходящую ориентацию лиганда для связывания с интересующей мишенью. Связывание лиганда с белком может быть связано с моделью «ключ-замок», где правильный ключ (ингибитор) содержит правильную конформацию, чтобы вписаться в замок (рецепторный участок). Однако в физиологических условиях и замок, и ключ не являются статичными объектами. Конформация лиганда изменяется в зависимости от сайта связывания белка, и аналогичным образом остатки сайта связывания белка приспособляются к лиганду. Структурные изменения в остатках сайта связывания являются минимальной реакцией на лиганд-индуцированные изменения в белках, потому что во многих случаях также могут происходить лиганд-индуцированные крупномасштабные перестройки доменов. Следовательно, лучший протокол стыковки должен определять проблему стыковки как модель «индуцированного соответствия» [122]. В начале 1980-х годов исследования ассоциации двух жестких биомолекул были инициированы протоколами

стыковки. Позже разработка алгоритмов поиска и подсчета позволила ввести гибкость лиганда в эти процедуры докинга, так называемый «полу гибкий» докинг. Кроме того, важность конформационной выборки рецепторов была установлена, поскольку в биомолекулах наблюдалось все больше и больше индуцированных лигандами крупномасштабных изменений, что привело к разработке гибких алгоритмов докинга в середине 1990-х годов. В течение этого периода разработки было выявлено несколько новых применений протоколов докинга, начиная от простого докинга белок-лиганд и заканчивая перепрофилированием лекарств и прогнозированием побочных эффектов [123]

Для процедуры молекулярной стыковки основными требованиями являются структура рецептора и лигандов (макромолекула или малая молекула), процедуры конформационного поиска для выборки конформаций рецептора и лиганда, а также некоторая схема ранжирования или оценки для определения наилучшей ориентации стыковки. Трехмерную структуру рецептора можно получить с помощью экспериментальных методов, таких как рентгеновская кристаллография и ЯМР, или с помощью методов компьютерного прогнозирования структуры, таких как моделирование гомологии [124]. Точно так же трехмерную структуру лигандов можно получить из химических баз данных, или, если соединения достаточно малы, структуры можно нарисовать с помощью программного обеспечения, такого как ChemDraw или ISISDraw. Эти структуры представляют собой статические конформации, которые необходимо отбирать на предмет их минимальной энергии, физиологически стабильных конформаций с использованием алгоритмов поиска [125].

Для докинга лиганда необходимо знать его место связывания в структуре рецептора. Сайты связывания лиганда обычно представляют собой сайт связывания субстрата или, в некоторых случаях, это может быть аллостерический сайт. Протоколы стыковки составляют энергетическую карту (также называемую «сеткой») формы, размера и свойств сайта

связывания, которая используется в качестве руководства для поиска наиболее подходящей ориентации лиганда. Кроме того, конформации лиганда, сгенерированные алгоритмами конформационного поиска, пристыковываются к рецептору с использованием сгенерированной «сетки». Энергия взаимодействия дает общее представление о качестве закрепленной позиции. Энергии взаимодействия или функции, используемые для ранжирования закрепленной позиции или положения, называются оценочными функциями, которые варьируются в зависимости от параметров, используемых для расчета аффинности связывания [126].

Жесткая стыковка является одним из протоколов быстрой стыковки, в котором структурам рецептора и лиганда не разрешены какие-либо колебательные степени свободы. Наиболее распространенное предположение о жестком докинге состоит в том, что связывание лиганда с рецептором обусловлено их комплементарной природой. Комплементарность может быть основана на структуре, например, на молекулярной поверхности или комплементарности формы, или на химических свойствах взаимодействующих групп. Для учета комплементарности формы молекулярная поверхность рецептора и лиганда используется в качестве дескриптора. Точно так же химическая природа взаимодействующих групп в рецепторе и лиганде считается комплементарной в методе горячих точек. Хотя схемы геометрической комплементарности быстры и надежны, эти методы не могут объяснить какой-либо гибкости как рецептора, так и лиганда [127]. Белок-белковые взаимодействия обычно считаются основанными на комплементарности формы и, следовательно, они реализованы в нескольких инструментах стыковки белок-белковых взаимодействий, таких как PATCHDOCK и ZDOCK [128]. Из-за меньшего количества степеней свободы, используемых в этих методах, жесткие протоколы докинга могут использоваться для скрининга миллионов соединений за очень короткое время по сравнению с другими гибкими методами докинга. В сочетании со схемами конформационной выборки

протоколы жесткой стыковки дают наилучшие результаты. Поскольку химические свойства также учитываются в критерии комплементарности, жесткий докинг также можно комбинировать с подходами на основе фармакофоров для крупномасштабных скрининговых исследований.

Полугибкий докинг основан на предположении, что конформация белка, используемая в процессе докинга, является биоактивной конформацией, с которой будет связываться лиганд. Следовательно, только лиганд может быть гибким со всеми конформационными степенями свободы. Основным недостатком этого метода является то, что предположение об использовании одной конформации белка в качестве биоактивной не всегда верно, и связывание «индуцированного соответствия» невозможно. Существует несколько алгоритмов стыковки, следующих за гибкая модель, которую можно в целом классифицировать на основе их схем конформационного поиска следующим образом [129].

Методы систематического поиска В этих методах конформации лиганда систематически отбираются с использованием равномерного приращения для каждой степени свободы, а затем обрабатываются все значения для всех степеней свободы комбинаторным способом. Сложность можно объяснить с помощью уравнения, вычисляющего количество торсионных конформаций, отобранных систематическим поиском. Метод систематического поиска производит выборку всего конформационного ландшафта до тех пор, пока не будет достигнута структура с минимальной энергией. Чтобы достичь глобальных минимумов, конформационная выборка должна быть выполнена с использованием нескольких исходных структур из разных точек конформационного ландшафта. Эти методы отбирают огромное количество конформаций и далее классифицируются на основе принятой техники выборки для повышения скорости и точности [130].

Исчерпывающий поиск: этот метод поиска представляет собой строгий систематический поиск, при котором систематически ищутся все возможные конформеры, созданные путем объединения всех степеней свободы. Этот

метод приведет к комбинаторному взрыву, если его не проверить введением определенных критериев завершения для ограничения области поиска.

Алгоритм Glide использует исчерпывающий поиск в конвейере стыковки. Glide предварительно вычисляет сеточное представление свойств и формы активного сайта рецептора вместе с исходной библиотекой предсказанных конформаций лиганда с минимальной энергией. Ограничивая конформационное пространство лиганда с помощью представления сетки в качестве направляющего фактора, количество отобранных конформаций значительно сокращается. После этого осуществляется поиск с высоким разрешением, который включает оптимизацию лиганда с помощью силовых полей ММ и поиск минимумов на основе метода Монте-Карло. Поиск на основе фрагментов: интересующий лиганд делится на небольшие фрагменты с последующим жестким пристыковыванием этих фрагментов к рецепторному участку и построением связей фрагментов. Частичная гибкость вводится в процессе соединения фрагментов. Инкрементное построение представляет собой двухэтапный поиск фрагментов, который разделяет молекулу на жесткую (основную) основу и гибкую (боковые цепи или функциональные группы) части. Другие методы поиска на основе фрагментов реализуют критерии дистанционной геометрии (например, DOCK) или алгоритм быстрого сопоставления форм (ZDOCK и FlexX) [131, 132].

Конформационный ансамбль: этот метод поиска усиливает полезность протокола жесткой стыковки для быстрого и надежного процесса стыковки. Гибкость лиганда вводится созданием ансамбля конформеров, различающихся по всем степеням свободы. Все эти конформеры затем могут быть состыкованы с рецептором с использованием жесткого протокола стыковки, реализованного в таких инструментах, как EUDOC и MS-DOCK [133].

Методы стохастического поиска Методы Монте-Карло: работают путем создания случайных начальных конфигураций лигандов и оценки их в

сайте связывания рецептора. Для любого заданного лиганда применяется случайная конфигурация для всех степеней свободы с использованием алгоритма генератора случайных чисел. Каждая конформация лиганда помещается в сайт связывания рецептора и оценивается с использованием функции оценки (например, энергии). На следующем этапе в эту конформацию вносится небольшое изменение, которое оценивается с использованием той же функции оценки. Если оценка нового экстерьера улучшается, то новая поза принимается. В противном случае его принятие или отклонение в качестве новых минимумов основано на критериях Метрополиса, определенных функцией вероятности на основе Больцмана. Если новая конформация проходит этот критерий, то она принимается как новый минимум. Вся эта процедура повторяется до тех пор, пока не будет сгенерировано желаемое количество конформаций лиганда. Основное преимущество использования метода поиска Монте-Карло заключается в том, что лиганды никогда не остаются в ловушке локальных минимумов, поскольку конформеры генерируются случайным образом, независимо от предыдущих состояний. Однако конформация лиганда посещенные ранее в поиске могут появиться снова, потому что они генерируются случайным образом и предыдущие состояния не запоминаются. Инструменты стыковки, такие как ICM и AUTODOCK VINA, реализуют алгоритм поиска на основе Монте-Карло [134].

Метод табу-поиска – это эвристический метод, дающий приблизительные решения очень сложных задач оптимизации. Первоначально набор случайных конформаций генерируется и ранжируется с использованием фитнес-функции. Случайные конформации генерируются методом локального поиска путем модификации нескольких степеней свободы в каждой конформации. Изменения, внесенные в конформеры, отвергнутые функцией пригодности (или «табу»), записываются для дальнейшего процесса отбора. Любое новое положение с оценкой пригодности лучше, чем ранее принятые, будет принято, даже если оно

находится в списке табу. Или будет принято лучшее положение, не связанное с Табу. Этот поиск повторяется до тех пор, пока не будет найден минимум. Методы табу-поиска показывают высокую точность, и, как и любой другой метод стохастического поиска, конформационный поиск не попадает в ловушку локальных минимумов. Поскольку все сгенерированные конформации записываются в кратковременную память, ранее посещенные конформации не посещаются повторно. PSI-DOCK и PRO_LEADS— два таких инструмента стыковки, использующие метод табу-поиска [135].

Эволюционные алгоритмы: алгоритмы основаны на принципах эволюции. В биологии эволюция управляется мутациями и кроссинговером хромосом и связанных с ними генов. В этой аналогии каждая степень свободы в лиганде кодируется геном, а хромосома представляет собой совокупность всех генов, описывающих конформер лиганда. Наиболее часто используемым эволюционным алгоритмом является генетический алгоритм (ГА). В GA каждой хромосоме присваивается оценка пригодности, и эта оценка оценивается, чтобы решить, является ли хромосома жизнеспособной или нет. В протоколах стыковки оценка пригодности обычно рассчитывается как общая энергия взаимодействия лиганда с белком. События кроссовера происходят внутри хромосом, приводя к новому поколению или новым конформациям лиганда, оценки пригодности которых снова оцениваются. Основываясь на показателях пригодности предшественников, новые наследуют структурные особенности, и, следовательно, наследуются только те изменения, которые приемлемы для лиганда. Кроме того, у новых конформаций происходят случайные мутации, создающие совершенно новый ген у потомства. После всех этих изменений потомство принимается только в том случае, если его значение пригодности лучше, чем у предшественников. Поскольку в этих алгоритмах задействовано несколько параметров, таких как частота мутаций, частота скрещивания и количество генерируемых потомков, их функции оценки несколько сложны. Эти алгоритмы могут быть полностью основаны только на структуре лиганда; однако, включив

информацию о сайте связывания рецептора, можно значительно повысить эффективность и точность этих алгоритмов. Программа докинга GOLD требует дополнительных знаний о размере и расположении сайта связывания лиганда в рецепторе. Модификацией ГА является ламарковский ГА, реализованный в AutoDock 3 и 4. В дополнение к генотипическим эффектам ламарковский ГА включает в алгоритм поиска «фенотипические эффекты». Мутации и кроссоверы обрабатываются в генотипах, тогда как фенотип зависит от энергетической функции после оптимизации лиганда. Структурные изменения (фенотипические изменения), наблюдаемые после оптимизации лиганда, отображаются обратно на гены, которые передаются следующим поколениям [136].

Гибкий докинг. Наиболее важным недостатком методов докинга является исключение гибкости белка. Было предпринято несколько попыток включения белковой гибкости, и некоторые из них оказались успешными при включении различных степеней конформационной гибкости белка. Эти методы используют либо единственную конформацию белка, интегрирующую гибкость боковой цепи, либо сложные алгоритмы, использующие множественные конформации белка. *Конформация одного белка.* В этих методах для стыковки используется только одна конформация белка и обеспечивается гибкость на различных уровнях. Мягкая стыковка: это самый простой метод включения неявной и довольно неопределенной гибкости в боковые цепи белка. Однако этот метод моделирует эффект индуцированной стыковки, учитывая лишь очень небольшую степень гибкости. Кроме того, архитектура связывания, полученная с помощью этого метода, нереалистична, поскольку уточнение докинговых комплексов привело бы к столкновениям атомов между белком и лигандом [137].

Гибкость боковой цепи: этот метод обеспечивает несколько более высокий уровень гибкости, чем протокол мягкой стыковки. Боковые цепи остатков в активном центре обеспечивают гибкость за счет введения альтернативных конформаций, как правило, с использованием доступных

библиотек ротамеров. В некоторых инструментах стыковки, таких как GOLD, протокол локального поиска используется для выборки нескольких степеней свободы. При рассмотрении гибкости только боковых цепей основным недостатком этого метода является исключение крупномасштабных конформационных изменений белка [138].

Множественные конформации белка. Несколько немного сложных протоколов стыковки могут использовать более одной конформации интересующего белка для моделирования гибкости белка. Различные конформации белка могут быть получены экспериментальными методами или вычислительными методами, как моделирование МД или Монте-Карло. Эти методы следуют различным стратегиям включения структурного разнообразия белка. Средняя сетка: ансамбль конформаций белков, полученных с помощью различных методов выборки, сводится в единую сетку путем усреднения по ансамблю. Усреднение может быть простым средним или средневзвешенным смещением по нескольким конформациям ансамбля [139].

Единое описание: Путем сравнения ансамбля конформаций белка идентифицируются структурно консервативные и динамические (или гибкие) области. Жесткая область объединяется в единое описание атома, которое затем объединяется с гибкими частями комбинаторным образом для создания пула «химерных» белковых конформаций. Инструмент стыковки FlexE выполняет гибкую стыковку, создавая такой «химерный» пул, к которому стыкуются все лиганды. Индивидуальные конформации: этот метод является наиболее подробным гибким протоколом стыковки, где лиганды стыкуются с каждой конформацией белка, предоставленной в качестве входных данных [140]. Результаты, полученные в результате этих исследований гибкой стыковки, полностью основаны на конформациях белка, выбранных в качестве входных данных.

Функция оценки и типы. Функции оценки — это математические функции, используемые в методах молекулярного докинга для ранжирования

состыкованных комплексов. Эти функции действуют как селектор позиции и дают представление о сродстве связывания между двумя состыкованными молекулами. Эти функции помогают различать связывающие и не связывающие вещества из большого количества закрепленных конформаций, созданных за один прогон стыковки. Двумя взаимодействующими партнерами могут быть любые пары биомолекул, такие как белок-малые молекулы, белок-белок или даже комплексы белок-нуклеиновая кислота [141]. Доступные функции оценки подпадают под четыре широкие классификации.

Оценочные функции на основе силового поля. Энергия системы может быть рассчитана с использованием силовых полей на основе ММ. Связанные или внутримолекулярные энергетические термины описывают колебательную энергию отдельных молекул, тогда как не- или межмолекулярные энергетические термины являются основной движущей силой взаимодействия рецептор-лиганд. Применяя силовые поля на основе ММ, эти межмолекулярные энергии можно рассчитать и использовать для подсчета позиций в стыровке. В дополнение к vdW, электростатическим взаимодействиям и взаимодействиям с Н-связями некоторые скоринговые функции также включают внутримолекулярную энергию лигандов. Поскольку конформации лигандов в связанном и несвязанном состояниях значительно различаются, лиганды после докинга обычно приобретают энергию деформации. Несколько функций оценки учитывают эту деформацию, включая энергию деформации в качестве штрафа в функцию оценки, так что конформации лиганда, которые слишком ограничены для связывания в активном центре, будут устранены. Энергии десольватации лиганда и рецептора также играют важную роль в определении аффинности связывания, которая также учитывается в некоторых оценочных функциях с использованием модель неясного растворителя, такая как GBSA или PBSA. Несколько примеров программного обеспечения, использующего функции оценки на основе силового поля, — это DOCK, GoldScore in GOLD и

AutoDock [142].

Эмпирические функции оценки. Как следует из названия, эти функции оценки обучаются с использованием средства связывания известного набора данных. Эти функции количественно определяют различные типы взаимодействий и применяют коэффициент для взвешивания этих взаимодействий, причем коэффициенты оптимизируются с использованием обучающего набора. Различные эмпирические энергетические термины, используемые в этих оценочных функциях, могут варьироваться от благоприятных несвязанных взаимодействий, таких как vdW, электростатические взаимодействия и взаимодействия Н-связей, до неблагоприятных энергетических терминов, таких как десольватация и энергии деформации. Эти оценочные функции являются быстрыми, и поэтому они обычно используются в крупномасштабных скрининговых исследованиях, таких как виртуальный скрининг и дизайн лиганда de novo [143]. Поскольку эти оценочные функции оптимизированы на основе наборов данных с известной аффинностью связывания, их можно модифицировать и уточнять легче, чем другие оценочные функции. Растущая доступность биомолекулярных комплексов с данными об их аффинности связывания и развитие современных технологий предоставили широкие возможности для повышения точности эмпирических оценочных функций. Оценочные функции, такие как LUDI, Chem-Score, ID-Score и GlideScore, были разработаны в режим эмпирических скоринговых функций [144].

Оценочные функции, основанные на знаниях. Эти функции работают на предположении, что взаимодействующая пара, встречающаяся чаще в известных биомолекулярных комплексах, должна быть энергетически благоприятной. Путем анализа известных трехмерных структур биомолекулярных комплексов, доступных в таких базах данных, как банк данных белков или банк структурных данных Кембриджа, можно вычислить частоту взаимодействующих пар атомов и энергетическую составляющую или «потенциалы средней силы». Для оценки состыкованного комплекса

энергии для каждой взаимодействующей пары атомов берутся из этих предварительно рассчитанных и табличных энергий (или потенциалов средней силы) и суммируются для получения оценки. Несколькими примерами функций оценки, основанных на знаниях, являются DrugScore, PMF и GOLD/ASP [145].

Функции оценки на основе машинного обучения. Последний бум в технологическом и информационном секторе привел к развитию функций оценки на основе машинного обучения и искусственного интеллекта. Это модели на основе регрессии, которые обучены прогнозировать либо аффинность связывания, либо классифицировать активные/неактивные лиганды, либо делать и то, и другое. Было показано, что методы линейной и нелинейной регрессии, примененные к кластеризованным данным KNN или данным, выбранным из алгоритма случайности, классифицируют активные/неактивные комплексы с хорошей точностью [146]. В последнее время алгоритмы самообучения, такие как машины опорных векторов и нейронные сети, применяются для создания целевых моделей лекарств и прогнозов партнеров по взаимодействию [147]. Функции оценки консенсуса разработаны путем объединения любого из вышеперечисленных функции подсчета очков, чтобы делать точные прогнозы, включая гораздо больше параметров взаимодействия. Несколько примеров функций оценки консенсуса: SMOG2016 (эмпирическая и основанная на знаниях), DockTScore из программы DockThor (эмпирическая и основанная на силовом поле) и GalaxyDock. Оценка BP2 (эмпирическая, основанная на знаниях и силовом поле) [148].

Недавние разработки в области компьютерных технологий открыли широкие возможности во всех аспектах жизни, и то же самое можно сказать и о научных разработках. Вычислительная биология и биоинформатика являются ключевыми примерами, возникшими из фундаментальных наук путем интеграции как физических, так и биологических наук в рамках вычислительной платформы. Несмотря на ограничения экспериментальных

методов в химическом и биологическом пространстве, теперь можно рассматривать сложные клеточные компоненты как полностью атомистическую структурную модель, а взаимодействия внутри молекулярной сети можно хорошо анализировать в атомном масштабе. Появление передовых вычислительных подходов в области открытия лекарств изменило подход к молекулярной стыковке со статического на динамический характер события связывания, что более подходит для выбора многообещающей конформации лиганда из его структурного ансамбля. Несмотря на то, что последние два десятилетия стали свидетелями быстрого прогресса в концепциях молекулярного докинга, некоторые вопросы, такие как «представление более точной скоринговой функции», в которых модели растворителей играют ведущую роль, по-прежнему остаются сложными.

ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 2

1. С целью оптимизации поиска ноотропных средств была проведена структурная модификация основного каркаса 1-бензил-4-пирролидин-2-она с другой фармакофорной группировкой. Для модификации были выбраны замещенные 5-тио-1,2,4-триазольные фрагменты и заместители разной электронной природы. В качестве препарата сравнение выбрано Небрацетам в связи со структурным подобием базового скаффолда.
2. Выбор молекулярного докинга для оптимизации поиска новых молекул направленного действия обусловлен наибольшей вероятностью прогнозирования активности и предоставления качественной и количественной оценки связывания с мишенью. Такие возможности прогнозирования могут быть полезны для дальнейших экспериментальных исследований и молекулярного дизайна будущих активных молекул.

РАЗДЕЛ 3. ДОКИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НООТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ РАЦЕТАМОВ

3.1. Органайзер кристаллографических моделей ноотропных мишеней

Полученные данные литературных источников свидетельствует о том, что механизмы действия рацетамов остаются до конца не выясненным. Были задействованы дифференциальные эффекты на подтипы глутаматных мишеней, не прямое влияние на ацетилхолиновые рецепторы; активация поступления кальция в нейрональные клетки; связывание с другими нейронными рецепторами и т.д. В связи с этим актуально выявление рецепторов и синаптических процессов, за счет которых известные ноотропы оказывают влияние на когнитивные функции, а также реализуют неспецифические эффекты. С большей вероятностью воздействия на глутаматные и ацетилхолиновые рецепторы целесообразно создать органайзер кристаллографических моделей ноотропных мишеней и выбрать оптимальную для молекулярной стыковки сгенерированных объектов.

Глутаматные или рецепторы N-метил-d-аспартата (NMDA) требуют связывания глицина и остатка глутамата в сочетании с рельефом зависящего от напряжения магниевого блока для раскрытия соответствующих ионных каналов в слое мембраны. Важность рецептора N-метил-d-аспартата в развитии и функционировании мозговой деятельности недостаточно определена, так как молекулярная структура интактного рецептора остается неуловимой. В связи с этим были представлены рентгеновские кристаллические структуры рецептора NMDA GluN1-GluN2B *Xenopus laevis* с со кристаллизованным аллостерическим ингибитором Ro25-6981, частичным агонистом и блокатором ионных каналов МК-801. Рецепторные домены расположены по соответствующем порядке 1-2-1-2, что указывает на взаимодействие между аминным концом и лиганд связывающими участками. Трансмембранные домены содержат пирамидальный центральный сайт, закрытый ионный канал, состоящий из остатков аминокислот, участвующих

в связывании блокаторов ионных каналов и магния. Архитектура образовавшегося гетеромера предполагает наличие и примерного расположения ионного канала. Эти структуры дают новое представление о структуре, аллостерической связи и функции ионных каналов рецепторов N-метил-D-аспартата (NMDA) (рис. 3.1) [149].

В исследовании [150] показано, что удаление остатков аминоконечных из рецептора NMDA GluN1-GluN2B дает функциональный рецептор и кристаллы с мощными дифракционными свойствами, что позволяет установить сайт связывания блокатора рецептора NMDA, МК-801. Эта кристаллографическая структура с элементами молекулярной динамики во временном масштабе указывает на то, как МК-801 и мемантин связываются с ионным каналом, затем способствуют закрытию ионного канала и задерживаются между ними. Архитектура мишени представлена комбинацией М3-спираль-пучек и петли М2-пор, которые участвуют в блокировании проникновения ионов (рис. 3.1)

В результате поиска новой модели для исследования было найдено описание архитектуры пептида GluN1/GluN2A/GluN2B при отсутствии или наличии GluN2B-специфического аллостерического модулятора Ro 25-6981 (Ro), определенного посредством криогенной электронной микроскопии (крио-ЕМ). В случае недостатка аллостерического модулятора аминоконечные домены GluN2A и GluN2B принимают «закрытые» и «открытые» соответствующих пор. После связывания Ro раскладка GluN2B переходит из открытой конформации в закрытую. Согласно доминированию субъединицы GluN2A в открытии ионных каналов, субъединица GluN2A более интенсивно взаимодействует с субъединицами GluN1 по всей белку, чем субъединица GluN2B. Трехмерные архитектуры глутаматных рецепторов показывают, как включение двух разных субъединиц GluN2 изменяет симметрию рецептора и взаимодействие субъединиц. Такое сочетание позволяет каждой субъединице влиять на структуру и функцию пептида рецептор (рис. 3.1) [151].

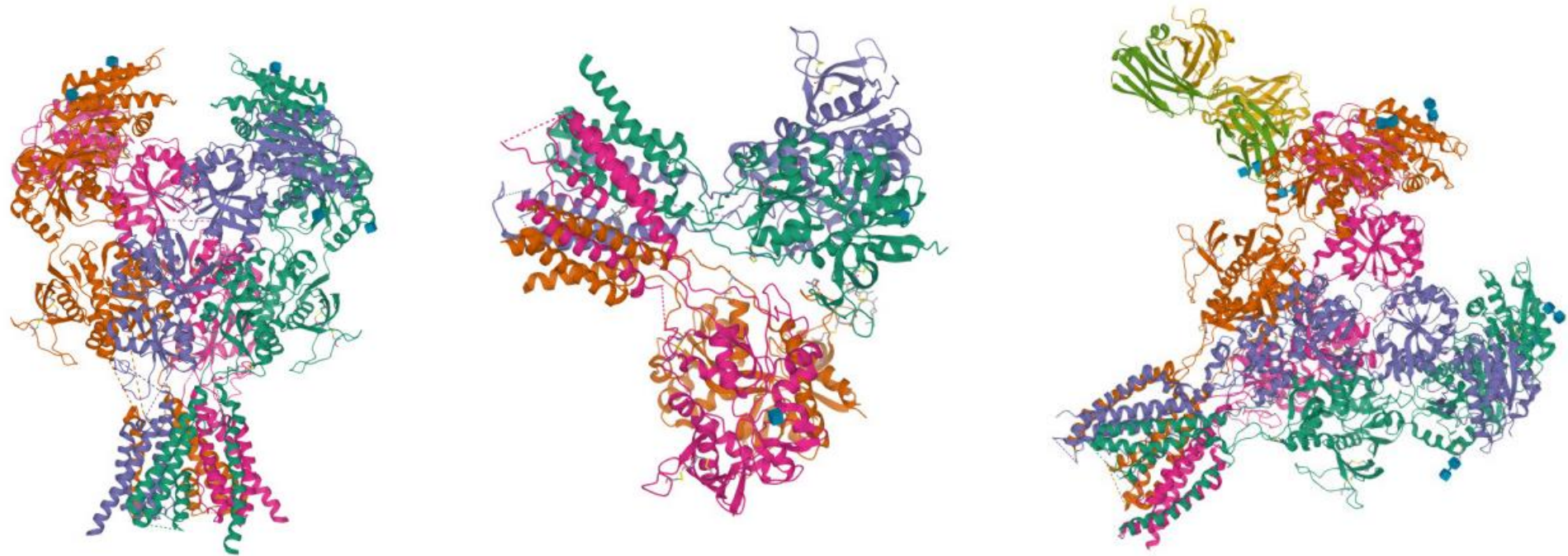


Рис. 3.1. Кристаллографические модели рецептора N-метил-d-аспартата (PDB ID: 4LTM, 5UN1, 5UOW)

Мускариновые ацетилхолиновые рецепторы являются G-белковыми мишенями, которые берут участие в регуляции жизненно важных функций центральной и периферической нервной системы. Существуют кристаллические структуры мускариновых рецепторов M1 и M4, которые кристаллизованы с обратным агонистом, тиотропием. Отличием этих архитектур со структурами рецепторов M2 и M3 состоит в ортостерических и аллостерических сайтах связывания, которые играют важную роль в селективности лекарственных молекул в этой группе мишеней. Также сообщалось об идентификации кластера остатков, образующих сеть, соединяющую ортостерические и аллостерические сайты рецептора M4. Такая особенность архитектуры дает новое понимание того, как аллостерическая модуляция может передаваться между двумя пространственно различными доменами пептида (рис. 3.2) [152].

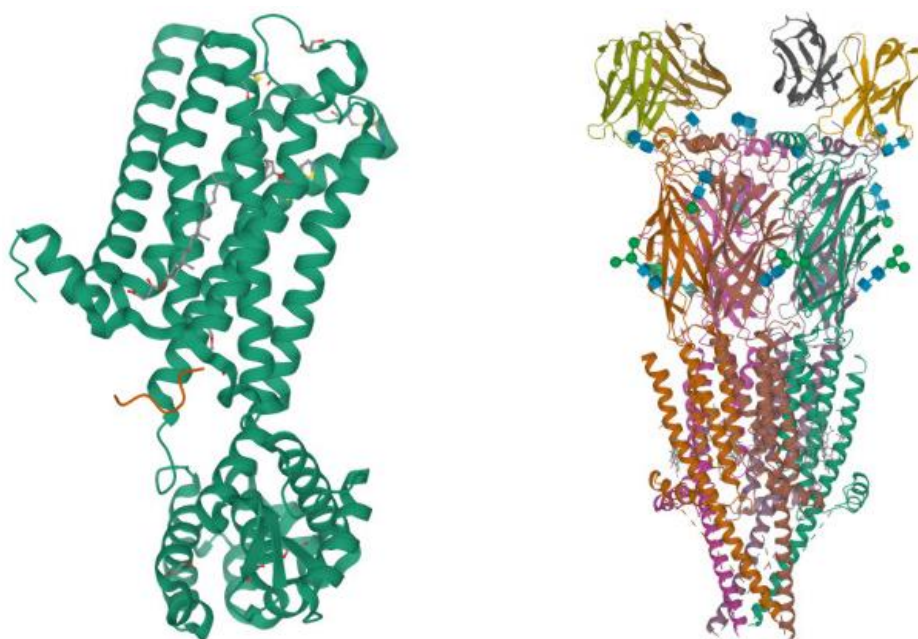


Рис. 3.2. Кристаллографические модели мускаринового и никотинового ацетил холиновых рецепторов (PDB ID: 5CXV, 6PV7)

Ацетил холиновые никотиновые мишени представляют собой полимерные ионные каналы, которые обеспечивают быструю химическую передачу нейронного импульса. Подтип никотинового рецептора $\alpha 3\beta 4$

образует главную связь между центральной и периферической нервными системами в вегетативных ганглиях. Этот рецептор также экспрессируется локально в областях мозга. Архитектуры никотинового рецептора $\alpha 3\beta 4$ используют функциональное восстановление для определения липидов, пригодных для структурного анализа. Структуры рецептора в комплексе с никотином, а также $\alpha 3\beta 4$ -селективного лиганда АТ-1001 с элементами молекулярной динамики придают представление о селективности агонистов. Эти фрагменты раскрывают большую часть структуры внутриклеточного участка, где явление мутагенеза и моделирования определяют остатки, которые регулируют ионную проводимость (рис. 3.2) [153].

Кристаллографические модели рецепторов глутамата NMDA и ацетилхолина для молекулярного докинга были взяты из банка данных Protein data bank. Наиболее оптимальными моделями для молекулярной стыковки выбраны ID PDB: 5UOW, 5CXV в связи со спецификой архитектуры данных мишеней и наличием со кристаллизованных модуляторов, которые заранее предполагают домены будущей стыковки.

3.1. Молекулярный докинг новых рацетамов как потенциальных ноотропных агентов.

Для молекулярной стыковки был использован пакет программ Autodock 4.2. Подготовку лигандов проводили с помощью программы MGL Tools 1.5.6. Оптимизация лигандов в соответствующий формат PDB проводилась с помощью программного приложения Avogadro. Для проведения докинга исходные форматы исследуемых молекул и рецепторов (белков) в программе Autodock 4.2 были сконвертированы в формат PDBQT. Карты рецептора готовили в программах MGL Tools и AutoGrid. Из PDB файлов ID: 5UOW 5CXV были удалены молекулы воды, ионы и лиганды.

Параметры докинга приведены в таблице 3.1

Таблица 3.1. Параметры молекулярной стыковки (докинга)

Параметр	Значения
шаг поступательного движения	2 Å
толерантность кластера	2 Å
коэффициент торсионной свободы	0,2983
внешняя энергия решетки	1000
максимальная начальная энергия	0
максимальное количество попыток	10000
количество структур в популяции	150
максимальное количество генераций	27000
максимальное количество этапов оценки энергии	2500000
количество структур, переходящих в следующее поколение	1
уровень кроссовера	0.8
способ кроссовера	арифметический
β -параметр распределения Гаусса	1
α -параметр распределения Гаусса	0
уровень генной мутации	0,02

Визуализация стыковочных комплексов исследуемых молекул в активных сайтах рецепторов была получена с помощью программы Discovery Studio Visualizer.

По результатам молекулярного докинга рассчитывали: скоринговую функцию (Affinity DG), величину свободной энергии связывания и константы связывания ($E_{Dос}$ ккал/моль и K_i мкМ (микромоль)) для лучших конформационных положений изучаемых лигандов. Рассчитанные значения указывают на умеренную активность как глутаматных, так и ацетил холиновых рецепторов, все значения в основном находятся на уровне референтных значений (табл. 3.2).

Таблица 3.2. Значения молекулярной стыковки сгенерированных молекул по отношению к глутаматному NMDA рецептору (ID PDB: 5UOW)

Молекула	Оценочные значения		
	Afinity DG, kcal/mol	EDoc kcal/mol	Ki uM micromolar
Молекула 1	-7.0	-5.22	150.42
Молекула 2	-5.7	-5.36	117.46
Молекула 3	-8.4	-6.13	31.95
Молекула 4	-6.5	-4.91	252.56
Небрацетам	-5.9	-5.18	158.48

Таблица 3.3. Значения молекулярной стыковки сгенерированных молекул по отношению к ацетил холиновому рецептору (ID PDB: 5CXV)

Молекула	Оценочные значения		
	Afinity DG, kcal/mol	EDoc kcal/mol	Ki uM micromolar
Молекула 1	-6.3	-6.24	26.66
Молекула 2	-7.5	-5.81	55.32
Молекула 3	-8.7	-7.04	6.96
Молекула 4	-8.0	-5.73	63.16
Небрацетам	-6.2	-6.15	30.84

Активность исследуемых молекул по отношению к выбранным рецепторам может быть реализована за счет образования между ними комплексов, устойчивость которых обеспечивается за счет энергетически выгодного геометрического расположения тестируемых молекул в активных центрах рецепторов, образование межмолекулярных взаимодействий между ними, а именно: водородных связей, электростатических и гидрофобных взаимодействий. Возможность образования устойчивых комплексов коррелирует с полученными оценочными значениям.

Подробный анализ геометрического расположения исследуемых молекул в активных сайтах мишеней свидетельствует о том, что в образовании комплексов участвуют одинаковый набор аминокислотных остатков с соответствующими ключевыми фрагментами тестируемых молекул (рис. 3.3-3.10).

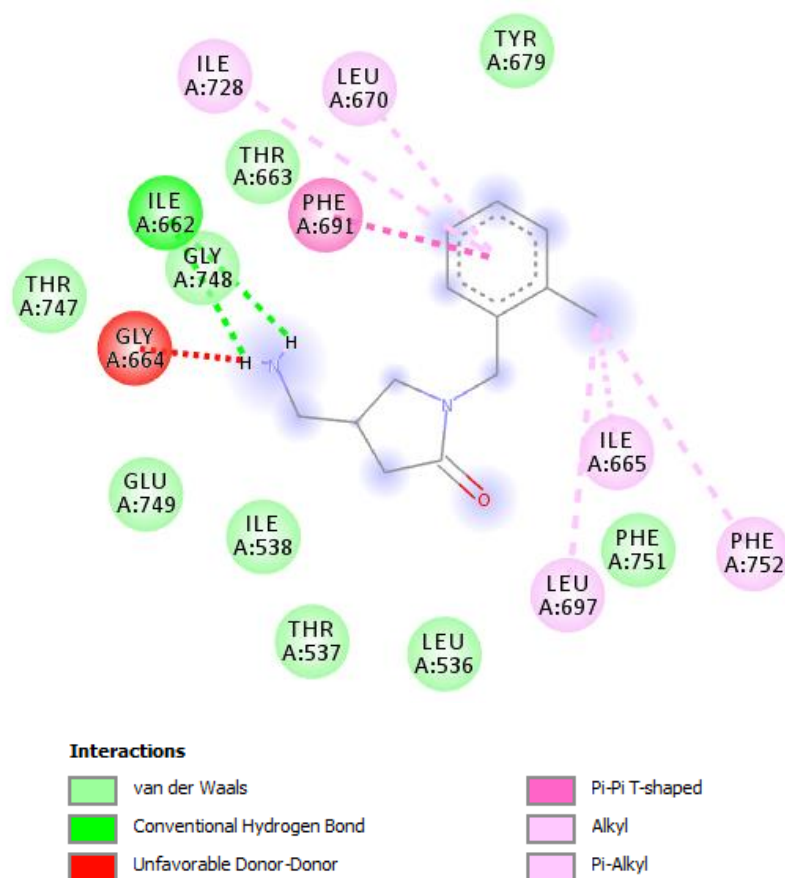


Рис. 3.3. Диаграмма межмолекулярных взаимодействий молекулы 1 в комплексе с биомишенью (PDB ID: 5UOW)

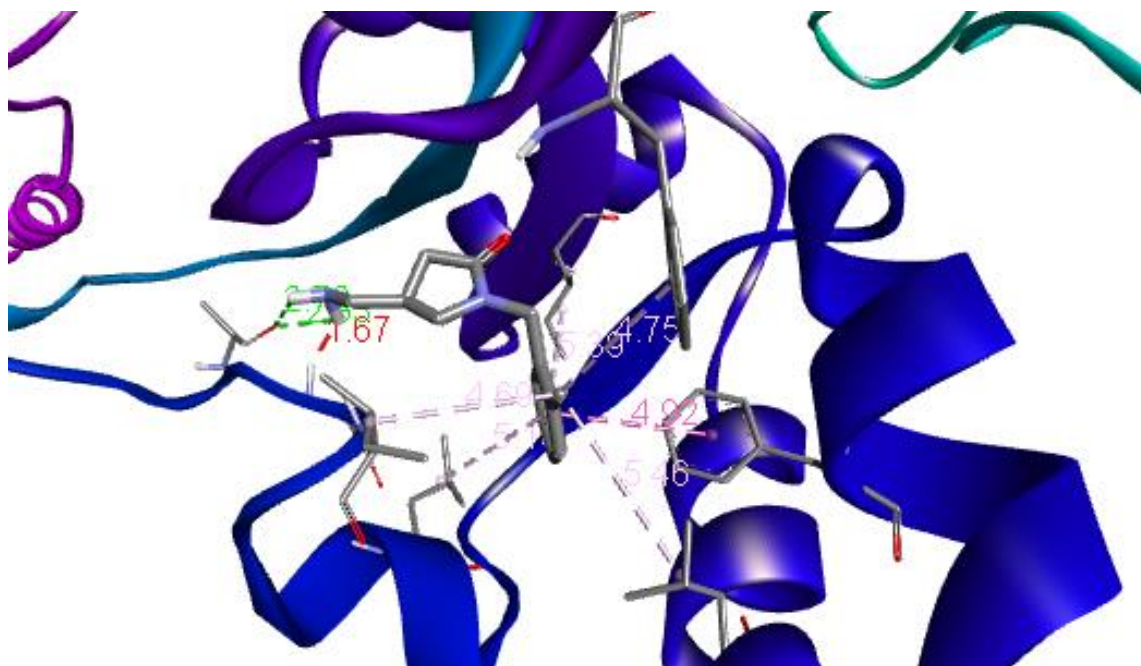


Рис. 3.4. Суперпозиция молекулы 1 в активном сайте глутаматного рецептора (PDB ID: 5UOW)

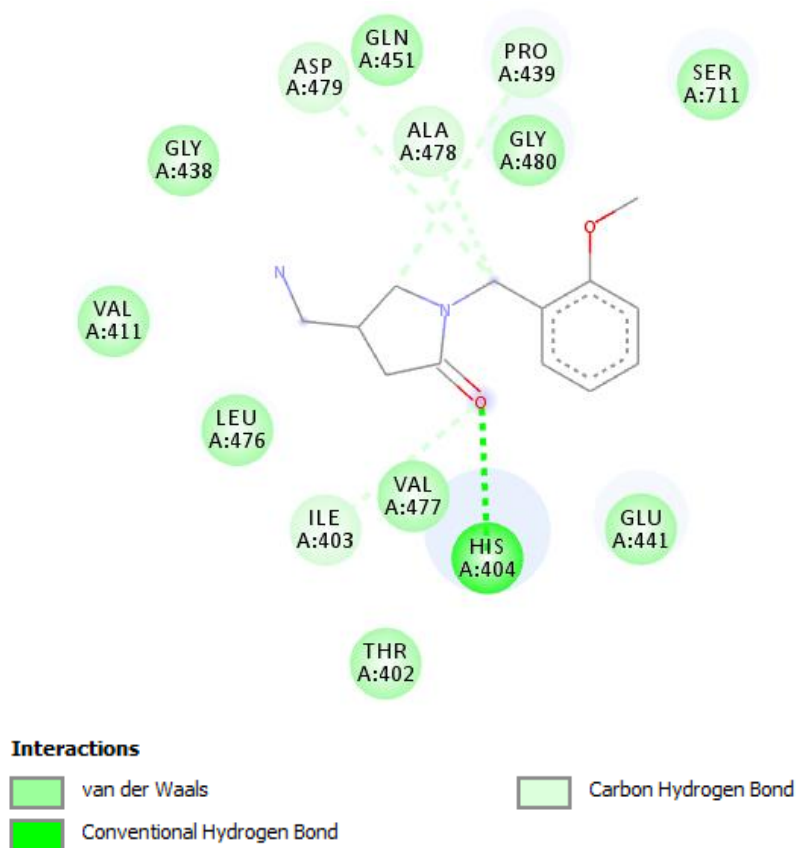


Рис. 3.5. Диаграмма межмолекулярных взаимодействий молекулы 2 в комплексе с биомишенью (PDB ID: 5UOW)

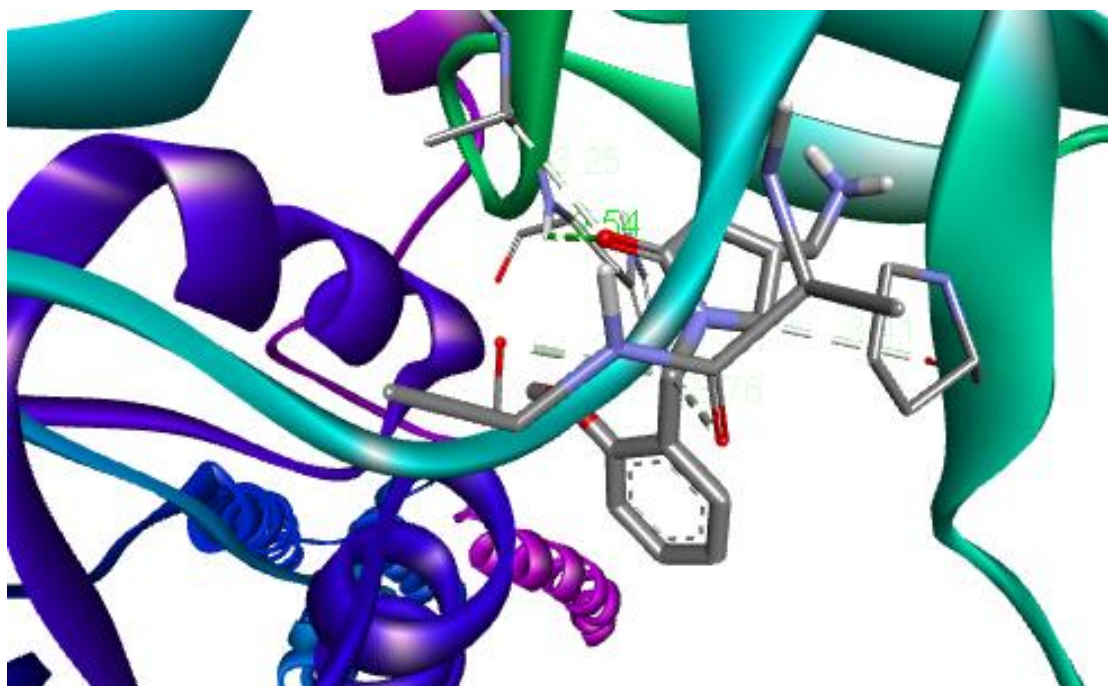


Рис. 3.6. Суперпозиция молекулы 2 в активном сайте глутаматного рецептора (PDB ID: 5UOW)

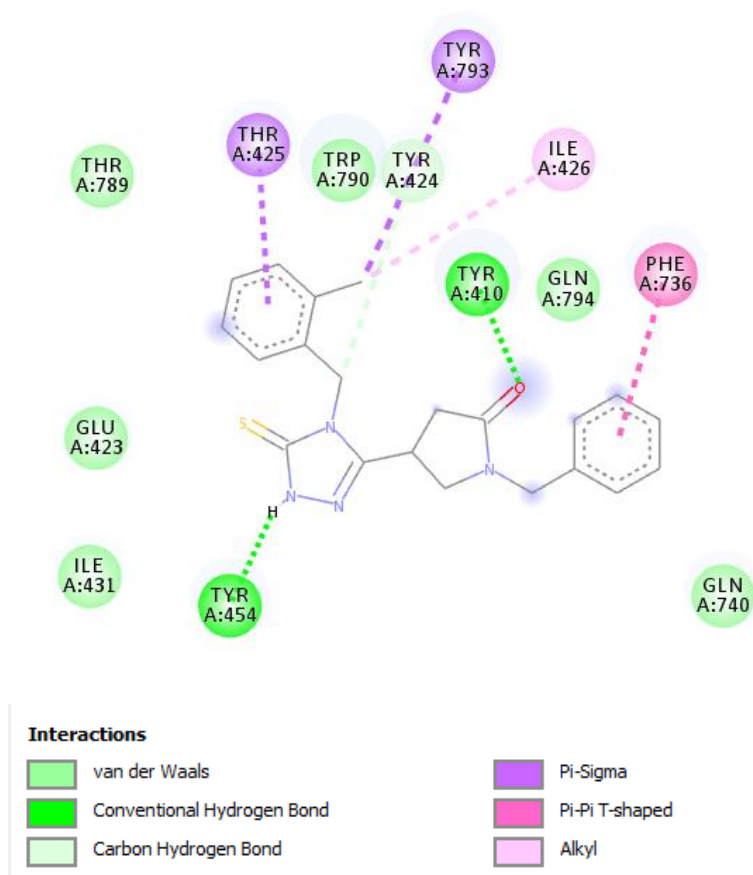


Рис. 3.7. Диаграмма межмолекулярных взаимодействий молекулы 3 в комплексе с биомиметью (PDB ID: 5UOW)

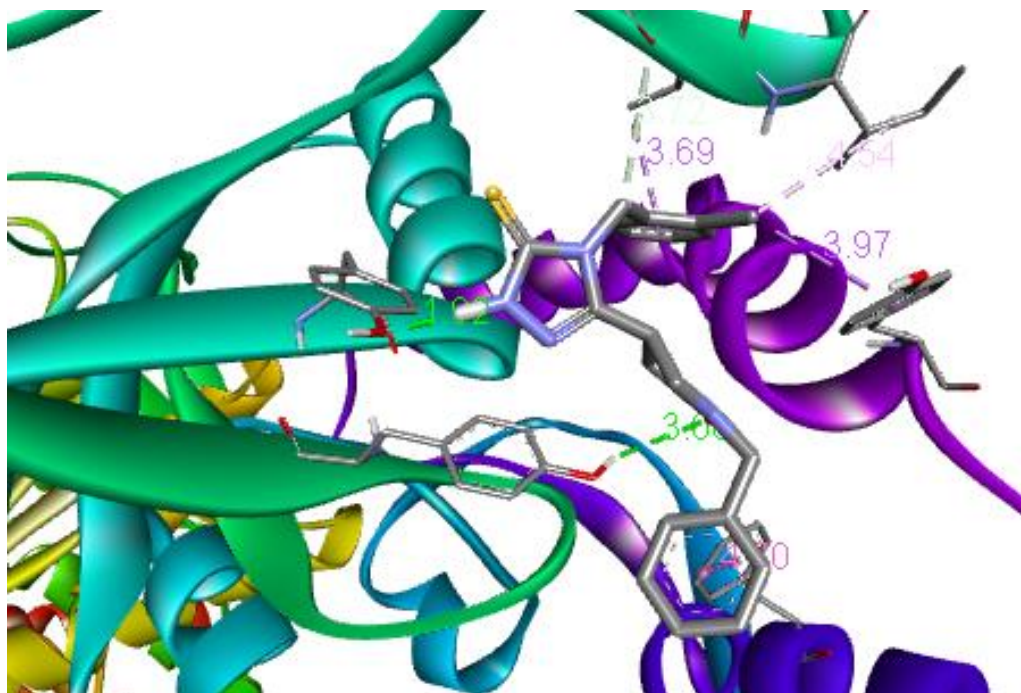


Рис. 3.8. Суперпозиция молекулы 3 в активном сайте глутаматного рецептора (PDB ID: 5UOW)

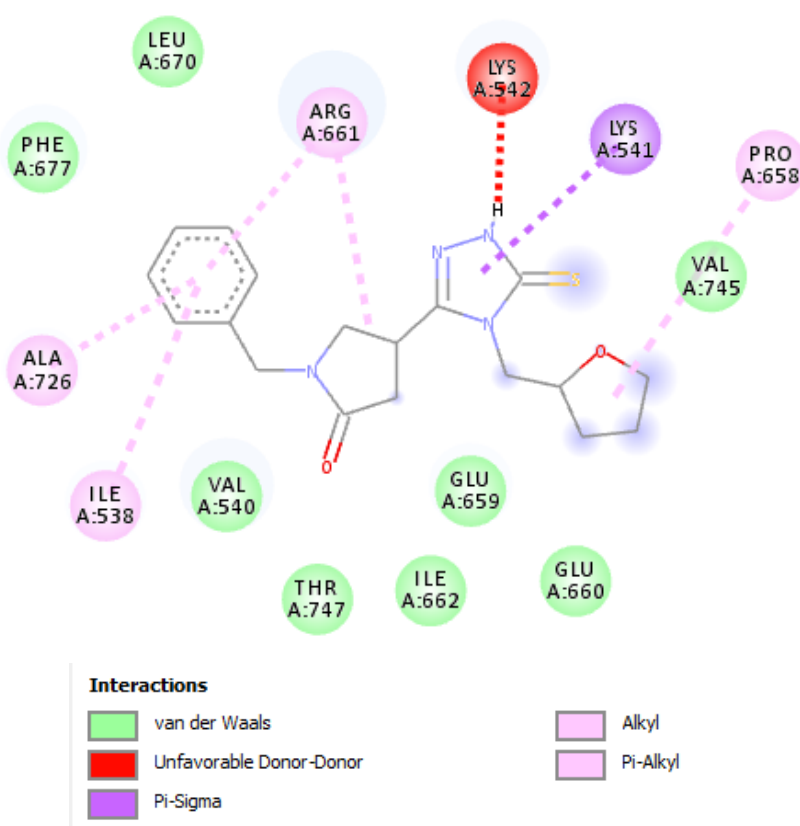


Рис. 3.9. Диаграмма межмолекулярных взаимодействий молекулы 4 в комплексе с биомишенью (PDB ID: 5UOW)

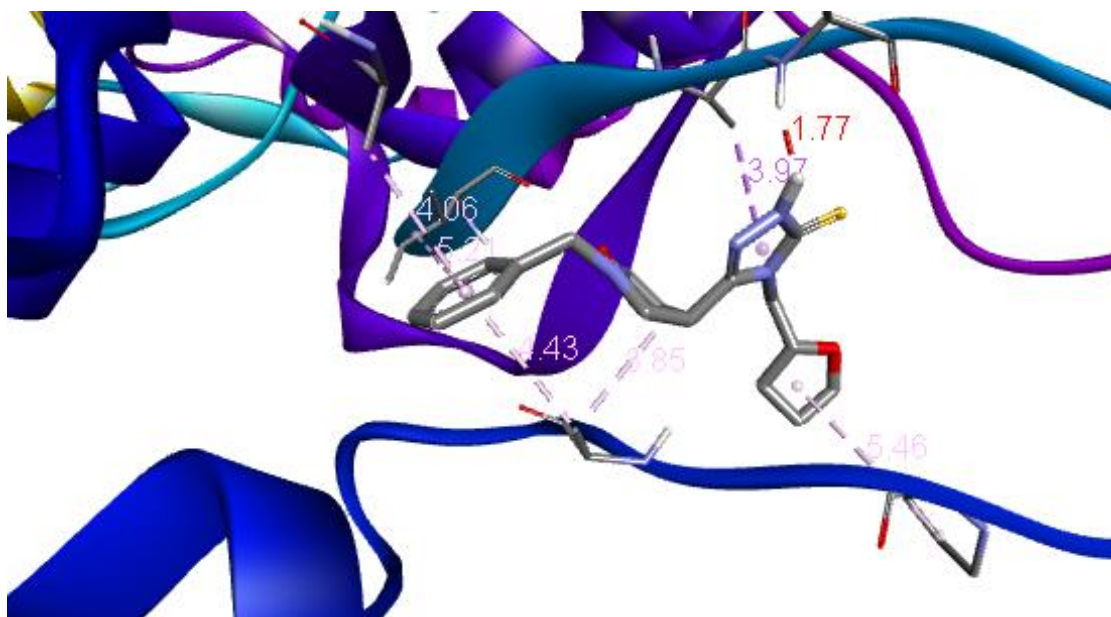


Рис. 3.10. Суперпозиция молекулы 4 в активном сайте глутаматного рецептора (PDB ID: 5UOW)

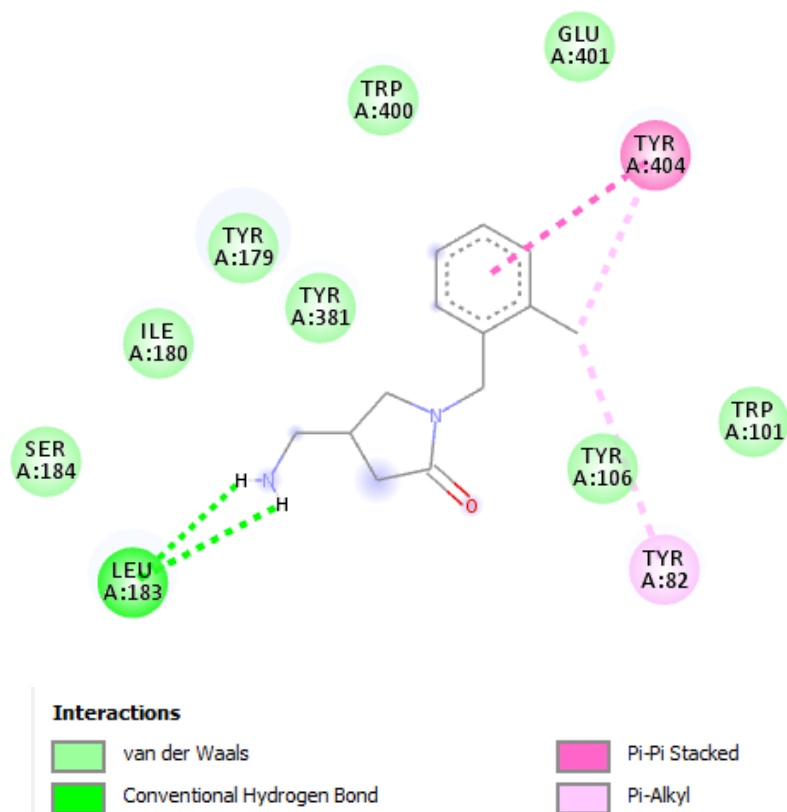


Рис. 3.11. Диаграмма межмолекулярных взаимодействий молекулы 1 в комплексе с биомиметиком (PDB ID: 5CXV)

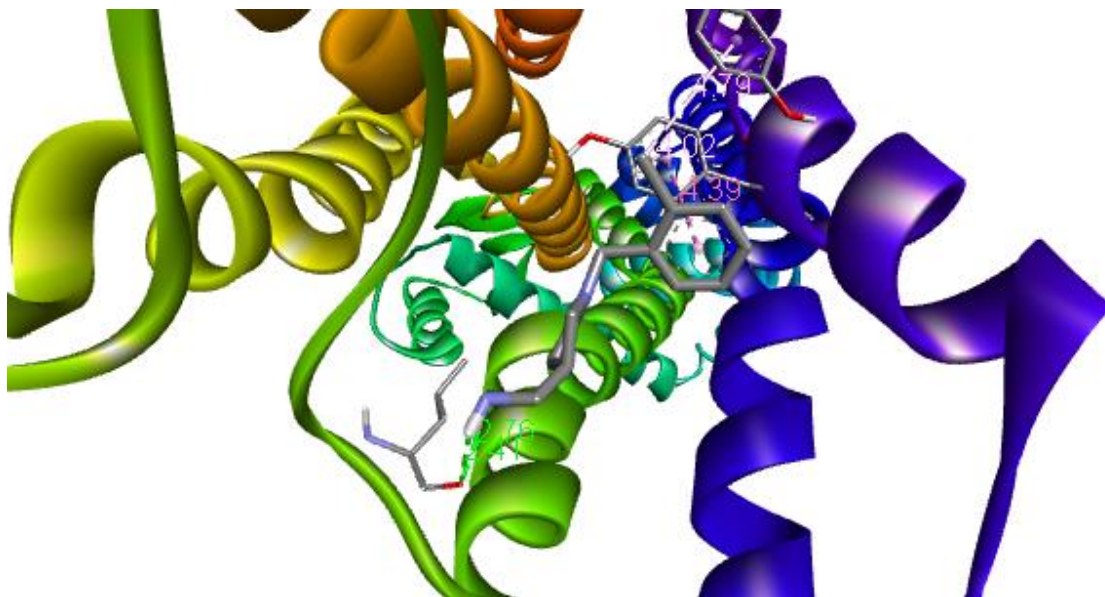


Рис. 3.12. Суперпозиция молекулы 1 в активном сайте ацетилхолинового рецептора (PDB ID: 5CXV)

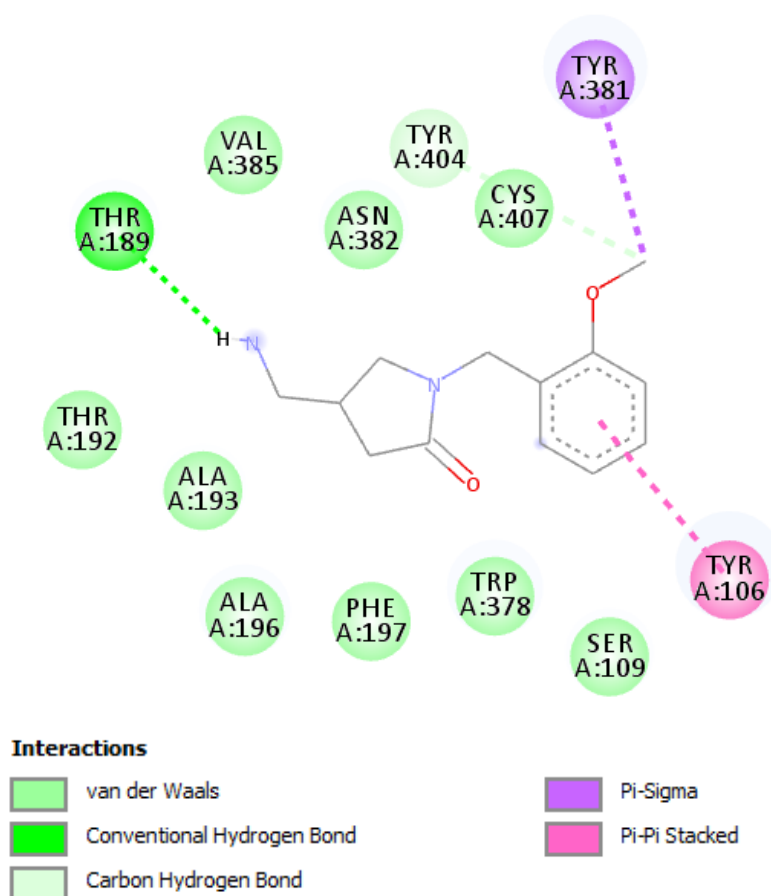


Рис. 3.13. Диаграмма межмолекулярных взаимодействий молекулы 2 в комплексе с биотином (PDB ID: 5CXV)

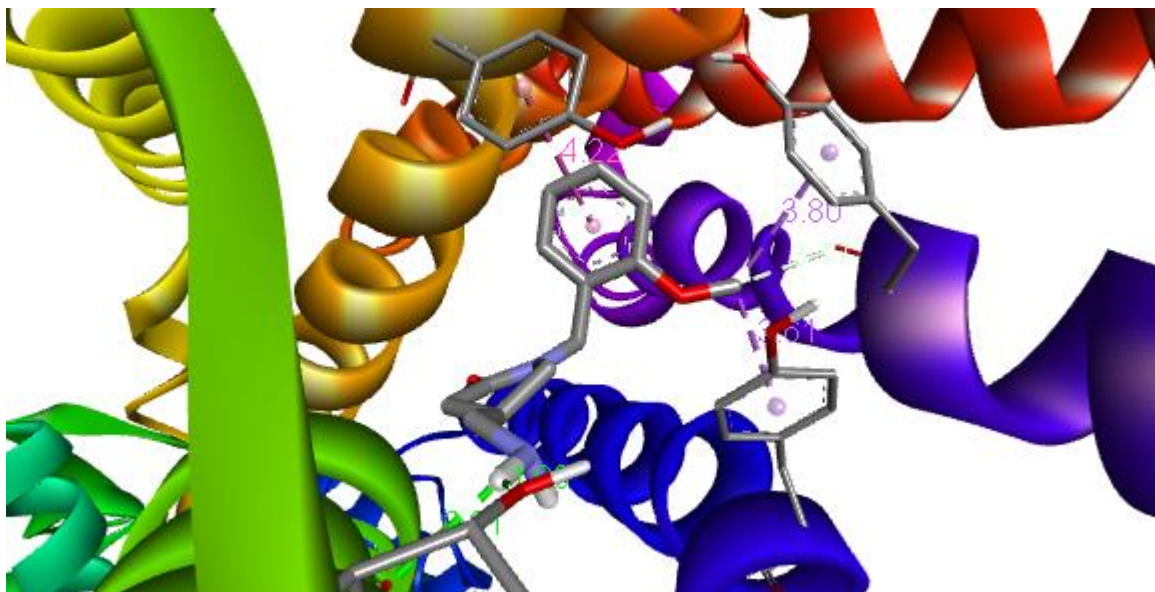


Рис. 3.14. Суперпозиция молекулы 2 в активном сайте ацетил холинового рецептора (PDB ID: 5CXV)

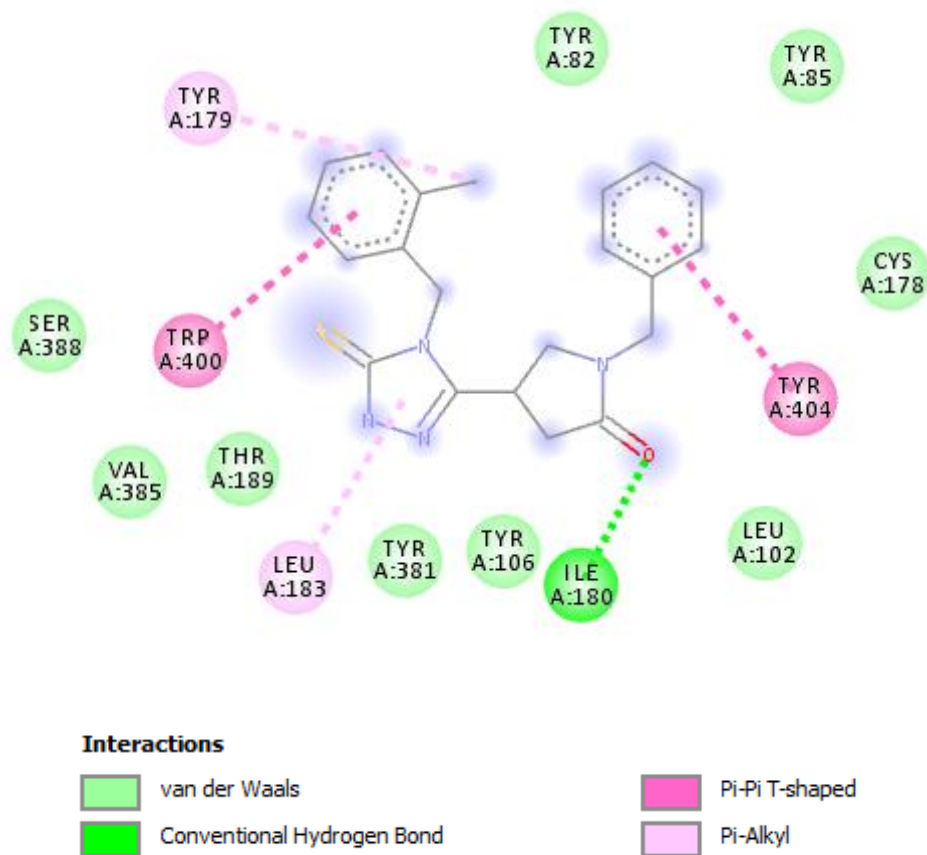


Рис. 3.15. Диаграмма межмолекулярных взаимодействий молекулы 3 в комплексе с биомишенью (PDB ID: 5CXV)

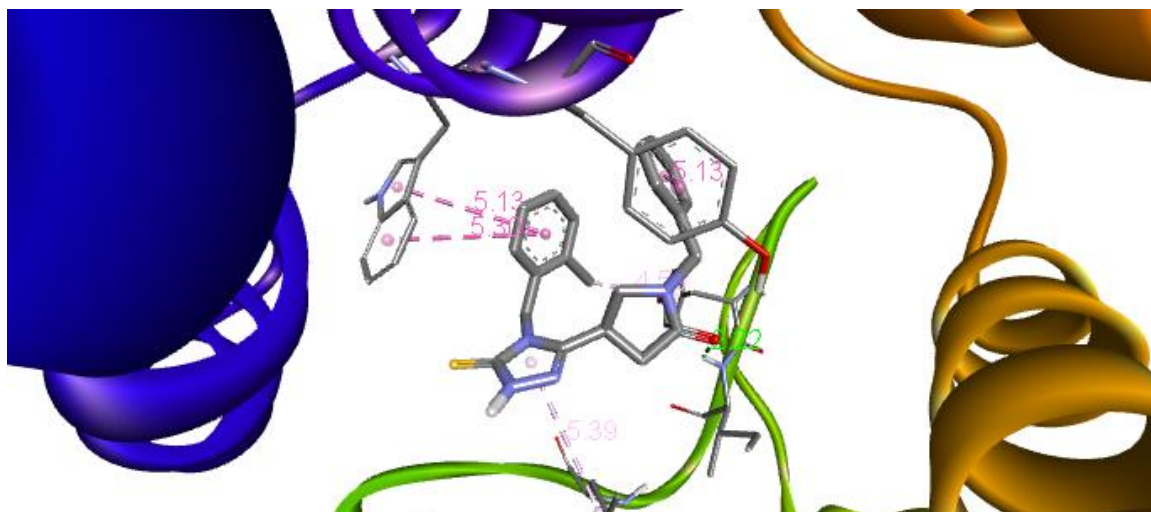


Рис. 3.16. Суперпозиция молекулы 3 в активном сайте ацетил холинового рецептора (PDB ID: 5CXV)

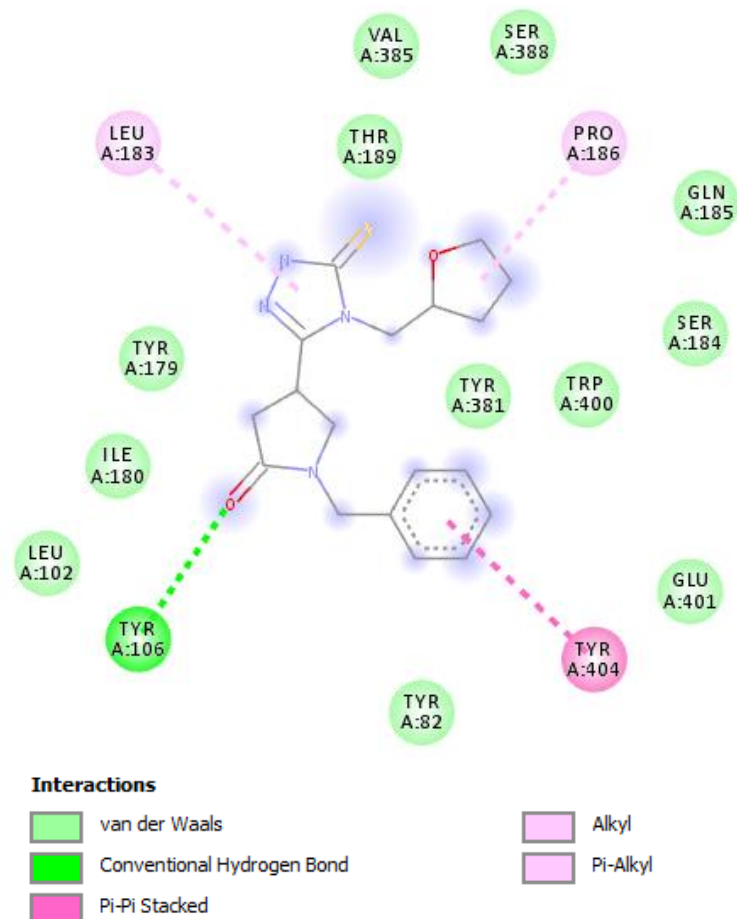


Рис. 3.17. Диаграмма межмолекулярных взаимодействий молекулы 4 в комплексе с биотином (PDB ID: 5CXV)

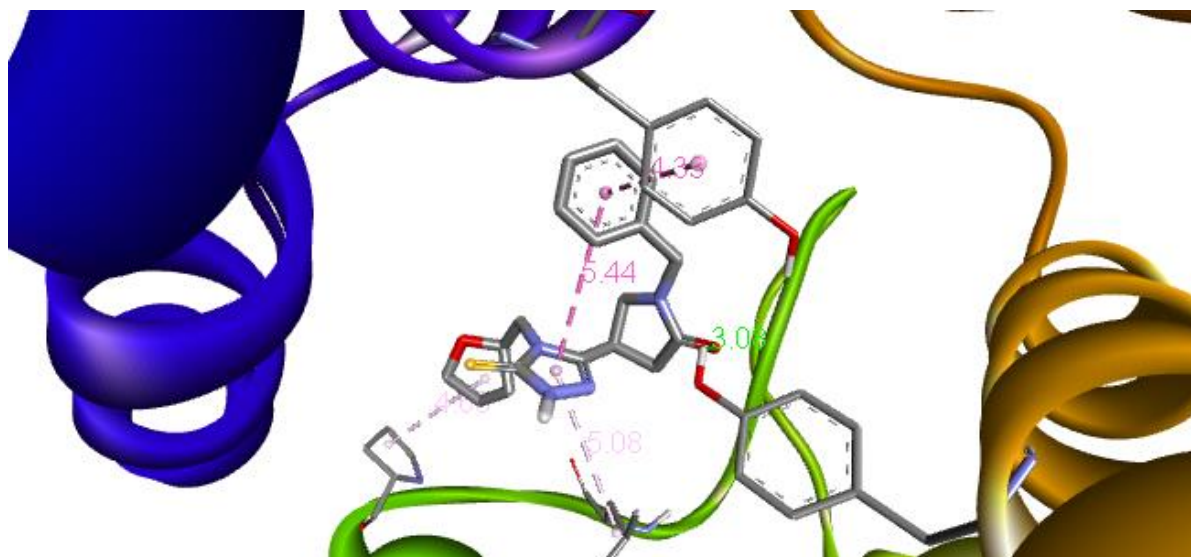


Рис. 3.18. Суперпозиция молекулы 4 в активном сайте ацетил холинового рецептора (PDB ID: 5CXV)

Визуализация образовавшихся межмолекулярных контактов соединения лидера (3) (ID PDB: 5UOW Affinity DG = -8,4 ккал/моль, EDoc = -6,13 ккал/моль, K_i мкМ = 31,95 мкмоль; 5CXV Affinity DG = -8,7 ккал/моль, EDoc = -7,04 ккал/моль, K_i мкМ = 6,96 мкмоль) показывает, что комплекс с глутаматным рецептором возможен благодаря водородным связям между атомом Оксигена пирролидинового фрагмента, протоном водорода 1,2,4-триазольного кольца, метильным линкером с остатками аминокислот тирозина Tyr410, Tyr451, Tyr424 соответственно. π-Сигма связь возникает между фенильным фрагментом базового каркаса и атомом Хлора с фрагментами аминокислот треонина Thr425 и тирозина Tyr793. Атом Хлора также имеет Alk взаимодействие с остатком изолейцина Ile426. Стабилизацию комплекса обеспечивают π-π контакт между фенильным кольцом молекулы и фенильным фрагментом аминокислоты фенилаланина Phe736 (рис. 3.7-3.8). Образованию комплекса молекула 3 с рецептором (PDB ID: 5CXV) способствует появление водородной связи между атомом Оксигена пирролидин-2-онового фрагмента с остатком изолейцина Ile180. π-π Взаимодействия возникают между фенильными фрагментами с остатками аминокислот Tyr404 и Trp400 соответственно. Стабилизации

образовавшегося комплекса способствуют π -Alk взаимодействия между триазольным кольцом и атомом Хлора фенольного кольца с фрагментами лейцина Leu183 и тирозина Tyr179 (рис. 3.15-3.16).

Полученные данные стыковки могут использоваться при планировании экспериментального скрининга на ноотропную активность и при предоставлении рекомендаций для оптимизации поиска новых рацетамовых ноотропов.

ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 3

1. В целях оптимизации выбора биологической мишени для молекулярного докинга был создан органайзер кристаллографических моделей ноотропных мишеней. Оптимальными моделями глутаматных и ацетил холиновых рецепторов для исследования выбраны ID PDB: 5UOW, 5CXV в связи со спецификой архитектуры данных мишеней и наличием со кристаллизованных модуляторов, которые заранее предполагают домены будущей стыковки.
2. Активность исследуемых молекул по отношению к выбранным рецепторам может быть реализована за счет образования между ними комплексов, устойчивость которых обеспечивается за счет энергетически выгодного геометрического расположения тестируемых молекул в активных центрах рецепторов, образование межмолекулярных взаимодействий между ними, а именно: водородных связей, электростатических и гидрофобных взаимодействий. Возможность образования устойчивых комплексов коррелирует с полученными оценочными значениями скоринговых функций, свободных энергий и констант связывания.
3. Подробный анализ геометрического расположения исследуемых молекул в активных сайтах мишеней свидетельствует о том, что в образовании комплексов участвуют одинаковый набор аминокислотных остатков с соответствующими ключевыми фрагментами тестируемых молекул.
4. В результате вычислительных данных, качественной и количественной оценки связывания была выявлена молекула лидер 3 1-бензил-4-{5-сульфанилиден-4-[4-(2-хлорфенил-метил)-4,5-дигидро-1*H*-1,2,4-триазол-3-ил]}пирролидин-2-он, которая по всем указанным параметрам превышает препарат сравнения Небрацетам.
5. Полученные данные стыковки могут использоваться при планировании экспериментального скрининга на ноотропную активность и при предоставлении рекомендаций для оптимизации поиска новых рацетамовых ноотропов.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Систематизированы, проанализированы и обобщены данные литературных источников касательно изучению двух и трехмерных структур пирролидинов а также современных исследований рацетамовых ноотропов для новых показаний. Установлено, что усовершенствование дизайна рацетамов нового поколения может привести к улучшению клинической эффективности.
2. С целью оптимизации поиска ноотропных средств была проведена структурная модификация основного каркаса 1-бензил-4-пирролидин-2-она с другой фармакофорной группировкой, а именно: замещенными 5-тио-1,2,4-триазольными фармакофорами и заместителями разной электронной природы. В качестве препарата сравнение выбрано Небрацетам в связи со структурным подобием базового скаффолда.
3. Выбор молекулярного докинга для оптимизации поиска новых молекул направленного действия обусловлен наибольшей вероятностью прогнозирования активности и предоставления качественной и количественной оценки связывания с мишенью.
6. В целях оптимизации выбора биологической мишени для молекулярного докинга был создан органайзер кристаллографических моделей ноотропных мишеней. Оптимальными моделями глутаматных и ацетил холиновых рецепторов для исследования выбраны ID PDB: 5UOW, 5CXV в связи со спецификой архитектуры данных мишеней и наличием со кристаллизованных модуляторов, которые заранее предполагают домены будущей стыковки.
7. Активность исследуемых молекул по отношению к выбранным рецепторам может быть реализована за счет образования между ними комплексов, устойчивость которых обеспечивается за счет энергетически выгодного геометрического расположения тестируемых молекул в активных центрах рецепторов, образование межмолекулярных взаимодействий между ними, а

именно: водородных связей, электростатических и гидрофобных взаимодействий. Возможность образования устойчивых комплексов коррелирует с полученными оценочными значениями скоринговых функций, свободных энергий и констант связывания.

8. Подробный анализ геометрического расположения исследуемых молекул в активных сайтах мишеней свидетельствует о том, что в образовании комплексов участвуют одинаковый набор аминокислотных остатков с соответствующими ключевыми фрагментами тестируемых молекул.
9. В результате вычислительных данных, качественной и количественной оценки связывания была выявлена молекула лидер 3 1-бензил-4-{5-сульфанилиден-4-[4-(2-хлорфенил-метил)-4,5-дигидро-1*H*-1,2,4-триазол-3-ил]}пирролидин-2-он, которая по всем указанным параметрам превышает препарат сравнения Небрацетам.
10. Полученные данные стыковки могут использоваться при планировании экспериментального скрининга на ноотропную активность и при предоставлении рекомендаций для оптимизации поиска новых рацетамовых ноотропов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. New synthetic nitro-pyrrolomycins as promising antibacterial and anticancer agents / M.V. Raimondi, A. Li Presentato, G. Petri et al. *Antibiotics*. 2020. 9. P. 292. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9060292>.
2. Pyrrolomycins as antimicrobial agents. Microwave-assisted organic synthesis and insights into their antimicrobial mechanism of action / M.V. Raimondi, R. Listro, M.G. Cusimano et al. *Bioorg Med Chem*. 2019. 27. P. 721-28. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.01.010>.
3. Pyrrolo[2',3':3,4]cyclohepta[1,2-d][1,2]oxazoles, a new class of antimetabolic agents active against multiple malignant cell types / V Spanò, R. Rocca, M. Barreca et al. *J Med Chem*. 2020. 63. P. 12023–12042. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01315>.
4. A new class of phenylhydrazinylidene derivatives as inhibitors of *Staphylococcus aureus* biofilm formation / S. Cascioferro, B. Maggio, D. Rafa et al. *Med Chem Res*. 2016. 25. P. 870-878. <https://doi.org/10.1007/s00044-016-1535-9>.
5. Comparative study of isoflavone, quinoxaline and oxindole families of anti-angiogenic agents / J.L. Whatmore, E. Swann, P. Barraja et al. *Angiogenesis*. 2002. 5. P. 45-51. <https://doi.org/10.1023/a:1021528628524>.
6. Jampilek J. Heterocycles in medicinal chemistry. *Molecules*. 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24213839>.
7. Gomtsyan A. Heterocycles in drugs and drug discovery. *Chem Heterocycl Comp*. 2012. 48. P. 7-10. <https://doi.org/10.1007/s10593-012-0960-z>.
8. Brown D.G., Boström J. Analysis of past and present synthetic methodologies on medicinal chemistry: where have all the new reactions gone? *J Med Chem* 2016. 59. P. 4443-4458. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01409>.
9. Controlling the rates of reductively-activated elimination from the (indol-3-yl)methyl position of indolequinones / S.A. Everett, M.A. Naylor, P. Barraja et al. *J Chem Soc Perkin Trans*. 2001. 2. P. 843-860. <https://doi.org/10.1039/B009652K>.

10. Quantifying structure and performance diversity for sets of small molecules comprising small-molecule screening collections / P.A. Clemons, J.A. Wilson, V. Dančik et al. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011. 108. P. 6817-6822. <https://doi.org/10.1073/pnas.1015024108>.
11. Lovering F., Bikker J., Humblet C. Escape from fatland: increasing saturation as an approach to improving clinical success. *J Med Chem*. 2009. 52. P. 6752-6756. <https://doi.org/10.1021/jm901241e>.
12. Two- and three-dimensional rings in drugs / M. Aldeghi, S. Malhotra, D.L. Selwood et al. *Chem Biol Drug Des*. 2014. 83. P. 450-461. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12260>.
13. The developability of heteroaromatic and heteroaliphatic rings—do some have a better pedigree as potential drug molecules than others? / T.J. Ritchie, S.J.F. Macdonald, S. Peace et al. *Med Chem Commun*. 2012. 3. P. 1062-1069. <https://doi.org/10.1039/C2MD20111A>.
14. Designing novel building blocks is an overlooked strategy to improve compound quality / F.W. Goldberg, J.G. Kettle, T. Kogej et al. 2015. *Drug Discov Today*. 20. P. 11-17. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.09.023>.
15. Scaffold fatness: reversing the trend / FM Tajabadi, MR Campitelli, RJ Quinn et al. *Springer Sci Rev*. 2013. 1. P. 141-151. <https://doi.org/10.1007/s40362-013-0014-7>.
16. Maier M.E. Design and synthesis of analogues of natural products. *Org Biomol Chem*. 2015. 13. P. 5302–5343. <https://doi.org/10.1039/C5OB00169B>.
17. Bioactivities of a new pyrrolidine alkaloid from the root barks of *Orixa japonica*. *Molecules* / X.C. Liu, D. Lai, Q.Z. Liu et al. 2016. <https://doi.org/10.3390/molecules21121665>.
18. Carroll F.I. Epibatidine analogs synthesized for characterization of nicotinic pharmacophores—a review. *Heterocycles*. 2009. 79. P. 99-120.
19. Islam M.T., Mubarak M.S. Pyrrolidine alkaloids and their promises in pharmacotherapy. *Adv Tradit Med* 2020. 20. P. 13-22. <https://doi.org/10.1007/s13596-019-00419-4>.

20. Bhat C., Tilve S.G. Recent advances in the synthesis of naturally occurring pyrrolidines, pyrrolizidines and indolizidine alkaloids using proline as a unique chiral synthon. *RSC Adv* 2014. 4. P. 5405-5452. <https://doi.org/10.1039/C3RA44193H>.
21. Vitaku E., Smith D.T., Njardarson J.T. Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among US FDA Approved Pharmaceuticals. *J Med Chem*. 2014. 57. P. 10257-10274. <https://doi.org/10.1021/jm501100b>.
22. Dalko P.I., Moisan L. In the golden age of organocatalysis. *Angew Chem Int Ed*. 2004. 43. P. 5138-5175. <https://doi.org/10.1002/anie.200400650>.
23. Higashiyama K., Inoue H., Takahashi H. Diastereoselective addition of chiral imines and 1,3-oxazolidines with grignard reagents; asymmetric synthesis of (R)-2-aryl- and (R, R)- 2,5-bis(aryl)pyrrolidines. *Tetrahedron*. 1994. 50. P. 1083-1092. [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\) 80819-X](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01) 80819-X).
24. Chiral hybrid materials based on pyrrolidine building units to perform asymmetric Michael additions with high stereocontrol / S. Llopis, T. García, Á. Cantín et al. *Catal Sci Technol*. 2018. 8. P. 5835-5847. <https://doi.org/10.1039/C8CY01650J>.
25. Bioactive pyrrole-based compounds with target selectivity / G. Li Petri, V. Spanò, R. Spatola et al. *Eur J Med Chem* 2020. 208. P. 112783. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112783>.
26. Pharmaceutical potential of synthetic and natural pyrrolomycins / S. Cascioferro, M.V. Raimondi, M.G. Cusimano et al. *Molecules*. 2015. 20. P. 21658–21671. <https://doi.org/10.3390/molecules201219797>.
27. Synthesis and anti-staphylococcal activity of new halogenated pyrroles related to Pyrrolomycins F / M.V. Raimondi, D. Schillaci, S. Petruso. *J Heterocycl Chem*. 2007. 44. P. 1407-1411. <https://doi.org/10.1002/jhet.5570440626>.
28. Adrio J., Carretero J.C. Stereochemical diversity in pyrrolidine synthesis by catalytic asymmetric 1,3-dipolar cycloaddition of azomethine ylides. *Chem Commun*. 2019. 55. P. 11979-11991. <https://doi.org/10.1039/C9CC05238K>.

29. Pseudorotation in pyrrolidine: rotational coherence spectroscopy and ab initio calculations of a large amplitude intramolecular motion / M. Kunitski, C. Riehn, V. Matylitsky et al. *Phys Chem Chem Phys*. 2010. 12. P. 72-81. <https://doi.org/10.1039/B917362E>.
30. Galloway W.R.J.D., Isidro-Llobet A., Spring D.R. Diversity-oriented synthesis as a tool for the discovery of novel biologically active small molecules. *Nat Commun*. 2010. 1. P.80. <https://doi.org/10.1038/ncomms1081>.
31. Kumar A., Gupta G., Srivastava S. Diversity oriented synthesis of pyrrolidines via natural carbohydrate solid acid catalyst. *J Comb Chem*. 2010. 12. P. 458-462. <https://doi.org/10.1021/cc100007a>.
32. Giurgea C. The 'nootropic' approach to the pharmacology of the integrative activity of the brain. *Cond Reflex*. 1973. 8 (2). P. 108-15
33. Piracetam [online]. Available from URL: <http://www.piracetam.com> [Accessed 2010 Jan 22]
34. US National Institutes of Health. *ClinicalTrials.gov* [online]. Available from URL: <http://www.clinicaltrials.gov> [Accessed 2010 Jan 22]
35. Clinical efficacy of piracetam in cognitive impairment: a metaanalysis / T. Waegemans, C.R. Wilsher, A. Danniau et al. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2002. 13 (4). P. 217-24
36. Wheble P.C., Sena E.S., Macleod M.R. A systematic review and meta-analysis of the efficacy of piracetam and piracetam-like compounds in experimental stroke. *Cerebrovasc Dis* 2008. 25 (1-2). P. 5-11
37. Long-term efficacy and safety of piracetam in the treatment of progressive myoclonus epilepsy / M. Fedi, D. Reutens, F. Dubeau et al. *Arch Neurol*. 2001. 58 (5). P. 781-6
38. Cerebroprotective effect of piracetam in patients undergoing coronary bypass surgery / S. Holinski, B. Claus, N. Alaaraj et al. *Med Sci Monit*. 2008. 14 (11). P. I53-7
39. Effect of piracetam on cognitive performance in patients undergoing bypass surgery / R. Uebelhack, K. Vohs, M. Zytowski et al. *Pharmacopsychiatry*. 2003.

- 36 (3). P. 89-93
40. Piracetam prevents cognitive decline in coronary artery bypass: a randomized trial versus placebo / I. Szalma, A. Kiss, L. Kardos et al. *Ann Thorac Surg.* 2006. 82 (4). P. 1430-5.
41. Experience of the out-patient use of memotropil in the treatment of cognitive disorders in patients with chronic progressive cerebrovascular disorders / T.T. Batysheva, L.V. Bagir, E.V. Kostenko et al. *Neurosci Behav Physiol.* 2009. 39 (2). P. 193-7.
42. Neznamov G.G., Teleshova E.S.. Comparative studies of Noopept and piracetam in the treatment of patients with mild cognitive disorders in organic brain diseases of vascular and traumatic origin. *Neurosci Behav Physiol.* 2009. 39 (3). P. 311-21.
43. Zavadenko N.N., Guzilova L.S. Sequelae of closed craniocerebral trauma and the efficacy of piracetam in its treatment in adolescents. *Neurosci Behav Physiol.* 2009. 39 (4). P. 323-8.
44. Characteristics of the formation of chronic fatigue syndrome and approaches to its treatment in young patients with focal brain damage / A.N. Boiko, T.T. Batysheva, O.V. Matvievskaia et al. *Neurosci Behav Physiol.* 2007. 37 (3). P. 221-8.
45. Amnesia reversal activity of a series of cyclic imides / D.E. Butler, J.D. Leonard, B.W. Capra et al. *J Med Chem.* 1987. 30 (3). P. 498-503.
46. Piracetam therapy does not enhance cognitive functioning in children with Down syndrome / Lobaugh NJ, Karaskov V, Rombough V, et al.. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2001. 155 (4). P. 442-8.
47. Jelic V., Kivipelto M., Winblad B. Clinical trials in mild cognitive impairment: lessons for the future. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2006. 77 (4). P. 429-38
48. Efficacy of piracetam in the treatment of tardive dyskinesia in schizophrenic patients: a randomized, double-blind, placebo controlled crossover study / I. Libov, C. Miodownik, Y. Bersudsky et al. *J Clin Psychiatry.* 2007. 68 (7). P. 1031-7.

49. Piracetam in acute stroke: a systematic review / S. Ricci, M.G. Celani, T.A., et al.. *J Neurol*. 2000Apr; 247 (4). P. 263-6
50. Piracetam improves activated blood flow and facilitates rehabilitation of poststroke aphasic patients / Kessler J, Thiel A, Karbe H, et al. *Stroke*. 2000 31 (9). P. 2112-6.
51. Kiseleva T.N., Lagutina Iu.M., Kravchuk E.A. Effect of fezam on ocular dynamics in patients with senile macular degeneration. *Vestn Oftalmol*. 2005. 121 (4). P. 26-8
52. Effects of acute doses of oxiracetam in the scopolamine model of human amnesia / L. Preda, M. Alberoni, S. Bressi et al. *Psychopharmacology (Berl)*. 1993. 110 (4). P. 421-6
53. Rozzini R., Zanetti O., Bianchetti A. Treatment of cognitive impairment secondary to degenerative dementia: effectiveness of oxiracetam therapy. *Acta Neurol (Napoli)*. 1993. 15 (1). P. 44-52
54. Treatment trial of oxiracetam in Alzheimer's disease / R.C. Green, F.C. Goldstein, A.P. Auchus et al. *Arch Neurol*. 1992. 49 (11). P. 1135-6.
55. Biogenesis Laboratories. Product information: pramiracetam (Neupramir) [online]. Available from URL: [http:// www.biogenesis.co.za/pi-pramiracetam.asp](http://www.biogenesis.co.za/pi-pramiracetam.asp) [Accessed 2010 Jan 22]
56. Placebocontrolled study of pramiracetam in young males with memory and cognitive problems resulting from head injury and anoxia / Jr.A. McLean, D.D. Cardenas, D. Burgess et al.. *Brain Inj*. 1991. 5 (4). 375-80.
57. Pramiracetam effects on scopolamine-induced amnesia in healthy volunteers / M. Mauri, E. Sinforiani, F. Reverberi et al. *Arch Gerontol Geriatr*. 1994. 18 (2). P. 133-9
58. Dziak L.A., Golik V.A., Miziakina E.V. Experience in the application of pramistar, a new nootropic preparation, in the treatment of memory disorders in patients with cerebrovascular pathology. *Lik Sprava*. 2003. (8). P. 67-72.
59. Tkachev A.V. Application of nootropic agents in complex treatment of patients with concussion of the brain. *Lik Sprava* .2007. (5-6). P. 82-5.

60. Some neurochemical properties of pramiracetam (CI-879), a new cognition-enhancing agent / T.A. Pugsley, Y. H. Shih, L. Coughenour et al. *Drug Dev Res.* 1983. 3. P. 407-20.
61. Pharmacokinetics of aniracetam and its metabolites in rats / T. Ogiso, M. Iwaki, T. Tanino et al. *J Pharm Sci.* 1998. 87 (5). P. 594-8
62. Aniracetam (Ro 13- 5057) in the treatment of senile dementia of Alzheimer type (SDAT): results of a placebo controlled multicentre clinical study / U. Senin, G. Abate, C. Fieschi et al. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1991. 1 (4). P. 511-7
63. Efficacy and tolerance of aniracetam in elderly patients with primary or secondary mental deterioration [in Italian] / V. Canonico, L. Forgiione, C. Paoletti et al. *Riv Neurol.* 1991. 61 (3). P. 92-6
64. Aniracetam tested in chronic psychosyndrome after long-term exposure to organic solvents: a randomized, double-blind, placebo-controlled cross-over study with neuropsychological tests / F.E. Somnier, M.S. Ostergaard, G. Boysen et al. *Psychopharmacology (Berl).* 1990. 101 (1). P. 43-6
65. Nickolson V.J., Wolthuis O.L. Effect of the acquisitionenhancing drug piracetam on rat cerebral energy metabolism: comparison with naftidrofuryl and methamphetamine. *Biochem Pharmacol.* 1976. 25 (20). P. 2241-4
66. Grau M., Montero J.L., Balasch J. Effect of Piracetam on electrocorticogram and local cerebral glucose utilization in the rat. *Gen Pharmacol.* 1987. 18 (2). P. 205-11
67. Tacconi M.T., Wurtman R.J. Piracetam: physiological disposition and mechanism of action. *Adv Neurol.* 1986. 43. P. 675-85
68. Piracetam affects facilitatory I-wave interaction in the human motor cortex / S. Wischer, W. Paulus, M. Sommer et al.. *Clin Neurophysiol.* 2001. 112 (2). P. 275-9
69. In vitro antioxidant properties of pentoxifylline, piracetam, and vinpocetine / B. Horvath, Z. Marton, R. Halmosi et al. *Clin Neuropharmacol.* 2002. 25 (1). P. 37-42
70. Pepeu G., Spignoli G. Nootropic drugs and brain cholinergic mechanisms. *Prog*

- Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 1989. 13. P. S77-8
71. Pilch H., Müller W.E.. Piracetam elevates muscarinic cholinergic receptor density in the frontal cortex of aged but not of young mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 1988. 94 (1). P. 74-8.
 72. Nootropic drugs positively modulate alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid-sensitive glutamate receptors in neuronal cultures / A. Copani, A.A. Genazzani, G. Aleppo et al. *J Neurochem*. 1992. . 58 (4). P. 1199-204
 73. Sirsi D., Safdieh J.E. The safety of levetiracetam. *Expert Opin Drug Saf*. 2007. 6 (3). 241-50.
 74. How can antiepileptic drugs affect bone mass, structure and metabolism? / L.S. Nissen-Meyer, S. Svalheim, E. Taubøll et al. *Lessons from animal studies. Seizure*. 2008. 17 (2). P. 187-91.
 75. Carreno M. Levetiracetam. *Drugs Today (Barc)*. 2007. 43 (11). P. 769-94.
 76. Effects of levetiracetam as an add-on therapy on cognitive function and quality of life in patients with refractory partial seizures / B. Zhou, Q. Zhang, L. Tian et al. *Epilepsy Behav*. 2008. 12 (2). 305-10.
 77. Kossoff E.H., Los J.G., Boatman D.F. A pilot study transitioning children onto levetiracetam monotherapy to improve language dysfunction associated with benign rolandic epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2007. 11 (4). P. 514-7.
 78. Levetiracetam for treatment-refractory posttraumatic stress disorder / G. Kinrys, L.E. Wygant, T.B. Pardo, et al. *J Clin Psychiatry*. 2006. 67 (2). P. 211-4.
 79. An openlabel study of levetiracetam for the treatment of social anxiety disorder / N.M. Simon, J.J. Worthington, A.C. Doyle et al. *J Clin Psychiatr* 2004. 65 (9). P. 1219-22.
 80. Effect of levetiracetam on depression and anxiety in adult epileptic patients / M. Mazza, A. Martini, M. Scoppetta et al. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008. 32 (2). P. 539-43.
 - 81.. Levetiracetam versus placebo in childhood and adolescent autism: a double-blind placebo-controlled study / S. Wasserman, R. Iyengar, W.F. Chaplin et al.

- Int Clin Psychopharmacol. 2006. 21 (6). P. 363-7.
82. Impact of levetiracetam on mood and cognition during prednisone therapy / E.S. Brown, A.B. Frol, D.A. Khan et al. Eur Psychiatry. 2007. 22 (7). P. 448-52.
83. Modulation of AMPA receptors in cultured cortical neurons induced by the antiepileptic drug levetiracetam / I. Carunchio, M. Pieri, M.T. Ciotti et al. Epilepsia. 2007. 48 (4). P. 654-62.
84. Lukyanetz E.A., Shkryl V.M., Kostyuk P.G. Selective blockade of N-type calcium channels by levetiracetam. Epilepsia. 2002. 43 (1). P. 9-18.
85. Intracellular calcium increase in epileptiform activity: modulation by levetiracetam and lamotrigine / A. Pisani, P. Bonsi, G. Martella et al.. Epilepsia. 2004. 45 (7). P. 719-28.
86. The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam / B.A. Lynch, N. Lambeng, K. Nocka et al.. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004. 101 (26). P. 9861-6.
87. Progress report on new antiepileptic drugs: a summary of the Eighth Eilat Conference (EILAT VIII) / M. Bialer, S.I. Johannessen, H.J. Kupferberg et al. Epilepsy Res. 2007. 73 (1). P. 1-52.
88. Rogawski M.A. Brivaracetam: a rational drug discovery success story. Br J Pharmacol. 2008. 154 (8). P. 1555-7.
89. Malawska B., Kulig K. Brivaracetam: a new drug in development for epilepsy and neuropathic pain. Expert Opin Investig Drugs. 2008. 17 (3). P. 361-9.
90. French J., von Rosenstiel P. Efficacy and tolerability of brivaracetam as adjunctive treatment for adults with refractory partial-onset seizures [abstract]. Epilepsia. 2007. 48 (70). P. 78.
91. van Paesschen W., von Rosenstiel P. Efficacy and tolerability of brivaracetam as adjunctive treatment for adults with refractory partial-onset epilepsy. Epilepsia. 2007. 48 (7). P. 56-7.
92. Mechanisms of action of cognitive enhancers on neuroreceptors / T. Narahashi, S. Moriguchi, X. Zhao et al. Biol Pharm Bull. 2004. 27 (11). P. 1701-6.

93. Seletacetam (UCB 44212) / B. Bennett, A. Matagne, P. Michel et al. *Neurotherapeutics*. 2007. 4 (1). P. 117-22.
94. Tai K.K., Truong D.D. Brivaracetam is superior to levetiracetam in a rat model of post-hypoxic myoclonus. *J Neural Transm* 2007. 114 (12). P. 1547-51.
95. Nefiracetam potentiates N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor function via protein kinase C activation and reduces magnesium block of NMDA receptor / S. Moriguchi, N. Shioda, H. Maejima et al. *Mol Pharmacol*. 2007. 71 (2). P. 580-7.
96. Nebracetam (WEB 1881FU) prevents N-methyl-D-aspartate receptor-mediated neurotoxicity in rat striatal slices / Y. Kataoka, M. Niwa, S. Koizumi et al.. *Jpn J Pharmacol*. 1992. . 59 (2). 247-50.
97. Kataoka Y., Kohno Y., Watanabe Y. Inhibitory action of nebracetam on various stimuli-evoked increases in intracellular Ca²⁺ concentrations in cultured rat cerebellar granule cells. *Jpn J Pharmacol*. 1995. 67 (1). P. 87-90.
98. A novel cognition enhancer NS-105 modulates adenylate cyclase activity through metabotropic glutamate receptors in primary neuronal culture / M. Oka, Y. Itoh, S. Tatsumi et al. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 1997. 356 (2). P. 189-96.
99. Involvement of metabotropic glutamate receptors in Gi- and Gs-dependent modulation of adenylate cyclase activity induced by a novel cognition enhancer NS-105 in rat brain / M. Oka, Y. Itoh, T. Shimidzu et al.. *Brain Res*. 1997. .754 (1-2). P. 121-30.
100. Effect of a novel cognition enhancer NS-105 on learned helplessness in rats: possible involvement of GABA(B) receptor up-regulation after repeated treatment / T. Shimidzu, Y. Itoh, M. Oka et al. *Eur J Pharmacol*. 1997. 338 (3). P. 225-32.
101. MKC-231, a choline uptake enhancer: (3) mode of action of MKC-231 in the enhancement of high-affinity choline uptake / K. Takashina, T. Bessho, R. Mori et al. *J Neural Transm*. 2008. 115 (7). P. 1037-46.
102. MKC-231, a choline uptake enhancer: (2) effect on synthesis and release of

- acetylcholine in AF64A-treated rats / K. Takashina, T. Bessho, R. Mori et al. *J Neural Transm.* 2008. 115 (7). P. 1027-35.
103. Zvonareva E.V. Phenotropil in the therapy of cognitive disorders in teenagers with astenic syndrome. *Nervnye Bolezni.* 2006. 2. P. 27-8.
104. Complex treatment of epilepsy with phenotropil / G.N. Bel'skaia, I.V. Ponomareva, I.G. Lukashevich et al. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2007. 107 (8). P. 40-3.
105. Lybzikova G.N., Iaglova Zh.S., Kharlamova Iu.S. The efficacy of phenotropil in the complex treatment of epilepsy. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2008. 108 (2). P. 69-70.
106. Gerasimova M.M., Chichanovskaia L.V., Slezkina L.A. The clinical and immunological aspects of the effects of phenotropil on consequences of stroke. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova.* 2005. 105 (5). P. 63-4.
107. Use of phenotropil for early treatment of patients after stroke / L.V. Bagir, T.T. Batsheva, A.N. Boiko et al.. *Concilium Medicum.* 2006. 8 (8). P. 96-101.
108. Basinskii S.N, Basinskii A.S. Neuroprotective effect of Fenotropil in unstabilized primary glaucoma. *Russkii Med Zh.* 2007. 8 (4). P. 148-51.
109. Phenotropil as receptor modulator of synaptic neurotransmission / G. Kovalev, V.I. Akhapkina, D.A. Abaimov et al. *Nervnye Bolezni.* 2007. 4. P. 22-6.
110. Effects of a cholinergic nootropic (WEB 1881 FU potentials recorded in incidental and intentional memory tasks / T.F. Muñte, H.J. Heinze, M. Scholz et al. *Neuropsychobiology.* 1988. 19 (3). P. 158-68.
111. Event-related potentials and visual spatial attention: influence of a cholinergic drug / T.F. Muñte, H.J. Heinze, M.B. Scholz et al. *Neuropsychobiology.* 1989. 21 (2). P. 94-9.
112. Clinical effect of WEB 1881 (nebracetam fumarate) on patients with dementia of the Alzheimer type and study of its clinical pharmacology / K. Urakami, T. Shimomura, T. Ohshima et al. *Clin Neuropharmacol.* 1993. 16 (4). P. 347-58.

113. In-patient major depression: is rolipram as effective as amitriptyline? / A.I. Scott, A.F. Perini, P.A. Shering et al. *Eur J Clin Pharmacol* 1991.40 (2). P. 127-9
114. A study to assess the anticholinergic activity of rolipram in healthy elderly volunteers / C.E. Ross, S. Toon, M. Rowland et al. *Pharmacopsychiatry*. 1988. 21 (5). P. 222-5.
115. Rolipram in major depressive disorder: results of a double-blind comparative study with imipramine / G.F. Hebenstreit, K. Fellerer, K. Fichte et al. *Pharmacopsychiatry*. 1989. 22 (4). P. 156-60.
116. Rolipram versus imipramine in inpatients with major, “minor” or atypical depressive disorder: a double-blind double-dummy study aimed at testing a novel therapeutic approach / A. Bertolino, D. Crippa, S. di Dio et al. *Int Clin Psychopharmacol*. 1988. 3 (3). P. 245-53.
117. The phosphodiesterase inhibitor rolipram delivered after a spinal cord lesion promotes axonal regeneration and functional recovery / E. Nikulina, J.L. Tidwell, H.N. Dai et al.. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004. 101 (23). P. 8786-90.
118. Kajana S., Goshgarian H.G. Administration of phosphodiesterase inhibitors and an adenosine A1 receptor antagonist induces phrenic nerve recovery in high cervical spinal cord injured rats. *Exp Neurol*. 2008. 210 (2). P. 671-80.
119. Nagakura A., Niimura M., Takeo S.. Effects of a phosphodiesterase IV inhibitor rolipram on microsphere embolism-induced defects in memory function and cerebral cyclic AMP signal transduction system in rats. *Br J Pharmacol*. 2002. 135 (7). P. 1783-93.
120. Pharmacokinetics of NS-105, a novel cognition enhancer. 2nd communication: distribution and transfer into fetus and milk after single administration, and effects of repeated administration on pharmacokinetics and hepatic drug-metabolizing enzyme activities in rats / H. Mukai, T. Sugimoto, M. Ago et al. *Arzneimittelforschung*. 1999. 49 (12). P. 977-85.
121. Pinzi L., Rastelli G. Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery. *International Journal of Molecular Sciences* . 2019.

- 20(18). doi: 10.3390/ijms2018433.
122. Tripathi A., Bankaitis V.A. Molecular docking: From lock and key to combination lock. *Journal of Molecular Medicine and Clinical Applications* . 2017.2(1). doi: 10.16966/2575-0305.106.
 123. Kitchen D.B, Decornez H, Furr J.R. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2004. 3(11). P. 935-949. doi: 10.1038/nrd1549.
 124. Deng H, Jia Y., Zhang Y. Protein structure prediction. *International Journal of Modern Physics B* . 2018. 32(18). doi: 10.1142/S021797921840009X.
 125. Salmaso V., Moro S. Bridging molecular docking to molecular dynamics in exploring ligand-protein recognition process: An overview. *Frontiers in Pharmacology* . 2018. 9. P. 923. doi: 10.3389/fphar.2018.00923.
 126. Molecular docking and structure-based drug design strategies / L. Ferreira, R.N. Dos Santos, G. Oliva et al. *Molecules* . 2015. 20(7). P. 13384–13421. doi: 10.3390/molecules200713384.
 127. Taylor R.D, Jewsbury P.J, Essex J.W. A review of protein-small molecule docking methods. *Journal of Computer Aided Molecular Design* . 2002. 16(3). P. 151–166. doi: 10.1023/a:1020155510718.
 128. PatchDock and SymmDock: Servers for rigid and symmetric docking / D. Schneidman-Duhovny, Y. Inbar, R. Nussinov et al. *Nucleic Acids Research*. 2005. 33(Web Server issue). P. W363–W367. doi: 10.1093/nar/gki481.
 129. Huang S.Y, Zou X. Ensemble docking of multiple protein structures: Considering protein structural variations in molecular docking. *Proteins* . 2007. 66(2). P. 399-421. doi: 10.1002/prot.21214.
 130. Brooijmans N., Kuntz I.D. Molecular recognition and docking algorithms. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*. 2003. 32. P. 335-373. doi: 10.1146/annurev.biophys.32.110601.142532.
 131. .DOCK 6: Impact of new features and current docking performance / W.J. Allen, T.E. Balius, S. Mukherjee et

- al. *Journal of Computational Chemistry*. 2015. 36(15). P. 1132-1156. doi: 10.1002/jcc.23905.
132. DOCK server: Interactive docking prediction of protein-protein complexes and symmetric multimers / B.G. Pierce, K. Wiehe, H. Hwang. *Bioinformatics*. 2014. 30(12). P. 1771-1773. doi: 10.1093/bioinformatics/btu097.
133. MS-DOCK: Accurate multiple conformation generator and rigid docking protocol for multi-step virtual ligand screening / N. Sauton, D. Lagorce, B.O. Villoutreix et al. *BMC Bioinformatics*. 2008. 9. P. 184. doi: 10.1186/1471-2105-9-184.
134. Trott O., Olson A.J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. 2010. 31(2). P. 455-461. doi: 10.1002/jcc.21334.
135. Pei J., Wang Q., Liu Z. PSIDOCK: Towards highly efficient and accurate flexible ligand docking. *Proteins*. 2006. 62(4). P. 934-946. doi: 10.1002/prot.20790.
136. Morris G.M., Goodsell D.S., Halliday R.S. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry*. 1998. 19(14). P. 1639-1662. doi: 10.1002/(sici)1096-987x(19981115)19:14<1639::aid-jcc10>3.0.co;2-b. 98.
137. Highperformance virtual screening by targeting a highresolution RNA dynamic ensemble / L.R. Ganser, J. Lee, A. Rangadurai et al. *Nature Structural and Molecular Biology*. 2018. 25(5). P. 425-434. doi: 10.1038/s41594-018-0062-4.
138. Leach A.R. Ligand docking to proteins with discrete side-chain flexibility. *Journal of Molecular Biology*. 1994. 235(1). P. 345-356. doi: 10.1016/s0022-2836(05)80038-5.
139. Knegtel R.M., Kuntz I.D., Oshiro C.M. Molecular docking to ensembles of protein structures. *Journal of Molecular*. 1997. 266(2). P. 424-

440. doi: 10.1006/jmbi.1996.0776.
140. Rarey M., Kramer B., Lengauer T. A fast flexible docking method using an incremental construction algorithm. *Journal of Molecular Biology*. 1996. 261(3). P. 470-489. doi: 10.1006/jmbi.1996.0477.
141. Lensink M.F., Mendez R., Wodak S.J. Docking and scoring protein complexes: CAPRI 3rd edition. *Proteins*. 2007. 69(4). P. 704-718. doi: 10.1002/prot.21804.
142. Cournia Z., Allen B.K., Beuming T. Rigorous free energy simulations in virtual screening. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2020. doi: 10.1021/acs.jcim.0c00116.
143. Guedes I.A., Pereira F.S.S., Dardenne L.E. Empirical scoring functions for structure-based virtual screening: Applications, critical aspects, and challenges. *Frontiers in Pharmacology*. 2018. 9. P. 1089. doi: 10.3389/fphar.2018.01089.
144. ID-score: A new empirical scoring function based on a comprehensive set of descriptors related to protein-ligand interactions / G.B. Li, L.L. Yang, W.J. Wang. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2013. 53(3). P. 592-600. doi: 10.1021/ci300493w.
145. Mooij W., Verdonk M. General and targeted statistical potentials for protein-ligand interactions. *Proteins*. 2005. 61. P. 272-287. doi: 10.1002/prot.20588. 97.
146. Pason L.P., Sotriffer C.A. Empirical scoring functions for affinity prediction of protein-ligand complexes. *Molecular Informatics*. 2016. 35(11-12). P. 541-548. doi: 10.1002/minf.201600048.
147. DEEPScreen: High performance drug-target interaction prediction with convolutional neural networks using 2-D structural compound representations / A.S. Rifaioglu, E. Nalbat, V. Atalay et al. *Chemical Science*. 2020. 11(9). P. 2531-2557. doi: 10.1039/C9SC03414E.
148. GalaxyDock BP2 score: A hybrid scoring function for accurate protein-ligand docking / M. Baek, W.H. Shin, H.W. Chung et al. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 2017. 31(7). P. 653-666. doi: 10.1007/s10822-017-

0030-9.

149. NMDA receptor structures reveal subunit arrangement and pore architecture / C.H. Lee, W. Lu, J.C. Michel et al. *Nature*. 2014. 511. P. 191-197.
150. Mechanism of NMDA receptor channel block by MK-801 and memantine / X. Song, M.O. Jensen, V. Jogini et al. *Nature*. 2018. 556. P. 515-519.
151. Cryo-EM structures of the triheteromeric NMDA receptor and its allosteric modulation / W. Lu, J. Du, A. Goehring et al. *Science*. 2017. 355.
152. Crystal structures of the M1 and M4 muscarinic acetylcholine receptors / D.M. Thal, B. Sun, D. Feng et al. *Christopoulos A. Nature*. 2016. 531. P. 335-340.
153. Agonist Selectivity and Ion Permeation in the alpha 3 beta 4 Ganglionic Nicotinic Receptor / A. Gharpure, J. Teng, Y. Zhuang et al. *Neuron*. 2019. 104. P. 501.

ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ А



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ДИПЛОМ II СТУПЕНЯ

нагороджується

Маїзу Елязід

у секційному засіданні студентського
наукового товариства кафедри
медичної хімії

XXIX Міжнародна науково-практична
конференція молодих вчених та студентів
«Актуальні питання створення нових
лікарських засобів»

В.о. ректора
Національного фармацевтичного
університету



Алла КОТВИЦЬКА

19-21 квітня 2023 р.
м. Харків



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ



СЕРТИФІКАТ УЧАСНИКА

Цим засвідчується, що

Maizou E., Semenets A.P., Kobzar N.P.
Scientific supervisor: Suleiman M.M.

брав(ла) участь у роботі

XXIX Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів
«АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»

В.о. ректора
Національного фармацевтичного
університету



Алла КОТВИЦЬКА

19-21 квітня 2023 р., м. Харків



ПРОДОЛЖЕНИЕ ПРИЛОЖЕНИЯ А

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ
НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

**МАТЕРІАЛИ
XXIX МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ МОЛОДИХ ВЧЕНИХ ТА СТУДЕНТІВ**

**19-21 квітня 2023 року
м. Харків**

**Харків
НФаУ
2023**

ПРОДОЛЖЕНИЕ ПРИЛОЖЕНИЯ А

DOCKING STUDIES OF THE NOOTROPIC EFFECT OF NEW RACETAMS

Maizou E., Semenets A.P., Kobzar N.P.

Scientific supervisor: asoc. prof. Suleiman M.M.

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

suleiman.nfau@outlook.com

Introduction. There is a growing interest and need for new drugs for age-related problems of the central nervous system. The mechanisms of action of piracetam and most of its derivatives remain a mystery. Differential effects on glutamate receptor subtypes, mediated effects on acetylcholine targets, were implicated; activation of calcium influx to neuronal cells; binding to other neural receptors, etc. The absence of a general molecular mechanism of action makes it relevant for nootropics to identify receptors and synaptic processes through which they influence cognitive functions and realize non-specific effects. The identification of such regularities will contribute to the optimization of the pharmacotherapy of existing drugs and the development of new highly effective nootropics.

Aim. Optimizing the search for new nootropic agents from the racetam group using a modern method of predicting the affinity to specified targets (molecular docking).

Materials and methods. Derivatives of 1-benzyl-4-pyrrolidin-2-one, which were generated using the Marvin Sketch 20.5 program, were chosen as objects of study. Crystallographic models of glutamate and acetylcholine receptors for molecular docking were taken from the Protein data bank (PDB ID: 5UOW, 5CXV). The Autodock 4.2 software package was used for receptor-oriented flexible docking.

Results and discussion. In order to optimize the search for nootropic agents, we carried out a structural modification of the basic scaffold of 1-benzyl-4-pyrrolidin-2-one with a different pharmacophore grouping. In this way, new derivatives with substitution in the benzylic and pyrrolidine fragments were generated (Fig. 1)

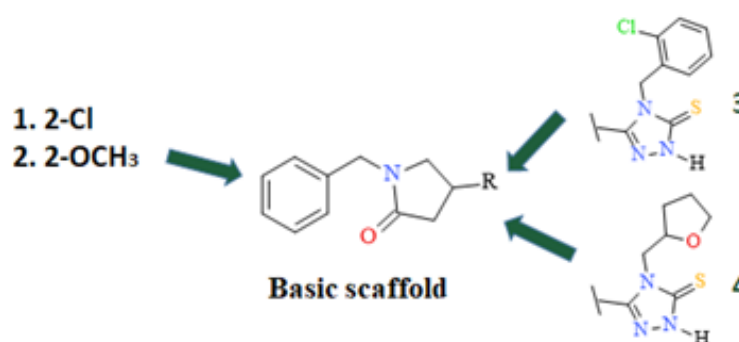


Fig. 1. Modification of the basic scaffold of 1-benzyl-4-pyrrolidin-2-one

Based on the results of molecular docking, the following were calculated: the scoring function (Affinity DG), the value of the binding free energy and the binding constants (E_{Doc} kcal/mol and K_i μ M (micromol)) for the best conformational positions of the studied ligands. The calculated values indicate a moderate activity to both glutamate and acetylcholine receptors, all values are mostly at the level of drug references (Tab. 1).

ПРОДОЛЖЕНИЕ ПРИЛОЖЕНИЯ А

Tab. 1. Estimated molecular docking values of generated molecules relative to nootropic targets (PDB ID: 5UOW, 5CXV)

№	5UOW			5CXV		
	Affinity DG	EDoc	Ki μ M	Affinity DG	EDoc	Ki μ M
1	-7.0	-5.22	150.42	-6.3	-6.24	26.66
2	-5.7	-5.36	117.46	-7.5	-5.81	55.32
3	-8.4	-6.13	31.95	-8.7	-7.04	6.96
4	-6.5	-4.91	252.56	-8.0	-5.73	63.16
Nebracetam	-5.9	-5.18	158.48	-6.2	-6.15	30.84

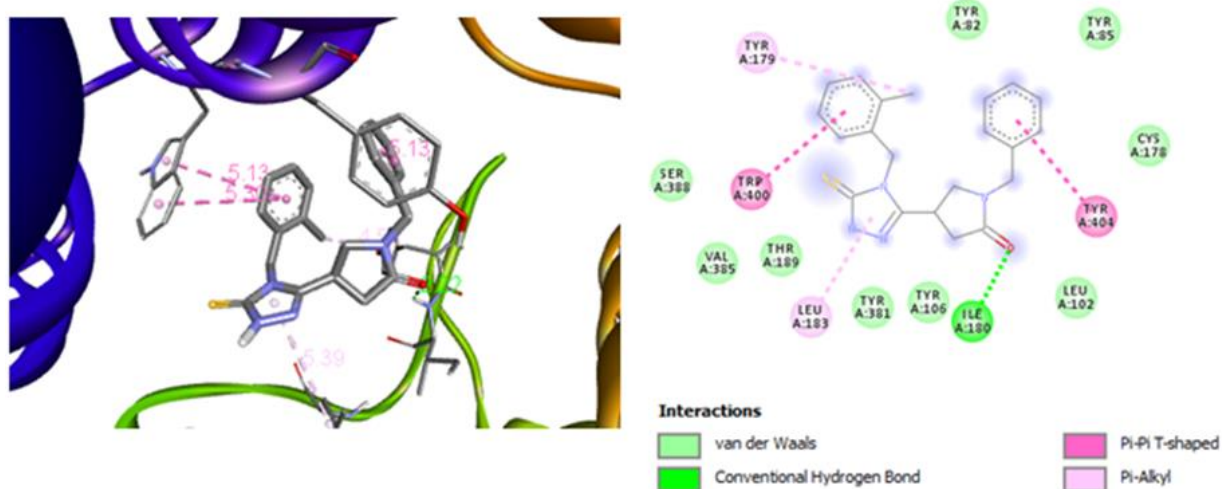


Fig. 2. Visualization of the molecular docking of the leader compound in complex with the glutamate receptor (PDB ID: 5UOW)

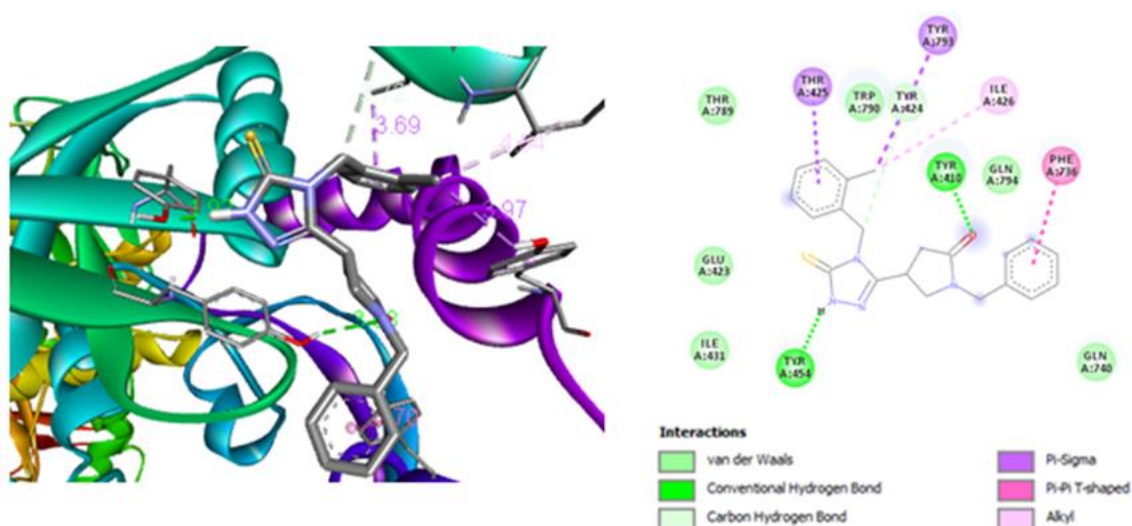


Fig. 3. Visualization of the molecular docking of the leader compound in complex with the acetylcholine receptor (PDB ID: 5CXV)

ПРОДОЛЖЕНИЕ ПРИЛОЖЕНИЯ А

The activity of the studied molecules in relation to the selected receptors can be realized due to the formation of complexes between them, the stability of which is ensured due to the energetically advantageous geometric arrangement of the tested molecules in the active sites of the receptors, the formation of intermolecular interactions between them, namely: hydrogen bonds, electrostatic and hydrophobic interactions. Visualization of the formed intermolecular contacts of the leader compound (3) (PDB ID: 5UOW Affinity $DG = -8.4$ kcal/mol, $E_{Doc} = -6.13$ kcal/mol, $K_i \mu M = 31.95$ micromolar; 5CXV Affinity $DG = -8.7$ kcal/mol, $E_{Doc} = -7.04$ kcal/mol, $K_i \mu M = 6.96$ micromolar) shown in Fig. 2 and 3.

Conclusions. The obtained computational values and the analysis of the geometric arrangement of the generated molecules in the active sites indicate a high affinity with nootropic targets. The obtained results of molecular docking can be used in the planning of experimental screening and in providing recommendations to optimize the search for future nootropic candidates.

Национальный фармацевтический университет

Факультет по подготовке иностранных граждан
Кафедра медицинской химии
Уровень высшего образования магистр
Специальность 226 Фармация, промышленная фармация
Образовательная программа Фармация

УТВЕРЖДАЮ
Заведующая кафедрой
медицинской химии

Лина ПЕРЕХОДА
“22” августа 2022 года

ЗАДАНИЕ
НА КВАЛИФИКАЦИОННУЮ РАБОТУ
СОИСКАТЕЛЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

Элязида МАИЗУ

1. Тема квалификационной работы: «Докинговые исследования ноотропного действия новых рацетамов»,
руководитель квалификационной работы: Маргарита СУЛЕЙМАН, к.фарм.н., доцент,
утвержденный приказом НФаУ от “06” февраля 2023 года № 35
2. Срок подачи соискателем высшего образования квалификационной работы: апрель 2023 г.
3. Исходящие данные к квалификационной работе: оптимизация поиска новых ноотропных средств из группы рацетамов с использованием современного метода прогнозирования сродства к заданным мишеням (молекулярного докинга).
4. Содержание расчетно-пояснительной записки (перечень вопросов, которые необходимо разработать): 1) обосновать структурную модификацию базового 1-бензил-4-пирролидин-2-она с целью создания оптимальных молекул для молекулярной стыковки; 2) создать органайзер кристаллографических моделей ноотропных мишеней с целью оптимизации выбора для дальнейшей молекулярной стыковки; 3) с помощью полученных оценочных значений установить активность исследуемых молекул по отношению к выбранной оптимальным мишеням; 4) провести детальный анализ геометрического расположения испытуемых молекул в активном сайте мишени с целью предоставления рекомендаций по оптимизации поиска будущих ноотропных кандидатов.
5. Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):
таблиц –4 , рисунков – 21.

6. Консультанты разделов квалификационной работы

Раздел	Имя, ФАМИЛИЯ, должность консультанта	Подпись, дата	
		задание выдал	задание принял
1	Маргарита СУЛЕЙМАН, доцент заведения высшего образования кафедры медицинской химии	сентябрь 2022	сентябрь 2022
2	Маргарита СУЛЕЙМАН, доцент заведения высшего образования кафедры медицинской химии	декабрь 2022	декабрь 2022
3	Маргарита СУЛЕЙМАН, доцент заведения высшего образования кафедры медицинской химии	февраль 2023	февраль 2023

7. Дата выдачи задания: «22» августа 2022 года

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН

№ п/п	Название этапов квалификационной работы	Срок выполнения этапов квалификационной работы	Примечание
1	Пирролидиновый скаффолд как стратегическая платформа проектирования лекарств. Фундаментальные исследования рацетамовых ноотропов (обзор литературы). Написание раздела 1.	сентябрь-ноябрь 2022 г.	выполнено
2	Характеристика и аргументация выбора объектов и методов исследования. Написание раздела 2.	декабрь 2022 г.- январь 2023г.	выполнено
3	Создание органайзера ноотропных мишеней и их кристаллографических моделей	февраль 2023 г.	выполнено
4	Докинговые исследования новых рацетамов как потенциальных ноотропных агентов	март 2023 г.	выполнено
5	Написание раздела 3 и выводов. Оформление квалификационной работы и представление в ЭК.	апрель 2023 г.	выполнено

Соискатель высшего образования _____ Элязид МАИЗУ

Руководитель квалификационной работы _____ Маргарита СУЛЕЙМАН

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 35
По Національному фармацевтичному університету
від 06 лютого 2023 року

нижченаведеним студентам 5-го курсу 2022-2023 навчального року, навчання за освітнім ступенем «магістр», галузь знань 22 охорона здоров'я, спеціальності 226 – фармація, промислова фармація, освітня програма – фармація, денна форма здобуття освіти (термін навчання 4 роки 10 місяців та 3 роки 10 місяців), які навчаються за контрактом, затвердити теми кваліфікаційних робіт:

Прізвище студента	Тема кваліфікаційної роботи		Посада, прізвище та ініціали керівника	Рецензент кваліфікаційної роботи
• по кафедрі медичної хімії				
Маїзу Елязід	Докінгові дослідження ноотропної дії нових рацетамів	Docking studies of the nootropic effect of new racetams	доц. Сулейман М.М.	доц. Северіна Г.І.

Підстава: подання декана, згода ректора

Ректор

Вірно. Секретар



ВИСНОВОК

**Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу
щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі
здобувача вищої освіти**

№ 112621 від « 26 » квітня 2023 р.

Проаналізувавши випускню кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Маїзу Елязід, 5 курсу, _____ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Докінгові дослідження ноотропної дії нових рацетамів / Docking studies of the nootropic effect of new racetams», 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

**10%
28%**

ОТЗЫВ

научного руководителя на квалификационную работу уровня высшего образования магистр специальности 226 Фармация, промышленная фармация

Элязида МАИЗУ

на тему: «Докинговые исследования ноотропного действия новых рацетамов»

Актуальность темы. Пирролидин-2-он является мощным скафолдом, лежащим в основе многих лекарственных препаратов ноотропного действия. Группа лекарственных препаратов этого ряда относится к рацетамам. В основе механизма проявления ноотропного эффекта лежит имитация аминокислотных нейромедиаторов, что приводит к воздействию на глутаматную и ГАМК системы мозга. Практически все ноотропы способны связываться с дофаминовыми, серотониновыми, бензодиазепиновыми рецепторами, в связи с этим существуют неспецифические эффекты, такие как транквилизирующий, седативный и гипнотический. Следует отметить, что влияние на глутаматные рецепторы приводит к стимуляции ацетилхолиновых мишеней. Множество ноотропов этого ряда не имеют четкого механизма проявления ноотропного эффекта, поэтому на сегодняшний день отсутствуют данные относительно их направленного действия.

Практическая ценность выводов, рекомендаций и их обоснованность. С целью оптимизации поиска ноотропных средств проведена структурная модификация основного каркаса 1-бензил-4-пирролидин-2-она с другой фармакофорной группировкой с замещением в бензильном и пирролидиновом фрагментах. Проведенная молекулярная стыковка относительно ноотропных мишеней дала положительный результат касательно средства генерируемых молекул с основными центрами рецепторов. Полученные данные стыковки могут использоваться при

планировании экспериментального скрининга на ноотропную активность и при предоставлении рекомендаций для оптимизации поиска новых рацетамовых ноотропов.

Оценка работы. Соискателем самостоятельно осуществлен обзор научной литературы в области проектирования лекарств производных пирролидина и фундаментальных исследований рацетамовых ноотропов. Под руководством руководителя выполнена экспериментальная часть работы, а именно, проведен молекулярный докинг потенциальных ноотропных агентов с целью выявления средств к глутаматным и ацетилхолиновым мишеням. Автор самостоятельно интерпретировал результаты исследования и формулировал соответствующие выводы.

Общий вывод и рекомендации о допуске к защите. Работа выполнена на высоком уровне с практической значимостью полученных результатов. Работа по тематике, уровню выполнения, обоснованностью выводов соответствует требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам, и может быть представлена к защите в Экзаменационной комиссии.

Научный руководитель _____ Маргарита СУЛЕЙМАН

«07» апреля 2023 г.

РЕЦЕНЗИЯ

на квалификационную работу уровня высшего образования магистр специальности 226 Фармация, промышленная фармация

Элязида МАИЗУ

на тему: «Докинговые исследования ноотропного действия новых рацетамов»

Актуальность темы. Механизмы действия пирацетама и пирацетамоподобных средств остаются загадкой. Общепринятым является участие в дифференциальных эффектах на подтипы глутаматных рецепторов, которые способны влиять на ацетилхолиновые мишени; активация поступления кальция в нейрональные клетки; связывание с другими нейротропными рецепторами и т.д. Отсутствие общего молекулярного механизма действия делает актуальным выявление ноотропных средств рецепторов и синаптических процессов, с помощью которых они оказывают влияние на когнитивные функции.

Теоретический уровень работы. Выпускная работа состоит из вступительной части, обзора литературы, раздела экспериментальных *in silico* исследований. Цель и задачи исследования сформулированы четко и направлены на комплексное решение исследуемой проблемы. Был осуществлен молекулярный докинг потенциальных ноотропных агентов с целью выявления сродства к глутаматным и ацетилхолиновым мишеням. В работе четко интерпретированы результаты исследования и сформулированы соответствующие выводы.

Предложения автора по теме исследования. Полученные данные стыковки могут использоваться при планировании экспериментального скрининга на ноотропную активность и при предоставлении рекомендаций для оптимизации поиска новых рацетамовых ноотропов.

Практическая ценность выводов, рекомендаций и их обоснованность.

Для оптимизации поиска ноотропных средств проведена структурная модификация основного каркаса 1-бензил-4-пирролидин-2-она с другой фармакофорной группировкой. Полученные структуры поддавали виртуальной стыковки с потенциальными мишеням. Выбор глутаматных и ацетилхолиновых рецепторов для докинга базировался на анализе архитектуры мишеней и на структурном сходстве генерируемых объектов с референс препаратом Небрацетамом, который способен влиять на глутаматные рецепторы и усиливать холинергические функции гиппокампа. Результат такой стыковки подтверждается высокими абсолютными значениями функции скоринга, значениями свободной энергии и констант связывания. Подробный анализ геометрического расположения исследуемых молекул в активных сайтах мишеней свидетельствует о том, что в образовании комплексов участвуют одинаковый набор аминокислотных остатков с соответствующими ключевыми фрагментами тестируемых молекул.

Недостатки работы. В работе слишком детально описаны параметры молекулярной стыковки. В работе встречаются небольшое количество грамматических ошибок. Представленные замечания не принципиальны и существенно не влияют на практическую ценность квалификационной работы.

Общий вывод и оценка работы. Квалификационная работа Элязида МАИЗУ на тему: «Докинговые исследования ноотропного действия новых рацетамов» может быть рекомендована к официальной защите в экзаменационной комиссии Национального фармацевтического университета, а ее автор заслуживает высокой оценки.

Рецензент _____

доц. Анна СЕВЕРИНА

«14» апреля 2023 г.

ВИТЯГ

**з протоколу засідання кафедри медичної хімії
№ 10 від 21 квітня 2023 р.**

ПРИСУТНІ:

проф. Ліна ПЕРЕХОДА, проф. Андрій ФЕДОСОВ, доц. Вадим ЗУБКОВ, доц. Ірина СИЧ, доц. Віталій ЯРЕМЕНКО, доц. Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, доц. Наталія КОБЗАР, доц. Марина РАХІМОВА, доц. Маргарита СУЛЕЙМАН, ас. Олена БЕВЗ, ас. Ольга ВІСЛОУС

ПОРЯДОК ДЕННИЙ:

Звіт про стан виконання кваліфікаційної роботи здобувача вищої освіти факультету з підготовки іноземних громадян Фм18(5,0д)і-10 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Елязіда МАІЗУ на тему: «Докінгові дослідження ноотропної дії нових рацетамів»

СЛУХАЛИ: доповідь здобувача вищої освіти факультету з підготовки іноземних громадян Фм18(5,0д)і-10 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Елязіда МАІЗУ на тему: «Докінгові дослідження ноотропної дії нових рацетамів»

УХВАЛИЛИ: рекомендувати кваліфікаційну роботу Елязіда МАІЗУ до офіційного захисту в Екзаменаційній комісії.

**Завідувачка кафедри медичної хімії,
професор**

Ліна ПЕРЕХОДА

**Секретар кафедри медичної хімії,
доцент**

Марина РАХІМОВА

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**ПОДАННЯ
ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ
ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ**

Направляється здобувач вищої освіти Елязід МАІЗУ до захисту кваліфікаційної роботи

за галуззю знань 22 Охорона здоров'я
спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація
освітньою програмою Фармація

на тему: «Докінгові дослідження ноотропної дії нових рацетамів».

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Світлана КАЛАЙЧЕВА /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Елязід МАІЗУ у повному обсязі виконав кваліфікаційну роботу. За актуальністю, методичним рівнем, теоретичним та практичним значенням, об'ємом виконаних досліджень кваліфікаційна робота відповідає вимогам і допускається до захисту в Екзаменаційній комісії.

Керівник кваліфікаційної роботи

Маргарита СУЛЕЙМАН

«07» квітня 2023 р.

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

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

Завідувачка кафедри
медичної хімії

Ліна ПЕРЕХОДА

«21» квітня 2023 р.

Квалификационную работу защищено
в Экзаменационной комиссии

« ____ » _____ июня _____ 2023 г.

С оценкой _____

Председатель Экзаменационной комиссии,
доктор фармацевтических наук, профессор

_____ /Владимир ЯКОВЕНКО /