

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Національний фармацевтичний університет
Факультет фармацевтичних технологій та менеджменту
Кафедра медичної хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: **«ОПТИМІЗАЦІЯ ПОШУКУ НООТРОПНИХ АГЕНТІВ, ЩО
МІСТЯТЬ ЗАМІЩЕНІ ПІРРОЛДИНОВІ ТА 1,2,4-ТРИАЗАОЛЬНІ
КАРКАСИ»**

Виконала: здобувачка вищої освіти групи

Фс18(4,5з)мед-02б

спеціальності: 226 Фармація, промислова фармація

освітньої програми Фармація

Анна РІЗНИЧЕНКО

Керівник: доцент закладу вищої освіти кафедри
медичної хімії, к.фарм.н., доцент

Маргарита СУЛЕЙМАН

Рецензент: доцент закладу вищої освіти кафедри
фармацевтичної хімії, д.фарм.н., доцент

Ганна СЕВЕРІНА

АНОТАЦІЯ

Робота присвячена оптимізації пошуку нових ноотропних агентів, що містять заміщені пірролідинові та 1,2,4-тріазольні каркаси з використанням сучасного методу прогнозування спорідненості до визначених мішеней (молекулярного докінгу). Отримані результати досліджень можуть бути корисні для раціонального дизайну «лікоподібних» молекул обраної групи речовин та подальшого проведення експериментального скринінгу. Робота складається із вступу, трьох розділів, висновків, списку використаної літератури, що включає 100 найменувань. Зміст роботи викладено на 51 сторінці машинописного тексту та містить 4 таблиці та 18 рисунків.

Ключові слова: заміщені пірролідини, 1,2,4-тріазольні каркаси, ноотропна активність, ацетилхолінові рецептори, глутаматні рецептори, молекулярний докінг.

ANNOTATION

The work is devoted to the optimization of the search for new nootropic agents containing substituted pyrrolidine and 1,2,4-triazol frameworks using a modern method of predicting the affinity to specified targets (molecular docking). The obtained research results can be useful for the rational design of "drug-like" molecules of the selected group of substances and further experimental screening. The work consists of an introduction, three sections, conclusions, a list of references, which includes 100 titles. The content of the work is set out on 51 pages of typewritten text and contains 4 tables and 18 figures.

Key words: substituted pyrrolidines, 1,2,4-triazole frameworks, nootropic activity, acetylcholine receptors, glutamate receptors, molecular docking.

ЗМІСТ

	Стор.
ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. ПІРАЦЕТАМ І ПІРАЦЕТАМ-ПОДІБНІ ПРЕПАРАТИ. ВІД ФУНДАМЕНТАЛЬНОЇ НАУКИ ДО НОВИХ КЛІНІЧНИХ ЗАСТОСУВАНЬ РОЗЛАДІВ ЦНС (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	7
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1	25
РОЗДІЛ. 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ТА АРГУМЕНТАЦІЯ ВИБОРУ ОБ'ЄКТІВ І МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.	26
2.1. Об'єкти досліджень, характеристика структур	26
2.2. Молекулярний докінг як перспективний напрямок молекулярного моделювання.....	28
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 2.....	34
РОЗДІЛ 3. ВИКОРИСТАННЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКІНГУ ДЛЯ ПОШУКУ НОВИХ НООТРОПІВ, ЩО МІСТЯТЬ ЗАМІЩЕНІ ПІРРОЛІДИНОВІ ТА 1,2,4-ТРІАЗАОЛЬНІ КАРКАСИ	35
3.1. Органайзер кристалографічних моделей ноотропних мішеней.....	
3.2. Молекулярний докінг потенційних ноотропних агентів, що містять заміщені пірролідінові та 1,2,4-тріазаольні каркаси.....	40
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3.....	49
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	50
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	52

ВСТУП

Актуальність теми. Зростає інтерес та потреба в нових ліках для вікових проблем центральної нервової системи. На сьогодні існує достатня кількість даних мета-аналізу клінічної ефективності ноотропів з групи рацетамів, що стосується фармакології, фармакокінетики/фармакодинаміки, механізму дії, дозування, токсикології та побічних ефектів. Лікарські препарати даної групи - пірацетам, оксирацетам, анірацетам, прамірацетам і фенілпірацетам, за даними останніх досліджень покращували когнітивний дефіцит, пов'язаний із черепно-мозковими травмами та проявляли нейропротекторний ефект при застосуванні під час операції коронарного шунтування. Базовий пірацетам також був ефективним у лікуванні когнітивних розладів цереброваскулярного та травматичного походження; однак його загальний вплив на зниження депресії та тривоги був вищим, ніж на покращення пам'яті. Механізми дії пірацетаму більшості його похідних залишаються загадкою. Були залучені диференціальні ефекти на підтипи глутаматних рецепторів, опосередкований вплив на ацетилхолінові мішені; активація надходження кальцію до нейрональних клітин; зв'язування з іншими нейронними рецепторами тощо. Відсутність загального молекулярного механізму дії робить актуальним виявлення для ноотропних засобів рецепторів та синаптичних процесів, за допомогою яких вони проявляють вплив на когнітивні функції та реалізують неспецифічні ефекти. Виявлення таких закономірностей сприятиме оптимізації фармакотерапії існуючих препаратів та розробці нових високо ефективних ноотропів.

Метою дослідження є оптимізація пошуку ноотропних агентів, що містять заміщені пірролідинові та 1,2,4-тріазаольні каркаси за допомогою сучасного методу прогнозування спорідненості до визначених мішеней (молекулярного докінгу).

Завдання дослідження:

- Обґрунтувати структурну модифікацію базового 1-бензил-4-піролідин-2-ону з метою створення оптимальних молекул для молекулярної стиковки;
- Створити органайзер кристалографічних моделей ноотропних мішеней для оптимізації вибору біологічної мішені для молекулярного докінгу;
- Встановити активність досліджуваних молекул по відношенню до обраної ноотропної мішені за допомогою отриманих скорингових функцій, енергій та констант зв'язування.
- Провести детальний аналіз геометричного розташування випробуваних молекул в активному сайті рецептора з метою надання рекомендацій для оптимізації пошуку майбутніх ноотропних кандидатів.

Об'єкт дослідження. Заміщені піролідини, 1,2,4-тріазольні каркаси, ноотропна активність, ацетилхолінові рецептори, глутаматні рецептори, докінгові дослідження.

Предмет дослідження – рецепторно-орієнтований гнучкий молекулярний докінг.

Методи дослідження. *In silico* методи: молекулярний докінг.

Елементи наукових досліджень. Об'єктами докінгових досліджень були обрані структури на основі 1-бензил-4-піролідин-2-ону, модифікованим заміщеними 5-тіо-1,2,4-тріазольними каркасами. В якості препарату порівняння обрано Небрацетам у зв'язку з структурною подібністю базового скафолду. З метою оптимізації вибору біологічної мішені для молекулярного докінгу був створений органайзер кристалографічних моделей ноотропних мішеней. Вибір ацетилхолінових рецепторів для докінгу базувався на аналізі архітектури мішеней та на структурну подібність з генерованих об'єктів до референс препарату Небрацетаму, який здатний посилювати холінергічні функції гіпокампу. Одержані значення молекулярної стиковки свідчать, що активність досліджуваних молекул щодо мускаринового та нікотинного

ацетилхолінових рецепторів може бути реалізована за рахунок утворення між ними комплексів, стабільність яких забезпечується за рахунок енергетично вигідного геометричного розташування протестованих молекул в активних сайтах рецепторів. Результат такої стиковки підтверджується високими абсолютними значеннями скорингової функції (Affinity DG, ккал/моль), значеннями вільної енергії $E_{Dос}$ (ккал/моль) і констант зв'язування K_i (мкМ). В результаті стиковки з мускариновим ацетилхоліновим рецептором спостерігався кращий афінітет, ніж у випадку з нікотинним. Афінітет був на рівні Небрацетаму або перевищував за всіма обчисленими значеннями у випадку молекули 1 та 3. Детальний аналіз геометричного розташування досліджуваних молекул в активному сайті рецептора свідчить, що в утворенні комплексів беруть участь однаковий набір амінокислотних залишків з відповідними ключовими фрагментами тестованих сполук. Отримані дані молекулярного докінгу можуть бути використані при плануванні експериментального скринінгу на ноотропну активність та при наданні рекомендацій для оптимізації пошуку майбутніх ноотропних кандидатів.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи. Кваліфікаційна робота складається із вступу, огляду літератури, розділу аналітико-дослідницької аргументації об'єктів та методів досліджень, розділу експериментальних досліджень, висновків, списку використаної літератури. Загальний обсяг роботи складає 51 сторінка. Робота ілюстрована 4 таблицями, 18 рисунками. Список використаної літератури складає 100 найменувань.

**РОЗДІЛ 1. ПІРАЦЕТАМ І ПІРАЦЕТАМ-ПОДІБНІ ПРЕПАРАТИ.
ВІД ФУНДАМЕНТАЛЬНОЇ НАУКИ ДО НОВИХ КЛІНІЧНИХ
ЗАСТОСУВАНЬ РОЗЛАДІВ ЦНС
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)**

Пірацетам і споріднені ліганди з малими молекулами мають п'ятиуглецеве оксопіролідонове кільце, яке також називають рацетамами, належать до класу ноотропних сполук у ширшому визначенні. Термін «ноотроп» (від грецьких слів «noos» — «розум» і «tropein» - «охорона») було запропоновано спочатку, коли було продемонстровано позитивний вплив пірацетаму на покращення когнітивних функцій [1]. Пірацетам і пірацетамподібні препарати є модуляторами церебральних функцій. Ці агенти також використовуються для відновлення пам'яті та працездатності мозку у пацієнтів з енцефалопатіями різної етіології, включаючи черепно-мозкові травми, запалення та ускладнення інсульту/ішемії після операції шунтування, тоді як деякі похідні показані для неврологічних розладів, таких як судоми. Потреба в нових ліках для вікових проблем ЦНС зростає в найближчому майбутньому, оскільки покоління бебі-бумерів наближається до пенсійного віку. Втрата пам'яті є одним із основних факторів, що впливають на повсякденну діяльність людей похилого віку. З моменту відкриття пірацетаму наприкінці 1960-х років було синтезовано більше дюжини пірацетам-подібних речовин, які були запропоновані для лікування когнітивних порушень і розладів ЦНС.

Пірацетаму приписують численні широкі клінічні застосування [2], багато з яких базуються на відкритих або неконтрольованих дослідженнях на тваринах і людях. Пірацетам та його аналоги використовувалися для різних терапевтичних втручань, пов'язаних з ЦНС, включаючи когнітивні функції/пам'ять; епілепсія та судоми; нейродегенеративні захворювання; інсульт/ішемія; стрес і тривога. Сполуки, пов'язані з пірацетамом, були широко досліджені та опубліковані у великій кількості публікацій за останні 3 десятиліття. З понад десятка нових продуктів вісім почали клінічні

дослідження для різних захворювань ЦНС за останні роки. Загальна кількість клінічних публікацій, що представляють усі сполуки, перевищує 300. Хоча більшість робіт про пірацетам було опубліковано понад 10 років тому, найбільша кількість за останні 3 роки стосується леветирацетаму [3-5]. Без упередженого відбору ми розглянули ключові та основні статей, які демонструють доказові клінічні дослідження та іншу доступну інформацію про ринкові продукти, клінічні результати, до клінічні біохімічні та фармакологічні дані, а також перспективні пірацетамові препарати з невідомим співвідношенням користь/ризик.

Пірацетам і леветирацетам (рис. 1.1) розроблені UCB Pharma, Бельгія; оксирацетам ISF, Італія; анірацетам фірми Roche Pharmaceuticals, Швейцарія; прамірацетам Warner-Lambert, США [6] та фенілпірацетам Медико-біологічного інституту РАН (виробник Valenta Pharmaceuticals). В інструкції до продукту (International Anti-Aging Systems, Великобританія) зазначено, що оксирацетам призначений для «психічних синдромів, спричинених церебральною недостатністю, розладів розумової працездатності у людей похилого віку, і жодних побічних взаємодій не було відзначено». У 2003 році Державний фармакологічний комітет схвалив фенілпірацетам як рецептурний препарат для лікування цереброваскулярної недостатності, депресії, апатії, зниження уваги та пам'яті, а також рекомендований космонавтам для підвищення фізичної та розумової/когнітивної активності в космосі [7]. Леветирацетам був спочатку схвалений у США в 1999 році як допоміжна терапія парціальних нападів у дорослих і дітей віком від ≥ 4 років, а також для дорослих і підлітків з міоклонічною епілепсією. Європейське агентство з лікарських засобів нещодавно схвалило його як монотерапію парціальних нападів і як додаткову терапію тоніко-клонічних нападів. За винятком леветирацетаму, ці продукти не зареєстровані як етичні ліки в США.

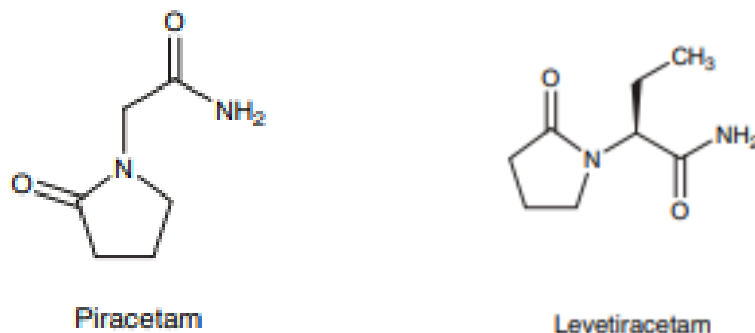


Рис. 1.1. Хімічні структури Пірацетаму та Леветірацетаму

Фармакологія препаратів, пов'язаних із пірацетамом, досліджена менше, ніж клінічне застосування цих препаратів, і її ще належить з'ясувати. Ці сполуки взаємодіють з цільовими рецепторами в мозку та модулюють процеси збудження та/або гальмування нейромедіаторів, нейрогормонів та/або постсинаптичних сигналів. Впливи на передачу сигналів може вплинути на пізнання та неврологічну поведінку. Кілька груп припустили роль пірацетаму в енергетичному метаболізмі, включаючи збільшення використання кисню в мозку та проникність клітинних і мітохондріальних мембран для посередників циклу Кребса; [8,9] та синтез цитохром b5 [10]. Ці дії, можливо, є подальшими наслідками пірацетаму на іонні канали та/або транспортери іонів у нейронах. Подібність його хімічної структури до циклічної похідної ГАМК дозволяє припустити, що пірацетам, ймовірно, має ГАМК-міметичну дію [11]. На сьогоднішній день цей механізм залишається незрозумілим. Інші припускають, що він функціонує як антиоксидант/нейротонік [12,13] і підвищує щільність рецептора ацетилхоліну [14]. Порівняльні та переконливі дані для цих потенційних функцій недоступні. Також незрозуміло, як пірацетам дає широкі клінічні переваги завдяки цим діям. Через відмінності між похідними пірацетаму мало ймовірно, що всі ці препарати діятимуть подібним чином, використовуватимуть той самий тип клітин або цільовий препарат. З цього приводу їхня фармакокінетика, кінетика розпаду, метаболітів і навіть властивості ADMET (адсорбція, розподіл, метаболізм, виведення та токсичність) можуть змінюватися. Ці варіації можуть бути досить

глибокими, якщо дослідження використовують різні тестові системи. Варто очікувати, що сполуки з «мінімальними» змінами в їхніх хімічних структурах мають однаковий механізм дії, такий як зв'язування або модуляція селективної підгрупи рецепторів нейромедіаторів.

Наступні гіпотези зосереджені на модуляції іонотропних, керованих лігандами та залежних від напруги іонних каналів, таких як $[Na^+/Ca^{2+}]/K^+$ обмінні насоси в клітинних мембранах нейронів або нервово-м'язових з'єднаннях. Агенти пірацетам, оксирацетам і анірацетам активують глутаматні рецептори аміно-3-гідрокси-5-метилізоксазол-4-пропіонату (AMPA) або NMDA-рецептори в нейронних культурах. Ця дія збільшує щільність сайтів зв'язування рецепторів для AMPA та поглинання кальцію [15], імовірно, що призводить до підвищення внутрішньоклітинного кальцію ($[Ca^{2+}]$).

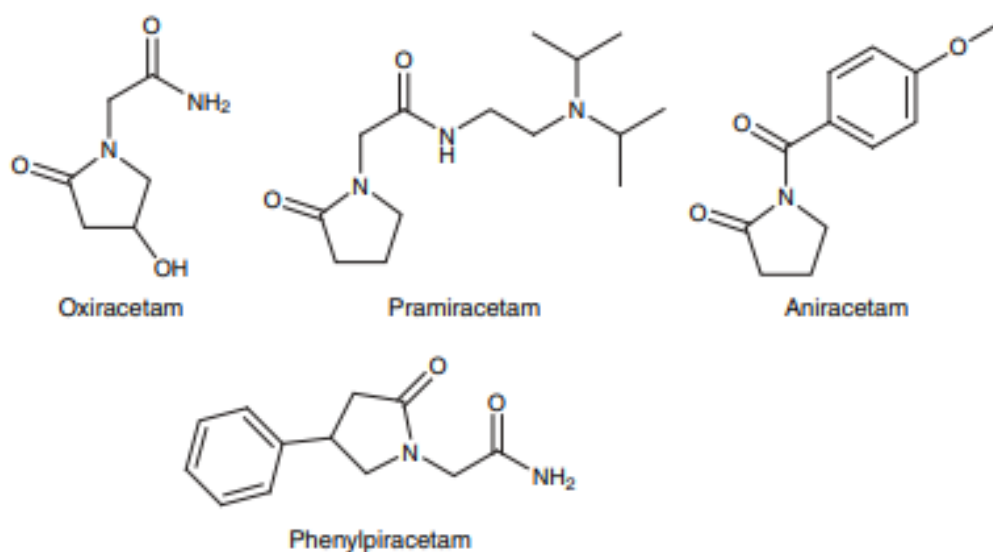


Рис. 1.2. Хімічні структури пірацетам подібних сполук

Прамірацетам збільшує швидкість натрій-залежного високоафінного поглинання холіну в синаптосомах гіпокампа щурів *in vitro*, що свідчить про те, що його вплив на когнітивні функції може відбуватися через прискорення потоку холінергічних нейронних імпульсів у септально-гіпокампальній області [16]. Спорідненість фенілпірацетаму з нікотинним рецептором ацетилхоліну (nACh), але не з підтипом глутамату NMDA, була

продемонстрована в експериментах зі зв'язування ліганду *in vitro*. Однак ін'єкція цього препарату (100 мг/кг, внутрішньоочеревинна) щурам збільшує кількість як nACh, так і NMDA-рецепторів, але знижує серотонінові та дофамінові рецептори в тканині мозку [17]. Для деяких препаратів останні дані стверджують, що леветирацетам, ймовірно, діє через альтернативний механізм своєї протиепілептичної активності. У діапазоні терапевтичних доз спочатку було показано, що він зменшує надходження іонів у AMPA- та каїніт-індукованих струмах у культивованих нейронах кори [18]. На відміну від інших ноотропів групи рацетамів, леветирацетам, очевидно, інгібує нейрональні іонні канали Ca^{2+} , які, можливо, важливі для його протиепілептичного ефекту [19-21]. В іншому експерименті з використанням моделі судом у мишей пізніше було продемонстровано, що він зв'язується із синаптичними везикулами, а саме пептидом 2A (SV2A) у мембранах мозку та фібробластах. Дані корелювали з клінічним застосуванням леветирацетаму як протиепілептичного препарату [21] (рис.1.2).

Бриварацетам і селетрацетам (рис.1.3), хімічні сполуки нового покоління після леветирацетаму, зв'язуються з SV2A з вищою спорідненістю та наразі клінічно оцінюються щодо їхніх протиепілептичних властивостей [22, 23].

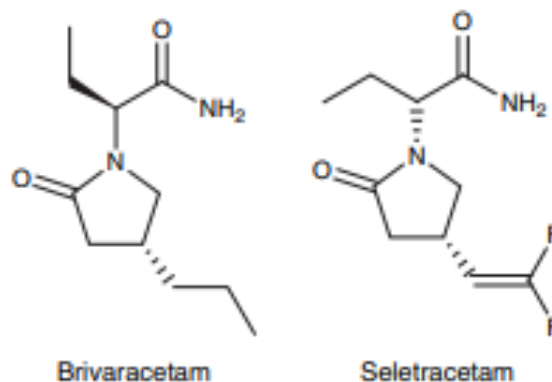


Рис. 1.3. Хімічні структури Бриварацетаму та Селетрацетаму

Неясно, чи ці препарати впливають на інші фізіологічні (непатологічні) ролі SV2A або порушують нормальний гомеостаз кальцію в різних областях мозку. Малоімовірно, що тільки один механізм дії працює *in vivo*, що

забезпечує селективну фармакологічну перевагу цим препаратом, враховуючи близькість їхніх молекулярних структур та фармакодинамічних властивостей. Це твердження особливо стосується сполук, які вказують на більш значні відмінності в їхніх хімічних структурах, ніж більшість інших похідних.

Нефірацетам (рис. 1.4), очевидно, потенціює рецептори NMDA. У культивованих коркових нейронах щурів ця дія відбувається опосередковано через активацію протеїнкінази С (PKC) і фосфорилування однієї з субодиниць гетеротетрамерного рецептора NMDA (NR1). Це, у свою чергу, посилює зв'язування гліцину з NMDA і усуває пригнічення залежних від напруги струмів, спричинених іонами Mg^{2+} [24]. Втрата іонів Mg^{2+} може відкрити ворота і дозволити Ca^{2+} надходити в цитозоль. Ця деполяризація може викликати чистий позитивний або негативний ефект, як обговорювалося раніше. Крім того, попередні суперечливі результати щодо потенціювання нефірацетамом рецепторів nACh типу $\alpha 4\beta 2$ у різних місцях, можливо, узгоджені, враховуючи, що різні ізоферменти PKC були задіяні в різних тканинах [24]. З іншого боку, він імовірно значною мірою взаємодіє з ліганд-керованим рецептором NMDA. Це дає змогу препарату пригнічувати (потенційно летальний) надмірний $[Ca^{2+}]$ через канали NMDA та, меншою мірою, через напруго залежні канали [25, 26].

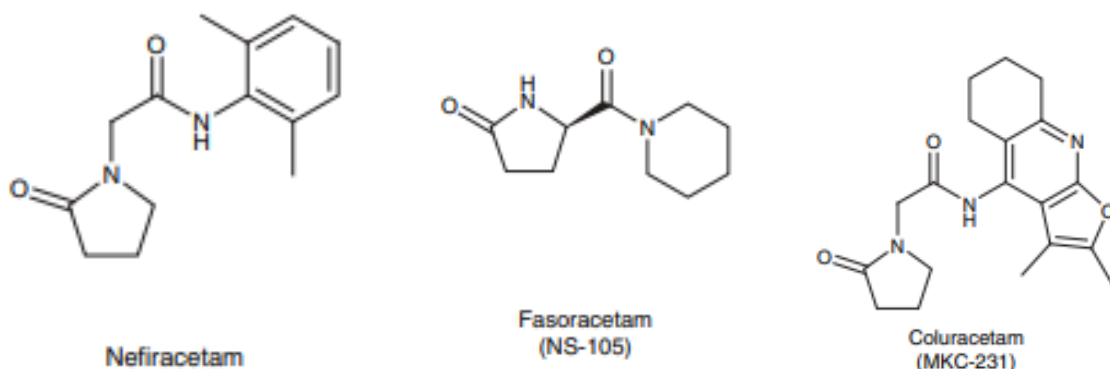


Рис. 1.4. Хімічні структури Нефірацетаму Фазорацетаму та Колурацетаму

Фазорацетам (рис. 1.4) модулює підкласи метаботропних глутаматних рецепторів (mGluR), які є (позитивно і негативно) з'єднані з рецепторним комплексом G-білка, тим самим стимулюючи (або пригнічуючи) утворення аденілатциклази або циклічного аденозинмонофосфату (цАМФ), що бере участь у різноманітних процесах передачі сигналу, таких як навчання та пам'ять. Його роль була найбільш очевидною у пом'якшенні дефіциту навчання та пам'яті, спричиненого одним із найпотужніших ГАМК-міметиків, баклофеном, у щурів [27, 28]. Крім того, повторне введення дози фазорацетаму посилювало регуляцію рецепторів GA B_{AB}, і це було пов'язано з його багатообіцяючою антидепресивною дією у щурів [29].

Колурацетам (рис. 1.4) функціонує зовсім по-іншому, тобто через передачу високоафінних транспортерів холіну [30] та посилення захоплення холіну в синапсосомах гіпокампу, таким чином полегшуючи синтез, вивільнення та доступність ацетилхоліну [31]. Взаємозв'язки між цими різноманітними складними процесами було б важко розібрати. Ці різні механізми, що перекриваються, можуть призводити до адитивних, синергічних або антагоністичних ефектів, якщо в певний час вводиться більше ніж один із цих препаратів.

Пірацетам вперше був схвалений у Європі на початку 1970-х років для лікування запаморочення та вікових розладів. У останніх і триваючих дослідженнях використовували зростаючі або різні високі дози залежно від показань [32]. Побічні ефекти, хоча й рідкісні, легкі та тимчасові, включають тривогу, безсоння, сонливість і збудження [32]. За останнє десятиліття було опубліковано більше 20 оглядових статей, які показують, результати клінічних досліджень і застосування пірацетаму при різноманітних неврологічних розладах. Мета-аналіз 19 подвійних сліпих плацебо-контрольованих досліджень, проведених між 1972 і 2001 роками щодо застосування пірацетаму при вікових психічних розладах, підтвердив, що в осіб, які отримували пірацетам, покращилося на 60,9% порівняно з 32,5% у плацебо, причому загальна кількість, необхідна для лікування, тобто

приблизно чотири людини повинні були отримати пірацетам, щоб отримати користь від однієї особи. З того часу було проведено кілька нових випробувань. Пірацетам приніс користь більшості пацієнтів із короткочасною пам'яттю/когнітивним погіршенням, спричиненою церебральною ішемією, після операції серцевого шунтування [34]. Нові дані підтверджують нейропротекторний ефект пірацетаму при такому призначенні [33]. У відповідності з цим, дослідження показало, що з багатьох різних тестів, пов'язаних із зорово-моторними обстеженнями, лише здатність розпізнавати та зміщувати цифри та літери (так зване «слідування») була значно покращено, [35] і результат був досить значним. Ці незалежні дослідження показали, що пірацетам є нейропротекторним. Слід зазначити, що, хоча лікування пірацетамом пацієнтів із хронічними цереброваскулярними розладами показало лише помірне покращення пам'яті, воно значно пом'якшило депресію [36]. Такі показники покращення в широкому діапазоні вікових груп із різним походженням цереброваскулярних розладів були порівнянними [37]. Проте при черепно-мозковій травмі підлітків показники реакції пам'яті та уваги, вони були збільшені приблизно до 60% [38]. Ці дослідження показують, що пірацетам є більш ефективним у останніх напрямках. Пірацетам разом з судинорозширювальним препаратом циннаризином (антагоніст кальцієвих каналів) як комбінований продукт (Фезам) помірно покращили різні когнітивні здібності, такі як активність/настрій, у пацієнтів з розсіяним склерозом (РС) з імовірно «триваючими» енцефалопатіями. Однак виявилось, що це меншою мірою принесло користь пацієнтам без РС із церебральними (посттравматичними) хронічними ураженнями. Найбільш спостережуваною побічною дією (ПД) було легке порушення сну [39]. Незважаючи на те, що випробування віддавали перевагу пацієнтам з РС, суб'єктивність показників результатів (за повідомленнями пацієнтів) ускладнює оцінку цих невеликих клінічних досліджень. Виходячи з обґрунтування того, що глутаматергічний дефіцит може бути основною

причиною аутизму, досліджуване використання пірацетаму як додаткової терапії до антипсихотика рисперидону у дітей з аутизмом призвело до помітного покращення незвичної поведінки та було ефективнішим, ніж моно терапія рисперидоном, без очевидного збільшення побічних ефектів [40]. Позитивна динаміка почалася на 2-му тижні та тривала до закінчення випробування на 10-му тижні, але найбільша різниця становила лише для одного стандартного відхилення. Випробування було б корисним для визначення ступеня довгострокової користі. Застосування пірацетаму за декількома іншими розширеними показаннями не продемонструвало сприятливого ефекту, включно з літніми людьми з легкими когнітивними порушеннями, у яких підозрювали розвиток деменції, [41] електро судомна терапія викликала когнітивні розлади у пацієнтів із шизофренією або пацієнтів із депресією [42]. Крім того, він не покращив когнітивні функції у дітей із синдромом Дауна [43], а ні у людей, які утримувалися від кокаїну, хоча з невідомих причин він напрочуд посилив кокаїнову залежність [44].

Пірацетам як додаткова терапія до вальпроату або їх комбінація з клоназепамом суттєво покращує індекс моторних порушень у пацієнтів з епілепсією. У цьому структурованому протоколі зростаюча доза вводилася тій самій групі лікування, починаючи з низької дози з поступовим збільшенням кожні 4 дні. При пізній дискінезії, яка може виникнути як несприятливий ефект звичайних антипсихотичних препаратів, таких як хлорпромазин, приблизно 67% пацієнтів, які отримували пірацетам, дали сприятливу відповідь із піком ефективності на 4-му тижні порівняно з 24% у групі плацебо; однак покращення симптомів погіршилося після припинення терапії [45]. Дослідники заявили, що для визначення ефективності пірацетаму за цим показанням необхідні великі добре контрольовані дослідження.

Пірацетам помірно сприяв порушенням постави та ходи, але не кінетичним функціям, мовним та окоруховим розладам у пацієнтів із едичійною атаксією [46]. Препарат був безпечним, але дослідження занадто

мало, щоб визначити його реальний профіль користі та ризику при атаксії. Також залишається визначити, чи буде пірацетам або його похідне ефективним при не спадковій атаксії.

Мета-аналіз досліджень на моделях інсульту або ішемії головного мозку у щурів підтверджує потенційну ефективність пірацетаму. Рецензенти попередили, що результати були опубліковані принаймні через 10 років після клінічних випробувань і що кількість надійних досліджень занадто мала (шість статей), щоб зробити надійний висновок, і повторили, що пірацетам, але не оксирацетам і леветирацетам, зменшив обсяг інфаркту на майже 50%. Вони також відзначили, що ці дані узгоджуються з ретроспективним клінічним висновком «якщо пірацетам буде введений незабаром після початку інсульту, він може мати сприятливий ефект», і «провал клінічних випробувань пірацетаму не можна сприймати як невдача моделювання інсульту на тваринах». У попередньому огляді було зазначено, що пірацетам ефективний у пацієнтів із передбачуваним ішемічним інсультом, хоча інші потенційні корисні ефекти пірацетаму залишаються неясними через достатньо добре контрольовані дослідження. [47] Надійність даних, отриманих за допомогою моделювання інсульту у щурів, і їх релевантність для людей сумнівні. Негативний результат клінічних випробувань ґрунтувався на оцінці рівня виживання як кінцевої точки, а не на розмірі інфаркту. Відповідно до цього, пірацетам сприяв відновленню вербальних навичок у пацієнтів з інсультом і афазією (підтверджено нейровізуалізаційними тестами), але він не зміг покращити зорову пам'ять і пам'ять розпізнавання, а також когнітивні функції, такі як міркування [48].

Vision Piracetam також покращив розрізнення кольорів у пацієнтів (віком 19–24 роки), які перенесли черепно-мозкові травми різного ступеня тяжкості. У цьому подвійному сліпому дослідженні пацієнтів розділили на три групи: (I) десять осіб із легким струсом мозку; (II) вісім із легким струсом мозку; і (III) четверо зі змішаним рівнем струсу мозку, які отримували плацебо. Функціональна активність сітківки ока оцінювалася

шляхом вимірювання порогів світлочутливості (BST) до чотирьох кольорів (синій, зелений, червоний і білий; ахроматичний). Показники BST суттєво знизилися в групі досліджуваного препарату (синій 36% і 25%; зелений 20% і 17%; червоний 18% і 16%; білий 31% і 24%, відповідно), але не в плацебо, що свідчить про порушення сприйняття кольору [49].

Дослідники вважали, що пірацетам покращує мікроциркуляцію сітківки і, ймовірно, діє як ГАМК-міметик, оскільки ГАМК також присутній у сітківці. Застосування Фезаму для лікування сеніальної дегенерації жовтої плями значно покращило гостроту зору, хоча й досить мінливо (50–30%), у 76% очей, і це було пов'язано з вазо активною дією цинаризину та нейротонічним ефектом пірацетаму [50].

Із заміщенням гідроксильної групи в оксопіролідоновому ядрі оксирацетам демонструє сприятливий фармакокінетичний профіль і біодоступність при пероральному застосуванні. У подвійному сліпому дослідженні на 12 здорових добровольцях він залежно від дози пом'якшував спричинене скополаміном погіршення нейропсихологічної діяльності (наприклад, семантичної пам'яті, тестів на запам'ятовування слів, читання). Відповідно до цього, його застосування протягом 2–6 місяців у людей старше 65 років покращило певні їхні когнітивні дефіцити неспецифічної етіології [51-52]. Однак це не принесло користі пацієнтам із хворобою Альцгеймера, хоча тривалість лікування становила лише 1 місяць [53]. Жодних побічних явищ не було відзначено.

Отриманий заміщенням аміду пірацетаму дипропан-2-іл-аміноетиловою групою, прамірацетам демонструє чудову біодоступність при пероральному прийомі та змінний період напіврозпаду. Він є більш потужним і тому використовується в менших дозах, ніж пірацетам [54]. Єдине дослідження, проведене в США, було за участю чотирьох молодих чоловіків, які мали когнітивні проблеми після травми голови. Це значно покращило деякі види пам'яті, особливо відстрочене пригадування (30–50%) протягом 18 місяців терапії та 1 місяця спостереження [55]. Однак результати

тестів були дуже різними. Пізніше італійські дослідники продемонстрували зменшення індукованих скополаміном амнестичних ефектів у здорових добровольців, тобто два з п'яти когнітивних параметрів (включаючи тести на негайне та відстрочене словесне пригадування) були приблизно на 50% кращі, ніж у тих, хто отримував плацебо, під час тестування після ін'єкції скополаміну [56]. В Україні було проведено два невеликих дослідження: одне у пацієнтів із цереброваскулярними захворюваннями [57] та інше у пацієнтів зі струсом мозку [58]. У першому дослідженні стверджується, що зорові та вербальні спогади помірно покращилися у молодших пацієнтів із хронічними цереброваскулярними та постінсультними когнітивними симптомами та меншою мірою у літніх пацієнтів. Дані другого дослідження показують, що прамірацетам був більш ефективним, ніж пірацетам, у відновленні втрати пам'яті, дезорієнтації у пацієнтів із легкою черепно-мозковою травмою [58].

Модифіковане похідне N-бічного ланцюга, анірацетам має низьку біодоступність у плазмі та швидко виводиться у тварин [59]. З огляду на питання лікування людей похилого віку з нирковою дисфункцією, його фармакокінетику та долю метаболітів оцінювали у шести жінок (середній вік 84,5 років) із цереброваскулярними захворюваннями. Період напіврозпаду його основних метаболітів (анісової кислоти, п-метоксигіпурової кислоти, 2-піролідону та сукциніміду) збільшився в 4-7 разів порівняно з таким у молодих добровольців (0,79-1,58 години). Не було помічено жодних побічних ефектів. Він покращив психометричні параметри до 30% у літніх пацієнтів порівняно з плацебо, причому легкі побічні ефекти, очевидно, не були пов'язані з анірацетамом [60]. В іншому невеликому дослідженні за участю пацієнтів похилого віку з невеликими та помірними судинними церебральними патологіями, як повідомляється, було корисним [61]. Однак анірацетам не був ефективним у людей з порушеннями пам'яті та когнітивних функцій, пов'язаними з хронічним впливом небезпечних органічних розчинників [62].

Фенільне похідне пірацетаму, фенотропіл швидко всмоктується та демонструє високу біодоступність при пероральному прийомі. Дослідження на гризунах (100 мг/кг, внутрішньо м'язово, перорально) показали час абсорбції (400 мг/день) у поєднанні з полівітамінами та фізіотерапією [63-64]. Незрозуміло, чи який-небудь конкретний пацієнт не реагував на терапію або рецидиву вав після терапії. Фенілпірацетам виявляв протиепілептичну дію у гризунів. Його ефективна доза (300 мг/кг) на 50% зменшила судомний напад, спричинений метрозолом (препарат, який використовується як стимулятор кровообігу та дихання). Фенілпірацетам призначався пацієнтам на додаток до одного стандартного протиепілептичного препарату (включаючи вальпроїламід, карбамазепін, ламотриджин, топірамат або барбітурат або структуровану полі терапію більш ніж одним із цих препаратів). Відповідно до цього, когнітивні функції пацієнтів з епілепсією на основі тесту MSE покращилися лише незначною мірою [65]. Ці випробування віддавали перевагу фенілпірацетаму як додатковому лікуванню епілепсії. Оскільки імунна система відіграє вирішальну роль у патогенезі ішемічного інсульту, у пацієнтів із гострим церебральним інсультом, які отримували фенілпірацетам, вимірювали титри антитіл проти основного білка мієліну та фосфоліпідів. Титри обох антитіл знизилися, що свідчить про можливе зниження поточної де мієлінізації [66]. У паралельному дослідженні з двома групами пацієнтів, які отримували одну таблетку (80 осіб) та дві таблетки (40 осіб) на день, показники MSE та тяжкості інсульту значно покращилися, але виявилася лише тенденція до покращення повсякденної діяльності (тест Бартелла) [67]. Аналіз підгрупи цих даних може бути корисним, але в цілому терапія виглядає помірно корисною.

Причиною сліпоти при глаукомі є невропатія зорового нерва та апоптоз клітин гангліїв. Використання нейропротекторного агента для затримки або запобігання смерті гангліальних клітин було обґрунтованим нещодавнього дослідження. Фенілпірацетам призначали пацієнтам із нестабільною відкрито

кутовою глаукомою після нормалізації очного тиску за допомогою очної гіпотензивної терапії та лазерної пластики. Середня кількість сліпих плям або островців втрати або порушення гостроти зору зменшилася, а глаукома стабілізувалася у 80% пацієнтів під час 6-місячного спостереження [68]. Передчасно робити висновок, чи випробування надає перевагу фенілпірацетаму через відсутність перспективного плацебо-контролю та можливі змінні, такі як гетерогенність пацієнтів на початку дослідження.

Леветирацетам є гомологом пірацетаму другого покоління із заміщенням бічного ланцюга на етильний, який має сприятливий фармакокінетичний профіль і профіль безпеки [69], і є єдиним дозволеним препаратом у цій підгрупі. Інші нещодавні огляди поставили під сумнів безпеку леветирацетаму через його потенційний негативний вплив на міцність і формування кісток [70], а також на поведінку чи настрій [71]. Проте він покращив пам'ять і когнітивні функції у пацієнтів із рефрактерними парціальними нападами [72] та мовними дис. функціями у дітей із доброякісними нападами [73] у невеликому контрольованому дослідженні та у відкритому дослідженні відповідно. Ретроспективний аналіз [74] і неконтрольовані випробування за участю пацієнтів як без епілепсії [75], так і з епілепсією [76] з тривогою та/або депресією показали, що леветирацетам певною мірою ефективний. Ці результати можуть свідчити про те, що леветирацетам стимулює певну поведінку та гальмує інші функції. Однак його сприятливий ефект (як монотерапії) при інших показаннях, таких як аутизм, є суперечливим. На відміну від попереднього звіту, це не пригнічувало поведінкових розладів у дітей аутистів [77]. Як монотерапія він був неефективним для лікування настрою та когнітивних розладів, спричинених кортикостероїдами [78].

4-*N*-пропіл-гомолог бріварацетам і дифторетенільоване похідне селетрацетам (препарати наступного покоління після леветирацетаму) нещодавно приписували потенційно вищу протиепілептичну дію на основі скринінгу препаратів *in vitro* та тестів на тваринах [79]. Вища ефективність і,

очевидно, загальні механізми дії, продемонстровані як для бриварацетама, так і для селетрацетама, частково узгоджуються з клінічними результатами. Обидва показали багатообіцяючі, хоча й менші, ніж очікувалося, переваги у фазі випробувань II [80]. Бриварацетам був безпечним для здорових добровольців. Після перорального прийому він швидко всмоктується, досягаючи максимальної концентрації в плазмі через 0,5–1 годин, а період напіввиведення становить 7–8 годин. Найпоширенішими побічними ефектами (від легкого до середнього ступеня тяжкості) були сонливість і запаморочення (подібно до леветирацетама), особливо при застосуванні високих доз. Це спричинило зменшення частоти нападів у 55% пацієнтів і усунення судом приблизно у 8 пацієнтів [81]. Бриварацетам як допоміжна терапія добре переносився рефрактерними парціальними нападами у дорослих [82], хоча він не зменшив частоту нападів протягом 7 тижнів лікування [83]. Хоча обидва препарати можуть бути не гіршими леветирацетама, здається, що існує певний рівень невизначеності щодо продовження деяких випробувань. Схоже, що розробка бриварацетама для лікування епілепсії, хвороби Унверіхта-Ландборга та нервового болю триває, але розробка селетрацетама, здається, призупинена [84].

Нефірацетам розробляється для лікування деменції. Він потенціював нікотинові рецептори ацетилхоліну в первинній культурі кортикальних нейронів щурів у дуже низьких концентраціях (0,1–1 нмоль/л); таким чином, він є дуже потужним [85]. У людей його концентрація в крові досягала максимуму через 2 години з періодом напіврозпаду 3–5 годин. Випробування II фази нефірацетама для пацієнтів з деменцією завершено, але результати не опубліковані. Крім того, нефірацетаму не вдалося продемонструвати ефективність у 12-тижневому дослідженні когнітивного дефіциту у пацієнтів із великою депресією після інсульту. Подальший аналіз показав помітне покращення апатії в субпопуляції тих самих осіб. Чи буде цей препарат у поєднанні з іншими агентами більш ефективним при тих чи інших показаннях, не вивчено.

Небрацетам (рис. 1.5) (WEB 1881 FU) є холінергічним засобом, який переважно вивчався в Японії з кінця 1980-х років. У тварин він мав нейропротекторну дію, можливо, через посилення як холінергічних, так і лімбічних норадренергічних функцій гіпокампу. Гістологічні дані показали, що він захищає від уповільненої ішемічної смерті нейрональних клітин у гіпокампі щурів, схильних до інсульту. У Німеччині були проведені клінічні випробування на здорових добровольцях, щоб визначити, чи впливає це на пов'язані з діями церебральні потенціали [86] та візуальну просторову увагу [87]. Обидва дослідження не виявили істотного впливу на продуктивність пам'яті. Тим не менш, невелике дослідження за участю дев'яти пацієнтів продемонструвало багатообіцяюче покращення деменції [88-89].

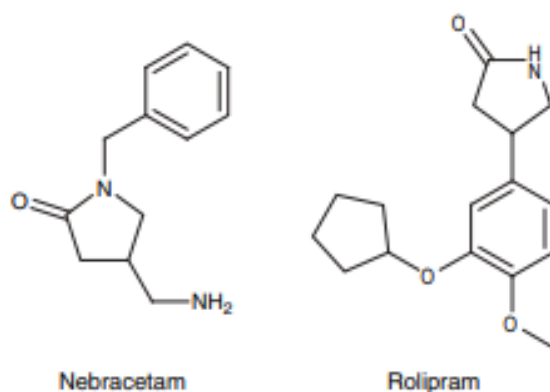


Рис. 1.5. Хімічні структури Небрацетаму та Роліпраму

Аналог роліпрам (рис. 1.5), аналог пірацетаму, пригнічує фосфодіестеразу типу 4 (ФДЕ4). Він має хорошу біодоступність і короткий період напіврозпаду і, очевидно, був безпечним у діапазоні доз 0,75–3 мг/добу для людей. Його перевіряли як антидепресант у кількох клінічних випробуваннях, але він був не кращим за наявні препарати, такі як амітриптилін [88, 89] та іміпрамін [90, 91]. Його типовим побічним ефектом була нудота, яка, імовірно, скомпрометувала його використання як антидепресанту. Нейропротекторний ефект роліпраму був очевидним у культурі клітин і тварин. Цікаво, що він сприяв регенерації аксонів [92] і індукував відновлення діафрагмального нерва після травми шийного відділу спинного мозку у щурів [93]. Ці висновки підтверджують його потенційне

використання для подібних станів у людей. Проте роліпрам не зміг зменшити запалення в мозку пацієнтів із розсіяним склерозом і навіть продемонстрував підвищену активність запалення. Нещодавно було розпочато інше клінічне випробування з вивчення кореляції між депресією та модуляцією рівнів цАМФ специфічної PDE4. Також триває додаткове дослідження потенційного клінічного застосування роліпраму, яке передбачає лікування дефіциту пам'яті та навчання після церебральної ішемії, спричиненої емболією [94].

Фазорацетам (NS 105, LAM 105) є відносно новим препаратом-кандидатом, який має потенціал як підсилювач когнітивних функцій. Він швидко всмоктується після перорального введення у щурів (максимальна концентрація досягається через 0,5 години), рівномірно розподіляється [95] і виділяється переважно в незміненому вигляді нирками. Біодоступність у щурів, собак і мавп становила 97%, 90% і 79%, з періодом напіврозпаду 0,91, 2,8 і 1,3 години відповідно. Для виведення цього препарату у людей похилого віку потрібно трохи більше часу (період напіврозпаду = 5,17 години), ніж у молодих людей (4,45 години), що може обмежити його корисність, особливо якщо він спричиняє тривалу несприятливу взаємодію з ліками. Його безпека та ефективність ще не визначені.

Сучасна тенденція досліджень більше спрямована на тестування пірацетаму та пірацетам-подібних сполук для нових показань. Ефективність цих препаратів за більшістю показань виглядає багатообіцяючою, хоча більшість досліджень є непереконливими, і потрібні добре контрольовані дослідження. Їх потенційні нейропротекторні та нейрорегенеративні ефекти найменш вивчені. Від низької до помірної активності більшості цих активних агентів і відсутність цільової специфіки, можливо, сприяли частковій їх неоптимальній ефективності. На відміну від більшості ГАМК-міметиків, пірацетам і деякі пірацетамподібні препарати є відносно безпечними, достатньо динамічними та гнучкими, щоб розвиватися для різних показань. Довгострокові наслідки та потенційні ризики, пов'язані із застосуванням цих

препаратів не за призначенням, невідомі. Механізми їх дії також недостатньо вивчені. Важко виключити потенційні упередження в дизайні, моделюванні захворювання та інтерпретації показників результатів для розширених випробувань, особливо після виявлення ефективності певного препарату. Удосконалення дизайну хімічних речовин нового покоління може призвести до кращої клінічної ефективності.

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1

1. Систематизовано, проаналізовано та узагальнено літературні дані щодо сучасних досліджень пірацетаму та пірацетам-подібних сполук для нових показань.
2. Встановлені потенційні упередження в дизайні, моделюванні захворювання та інтерпретації показників результатів для розширених випробувань, особливо після виявлення ефективності певного препарату.
3. Узагальнюючи дані наукових досліджень встановлено, що удосконалення дизайну хімічних речовин нового покоління може призвести до кращої клінічної ефективності.

РОЗДІЛ 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ТА АРГУМЕНТАЦІЯ ВИБОРУ ОБ'ЄКТІВ І МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.

2.1. Об'єкти досліджень, характеристика структур.

З метою оптимізації пошуку нових ноотропних молекул нами була обрана базова речовина 1-бензил-4-піролідин-2-он. Такий вибір був обумовлений структурною подібністю з відомими ноотропами. Для досягнення біосинергізму доцільно провести хімічну модифікацію 1-бензил-4-піролідин-2-ону з іншим фармакофорним угруповуванням. Для такої модифікації були обрані заміщені 5-тіо-1,2,4-тріазольні похідні. Похідні 1,2,4-тріазолу є малотоксичними, високо реакційно здатними речовинами, що дозволяє легко їх поєднувати в одній структурі з іншими фармакофорними фрагментами. Більшість похідних цього ряду володіють високою фармакологічною активністю, мають високий афінитет до різних біологічних мішеней. За допомогою програми Marvin Sketch 20.5. були згенеровані 4 молекули для подальших докінгових досліджень. Введення в базову структуру 5-тіо-1,2,4-тріазольного каркасу, який має неподілені електронні пари, сприяти утворенню водневих зв'язків з атомами Гідрогену відповідного пептиду. Насичення тріазольного каркасу, положення C1 та C4, ароматичних та гетероциклічних фрагментів, можуть вплинути на підвищення активності. Введення додаткових замісників різної електронної природи додатково можуть вплинути на утворення стабілізаційних контактів.

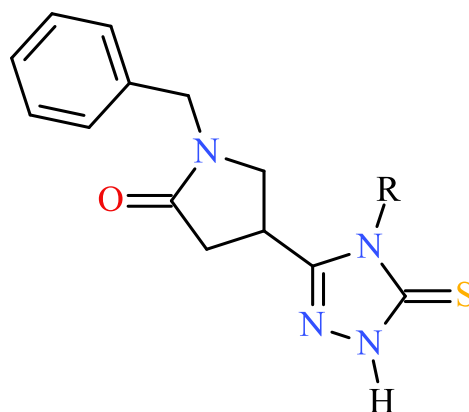
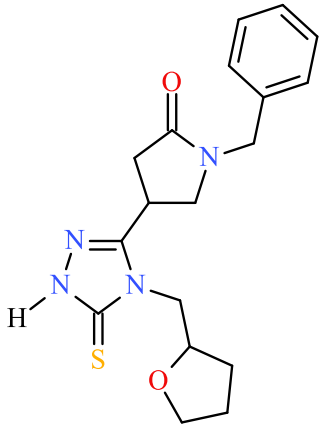
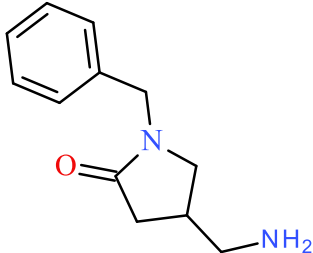


Рис. 2.1 Загальна формула цільових сполук

Таблиця 2.1. Структури генерованих похідних

	<p>1-бензил-4-{5-сульфаніліден-4-[(тіофен-2-іл)метил]-4,5-дигідро-1<i>H</i>-1,2,4-тріазол-3-іл}пірролідин-2-он (1)</p>
	<p>1-бензил-4-{5-сульфаніліден-4-[4-(3,4-диметоксифеніл)-4,5-дигідро-1<i>H</i>-1,2,4-тріазол-3-іл}пірролідин-2-он (2)</p>
	<p>1-бензил-4-{5-сульфаніліден-4-[4-(2-хлорфеніл)метил]-4,5-дигідро-1<i>H</i>-1,2,4-тріазол-3-іл}пірролідин-2-он (3)</p>

	<p>1-бензил-4-{5-сульфаніліден-4-[(оксолан-2-іл)метил]-4,5-дигідро-1<i>H</i>-1,2,4-тріазол-3-іл}пірролідин-2-он (4)</p>
	<p>Небрацетам</p>

2.2. Молекулярний докінг як перспективний напрямок молекулярного моделювання.

В даний час методи молекулярного моделювання вкрай популярні у науковому середовищі та в індустрії. Плюсів у них багато: доступність програм, високий обчислювальний потенціал, можливість роботи з великим масивом даних і в багатьох випадках не поступається експериментам точність передбачення. Але є й мінуси: обмеженість рамками біологічного експерименту та спекулятивність результатів (особливо при неадекватному застосуванні методик та підходів).

Процедура обчислювального чи параметричного аналізу об'єктів (практично будь-яких) з метою відбору або профілювання їх за заданими властивостям називається скринінгом. У побуті ми часто стикаємося з таким процесом, навіть не замислюючись. Яскравим прикладом може бути пошук

літератури в електронних бібліотеках: ми шукаємо фантастику, пост апокаліпсис, твори зарубіжних авторів, виключно про пострадянський простір тощо. В результаті з кожним запитом ми звужуємо область аналізованих об'єктів (у разі книг). Це і є метод покрокової пріоритезації, де з кожним кроком ми вводимо все більш специфічні набори параметрів, тим самим звужуючи область пошуку. Підсумком такої роботи, як правило, є обмежений набір елементів (книг, структур або людей) з параметрами, в максимальній ступеня, що відповідають нашим запитам. Така вибірка називається максимально збагаченим або хіт-листом.

У дизайні нових фармакологічно активних речовин, як правило, це список хімічних речовин сполук, рекомендованих для експериментальної оцінки їх біологічної активності щодо модуляції конкретного патологічного процесу, асоційованого із захворюванням. Процедура, що дозволяє оцінити рівень компліментарності молекулярної структури у відповідній активній порожнині молекулярної мішені, що відповідає за ті чи інші функції. Результатом докінгу є кількісна оцінка якості заповнення активного сайту, енергії спорідненості до даного сайту, категорювання ключових фрагментів молекулярної структури, які відповідають за молекулярне розпізнавання сайту зв'язування.

Як будь-яка наукова робота процедура віртуального скринінгу хімічних сполук вимагає наявності гідної матеріально-технічної бази та наукового потенціалу за тематикою проекту. Для нормальної роботи потрібні чотири основні компоненти, які дозволять сформувати єдиний вектор повноцінного наукового дослідження:

- навички володіння методологіями наукових досліджень;
- програмне забезпечення;
- обчислювальні ресурси;
- інформація про мішені, модуляцію її активності, актуальності та медичного значення.

Для усвідомленої роботи в галузі структурної біології та

молекулярного моделювання (як і в інших областях) необхідно уявляти, на яких фізичних принципах засновані інструменти і методи молекулярного моделювання, а також орієнтуватися в математичних викладках, що лежать в основі прикладних алгоритмів програмного забезпечення. Без цих знань неможливо осмислено проводити обчислення, підбираючи параметри та групи параметрів, а також аналізувати отримані результати. Весь процес конверсії молекулярних структур у код, який може інтерпретуватися машиною, дуже складне завдання, яке вирішувалася протягом десятиліть. Вся складність поставленого завдання полягає в мультипараметричності аналізованих систем. Причому що вище рівень організації, то більше вписувалося параметрів, які необхідно параметризувати, вивчити їхній внесок у структуру, активність, оцінити їхній взаємозв'язок.

З одного боку, врахування всіх можливих параметрів у моделюванні - це велика проблема, яка призводить до того, що дослідник отримує результати з певною часткою наближення, тобто. тільки з певним рівнем достовірності, який залежить від обчислювальних методів, підходів, навичок дослідника, та часто – інтуїції. Однак використання різного роду наближень є одночасно і перевагою методів молекулярного моделювання. Варто мати на увазі, що чим більше параметрів у системі, тим складніше її математичний апарат. Прикладом можуть бути квантово-хімічні розрахунки, де на основі теорії функціоналу густини (density functional theory, скорочено DFT) проводиться розрахунок характеристик молекулярних структур, їх властивостей, реакційної спроможності тощо. Як слідство, ми маємо великий набір математичних функцій, які складні для обчислення, що виливається у підвищенні вимог до ресурсів та збільшення часу розрахунків.

Головною задачею молекулярної стиковки (докінгу) є пошук можливих варіантів зв'язування однієї молекули з іншою, а саме утворення оптимальних просторових структурних комплексів та виявлення активного центру (ліганд-мішень) та фрагментів молекули, що сприяють зв'язуванню. Інформацією для докінгу є 3D структури рецептора або ферменту і ліганду,

конформаційна рухливість і взаємне розташування, яке моделюється в процесі стиковки.

Утворення комплексу супроводжується формуванням водневих, електростатичних, Ван-дер-ваальсових зв'язків між мішенню та лігандом і здійснюється за допомогою операції, при якій одну молекулу наближають до іншої.

Вся енергія системи є сумою вкладів різних типів взаємодій, де перші три складові потенціали, що відносяться до пов'язаних атомів, останні два – до незв'язаних.

$$E_{pot} = \sum_{bonds} V_r + \sum_{angle} V_{\theta} + \sum_{tors} V_{\tau} + \sum_{atom} V_{vdw} + \sum_{atom} V_{e-stat}$$

Розтягнення зв'язків. Описується простою гармонійною функцією, де є певний рівноважний стан r_0 з силовою константою k_b , яка визначена кожної пари зв'язаних атомів.

$$V_b^{harm}(r_{ij}) = \frac{k_b}{2} (r_{ij} - r_0)^2$$

Це досить погане наближення при екстремальних значеннях r , але зв'язки зазвичай настільки жорсткі, що вони працюють для помірних коливань. Точність може бути підвищена за рахунок введення потенціалу Морзе:

$$V_b^{Morse}(r_{ij}) = D_e (1 - \exp[-a(r_{ij} - r_0)])^2,$$

Гнучкість зв'язків. Енергія згинання зв'язків також описана у вигляді гармонійної функції, де рівноважний кут θ з силовою константою. Визначено для кожної трійки зв'язаних атомів.

$$V_{\theta}(\theta_{ijk}) = \frac{k_{\theta}}{2} (\theta_{ijk} - \theta_0)^2$$

Силкові константи для згинання мають тенденцію бути меншими ніж сили розтягування у 5-7 разів. Також слід розуміти, що можуть бути інші вклади в енергію вигину з незв'язаних енергій атомів, з'єднаних із пов'язаною парою атомів.

Скручування зв'язків. Енергія скручування визначається між будь-якими чотирма зв'язаними атомами і залежить від торсійного кута між двома площинами, що включають перший і три наступні атоми, залучених у процес скручування.

$$V_{\varphi}(\varphi_{ijkl}) = \frac{\kappa_{\varphi}}{2} (1 + \cos 3\varphi_{ijkl})$$

Торсійний кут враховує ті взаємодії між атомами, які не описані незв'язними взаємодіями. Наприклад, цей параметр може бути використаний для опису енергетичних бар'єрів обертання зв'язку залежно від локалізації електронних густин.

Електростатичні взаємодії. Різниця в електронегативності між атомами породжує нерівномірний розподіл заряду у молекулі. Часто відмінності електронегативності представлені як дробові точкові заряди (q) усередині молекули, зазвичай центровані на ядрах (парціальні атомні заряди). Енергія електростатичної взаємодії розраховується як сума взаємодій між частковими зарядами атомів, використовуючи закон Кулону. Звичайно, це рівняння також використовується для моделювання взаємодій між інтегральними зарядами, наприклад, між іонами.

$$V_{estat} = \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon R_{ij}}$$

Проблема з цим підходом полягає в тому, що немає такого визначення, як дробовий електрон, тому немає ідеального методу отримання парціальних зарядів атомів.

Ван-дер-Ваальсові взаємодії. Непов'язані взаємодії, які не є електростатичними, позначені Ван-дер-Ваальсовими взаємодіями. Ця компонента містить дисперсію та компоненти ближньої дії. Дисперсійні взаємодії утворюються з миттєвих, що притягуються один до одного диполів, що виникають усередині молекулярної електронної хмари. Короткодійчі взаємодії завжди несприятливі. Також виділяють обмін чи перекривання електронних оболонок. Воно відбувається між електронами з одним і тим

самим спіном, тому вони не займають ту саму область у просторі (принцип виключення Паулі). Електростатична енергія представлена за допомогою набору парціальних атомних зарядів. Енергія Ван-дер-Ваальсових взаємодій має як слабо притягуючі, так і сильно відштовхуючі компоненти і виникає через кореляцію електронів. Дисперсійний внесок завжди негативний, тоді як короткодіюча енергія завжди характеризується відштовхуванням. Торсійні взаємодії описують властивості обертання зв'язку, які виникають із неklasичних ефектів, таких як де локалізація електронів. Інші умови зв'язку та кута описують ковалентне зв'язування.

Основні фізичні закони, що лежать в основі молекулярної стиковки використовуються як базові принципи при розрахунку оціночних функцій та енергій зв'язування ліганду з відповідним білком.

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 2

1. Об'єктами докінгових досліджень були обрані структури на основі 1-бензил-4-піролідин-2-ону, модифікованим заміщеними 5-тіо-1,2,4-тріазольними каркасами. В якості препарату порівняння обрано Небрацетам у зв'язку з структурною подібністю базового скафолду.
2. Вибір молекулярного докінгу для оптимізації пошуку нових молекул направленої дії обумовлений найбільшою вірогідністю прогнозування активності та надання якісної і кількісної оцінки зв'язування з мішенню. Такі можливості прогнозування можуть бути корисними для подальших експериментальних досліджень та молекулярного дизайну майбутніх активних молекул.

РОЗДІЛ 3. ВИКОРИСТАННЯ МОЛЕКУЛЯРНОГО ДОКІНГУ ДЛЯ ПОШУКУ НОВИХ НООТРОПІВ, ЩО МІСТЯТЬ ЗАМІЩЕНІ ПІРРОЛІДИНОВІ ТА 1,2,4-ТРИАЗАОЛЬНІ КАРКАСИ

3.1. Органайзер кристалографічних моделей ноотропних мішеней

Аналіз наукових джерел (огляд літератури) свідчить, що механізми дії рацетамів залишаються загадкою. Були залучені диференціальні ефекти на підтипи глутаматних рецепторів, опосередкований вплив на ацетилхолінові мішені; активація надходження кальцію до нейрональних клітин; зв'язування з іншими нейронними рецепторами тощо. Тому актуальним є виявлення рецепторів та синаптичних процесів, за рахунок яких відомі ноотропи проявляють вплив на когнітивні функції та реалізують неспецифічні ефекти. У зв'язку з більшою ймовірністю впливу на глутаматні та ацетилхолінові рецептори доцільно створити органайзер кристалографічних моделей ноотропних мішеней та обрати оптимальну для молекулярної стиковки згенерованих об'єктів.

Рецептори N-метил-d-аспартату (NMDA) є детекторами подібності, які вимагають зв'язування гліцину та залишку глутамату в поєднанні з рельєфом залежного від напруги магнієвого блоку для розкриття іон провідної пори в шарі мембрани. Незважаючи на важливість рецептора N-метил-d-аспартату у розвитку та функціонуванні мозку, молекулярна структура інтактного рецептора залишається невловимою. Тому було представлено рентгенівські кристалічні структури рецептора NMDA GluN1-GluN2B *Xenopus laevis* з алостеричним інгібітором Ro25-6981, частковими агоністами та блокатором іонних каналів МК-801. Рецепторні домени розташовані за відповідною схемою 1-2-1-2, яка вказує на взаємодії між аміним кінцем і ліганд зв'язуючими доменами. Трансмембранні ділянки містять закритий іонний канал, пірамідальний центральний сайт, який складається з залишків амінокислот, що беруть участь у зв'язуванні блокаторів іонних каналів і магнію. Архітектура утвореного гетеро меру передбачає наявність і

приблизного розташування пор іонного каналу.

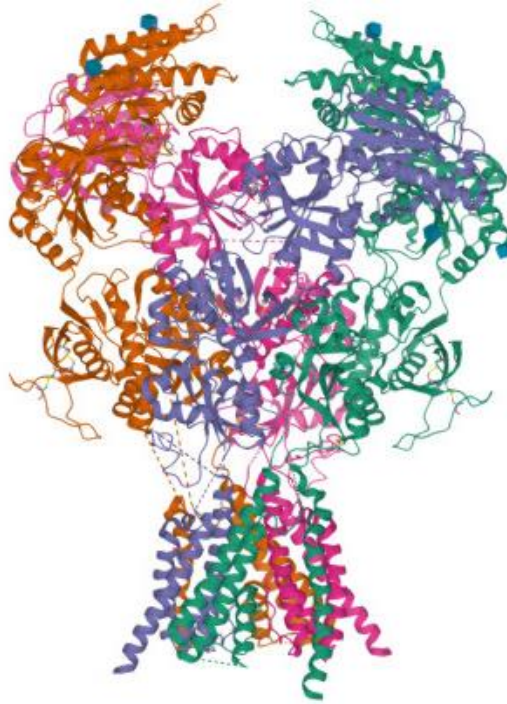


Рис. 3.1 Кристалографічна модель рецептора N-метил-d-аспартату (PDB ID: 4TLM)

Ці структури дають нове уявлення про структуру, алостеричний зв'язок і функцію іонних каналів рецепторів N-метил-d-аспартату (NMDA) (рис. 3.1) [96].

Через відсутність структурних досліджень рецептора NMDA з високою роздільною здатністю механізм, за допомогою якого блокатори іонних каналів блокують проникнення іонів, недостатньо вивчений. Показано, що видалення амінокінцевих залишків з рецептора NMDA GluN1-GluN2B дає функціональний рецептор і кристали з потужними дифракційними властивостями. Це в свою чергу дозволяє встановити сайт зв'язування блокатора рецептора NMDA, МК-801. Ця кристалографічна структура з елементами молекулярної динаміки у часовому масштабі вказує на те, як МК-801 і мемантин (препарат, що застосовують для лікування хвороби Альцгеймера) зв'язуються з іонним каналом, потім сприяють закриттю іонного каналу та затримуються між ними. Комбінація М3-спіраль-пучок і петлі М2-пор блокують проникнення іонів (рис. 3.2) [97].

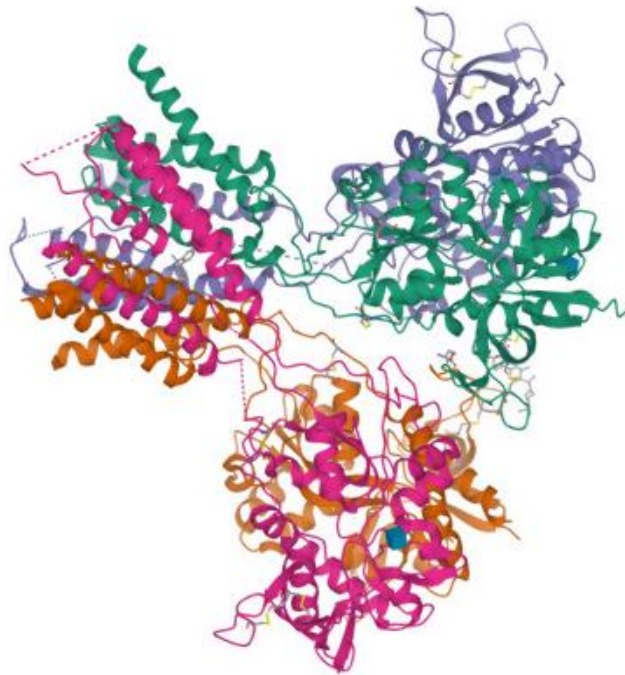


Рис. 3.2. Кристалографічна модель рецептора N-метил-d-аспартату (PDB ID: 5UN1)

В результаті пошуку моделі для дослідження було знайдено повідомлення про архітектуру пептиду GluN1/GluN2A/GluN2B за відсутності або наявності GluN2B-специфічного алостеричного модулятора Ro 25-6981 (Ro), визначеного за допомогою криогенної електронної мікроскопії (кріо-ЕМ). У випадку нестачі алостеричного модулятора амінокінцеві ділянки GluN2A та GluN2B (ATD) приймають «закриті» та «відкриті» щілини відповідно. Після зв'язування Ro розкладка GluN2B ATD переходить із відкритої конформації в закриту. Відповідно до домінування субодиниці GluN2A в відкритті іонних каналів, субодиниця GluN2A більш інтенсивно взаємодіє з субодиницями GluN1 по всьому білку, ніж субодиниця GluN2B. Відмінності в конформації субодиниць GluN1 також відображають асиметрію пептиду. Тригетеромерні архітектури NMDAR надають більшу збірку рецепторів NMDA і показують, як включення двох різних субодиниць GluN2 змінює симетрію рецептора та взаємодію субодиниць. Таке поєднання дозволяє кожній субодиниці впливати на структуру та функцію пептиду (рецептор), що в свою чергу ускладнює його (рис. 3.3) [98].

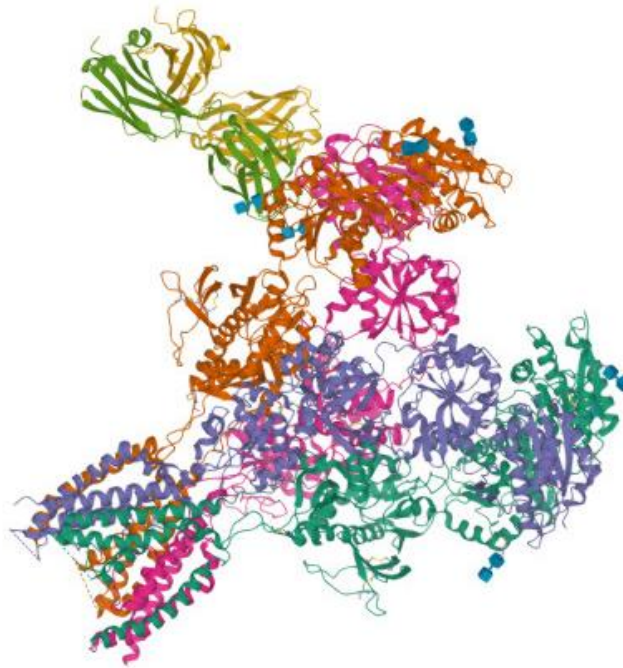


Рис. 3.3. Кристалографічна модель рецептора N-метил-d-аспартату (PDB ID: 5UOW)

Мускаринові ацетилхолінові рецептори є G-білковими рецепторами, які регулюють життєво важливих функцій центральної та периферичної нервової системи. Підтипи рецепторів M1 і M4 стали привабливими лікарськими мішенями для лікування неврологічних розладів, таких як шизофренія та хвороба Альцгеймера. Існують кристалічні структури мускаринових рецепторів M1 і M4, які спів кристалізовані із зворотним агоністом, тіотропієм. Порівняння цих структур зі структурами рецепторів M2 і M3, про які повідомлялося раніше, виявляє відмінності в ортостеричних і алостеричних сайтах зв'язування, які мають важливу роль селективності лікарських засобів у цій групі рецепторів. Також повідомлялося про ідентифікацію кластера залишків, які утворюють мережу, що з'єднує ортостеричні та алостеричні сайти рецептора M4, дає нове розуміння того, як алостерична модуляція може передаватися між двома просторово відмінними ділянками пептиду (рис. 3.4) [99].

Нікотинові ацетилхолінові рецептори є полімерними іонними каналами, які забезпечують швидку хімічну передачу нейронного імпульсу.

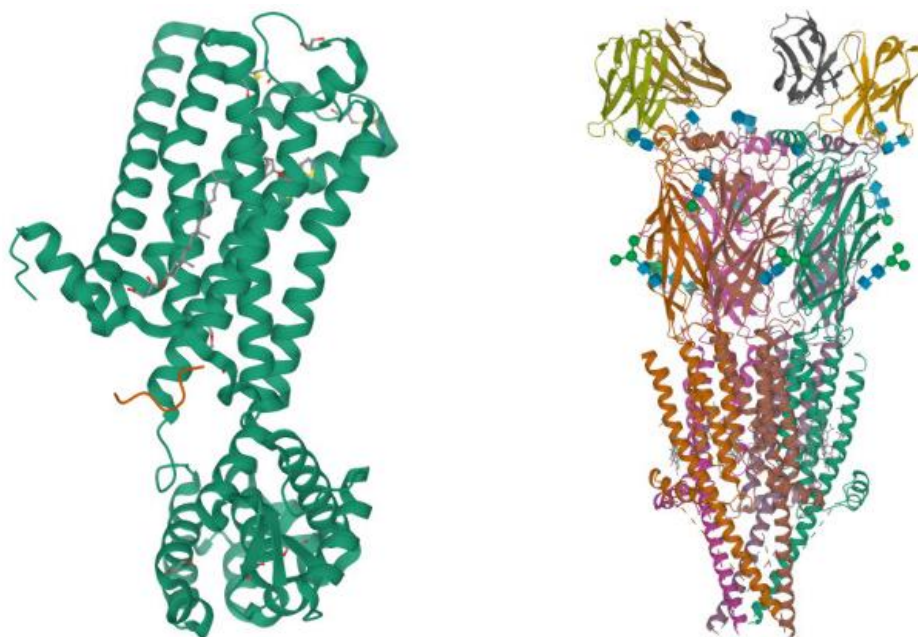


Рис. 3.4. Кристалографічні моделі мускаринового та нікотинного ацетилхолінових рецепторів (PDB ID: 5CXV, 6PV7)

Підтип нікотинного рецептора $\alpha 3\beta 4$ утворює головний зв'язок між центральною та периферичною нервовими системами у вегетативних гангліях. Цей рецептор також експресується локально в областях мозку. Представлені структури нікотинного рецептора $\alpha 3\beta 4$, використовують функціональне відновлення для визначення ліпідів, придатних для структурного аналізу. Структури рецептора в комплексі з нікотинном, а також $\alpha 3\beta 4$ -селективного ліганду АТ-1001 з елементами молекулярної динаміки, надають уявлення про селективність агоністів. Ці фрагменти розкривають більшу частину структури внутрішньоклітинної ділянки у, де експерименти мутагенезу та моделювання визначають залишки, які регулюють іонну провідність (рис. 3.4) [100].

У зв'язку з тим, що препарат порівняння Небрацетам має структурну подібність до базового скафолду, а генеровані молекули для дослідження є його модифікованими аналогами, для докінгу оптимальною мішенню було обрано ацетилхоліновий рецептор. Такий вибір заснований на здатності Небрацетаму посилювати холінергічні функції гіпокампу.

3.1. Молекулярний докінг потенційних ноотропних агентів, що містять заміщені пірролідинові та 1,2,4-тріазаольні каркаси.

Для молекулярного стикування було використано пакет програм Autodock 4.2. Підготовку лігандів проводили за допомогою програми MGL Tools 1.5.6. Оптимізація лігандів у відповідний формат PDB проводилася за допомогою програмного додатку Avogadro. Для проведення докінгу вихідні формати досліджуваних молекул та пептидів у програмі Autodock 4.2. конвертувалися у спеціальний формат PDBQT. Мапи рецептора готували у програмах MGL Tools та AutoGrid. З PDB файлів ID: 5CXV, 6PV7 були видалені молекули води, іони та ліганд.

Параметри докінгу наведені у таблиці 3.1

Таблиця 3.1. Параметри молекулярного докінгу

Параметр	Значення
крок поступального руху	2 Å
толерантність кластеру	2 Å
Коефіцієнт торсійної свободи	0,2983
зовнішня енергія решітки	1000
максимальна початкова енергія	0
максимальна кількість спроб	10000
кількість структур у популяції	150
максимальна кількість генерацій	27000
максимальна кількість етапів оцінки енергії	2500000
кількість структур, що переходять у наступне покоління	1
рівень кросовера	0.8
спосіб кросовера	арифметичний
β -параметр розподілу Гауса	1
α -параметр розподілу Гауса	0
рівень генної мутації	0,02

Візуалізація утворених комплексів досліджуваних молекул в активних центрах рецепторів було проведено за допомогою програми Discovery Studio Visualizer.

За результатами молекулярного докінгу були розраховані: скорингова функція (вказує на внесок ентальпії у значення вільної енергії зв'язування (Affinity DG) для кращих конформаційних положень); значення вільної енергії зв'язування та констант зв'язування (EDoc ккал/моль та Ki мМ (мілімоль)) для найкращого конформаційного положення ліганду. Обчислені значення дають оцінку стійкості утворених комплексів (табл. 3.2 і 3.3).

Таблиця 3.2. Значення скорингової функції, вільної енергії та констант зв'язування для кращих конформаційних положень досліджуваних молекул у комплексі з мускариновим ацетилхоліновим рецептором (PDB ID: 5CXV)

Молекула	Обчислені значення		
	Afinity DG, kcal/mol	EDoc kcal/mol	Ki uM micromolar
Молекула 1	-8.0	-6.58	14.96
Молекула 2	-7.6	-6.14	31.52
Молекула 3	-8.7	-7.04	6.96

Молекула 4	-8.0	-5.73	63.16
Небрацетам	-6.2	-6.15	30.84

Таблиця 3.3. Значення скорингової функції, вільної енергії та констант зв'язування для кращих конформаційних положень досліджуваних молекул у комплексі з нікотинним ацетилхоліновим рецептором (PDB ID: 6PV7)

Молекула	Обчислені значення		
	Afinity DG, kcal/mol	EDoc kcal/mol	Ki uM micromolar
Молекула 1	-6.7	-5.32	125.50
Молекула 2	-6.6	-4.89	260.97
Молекула 3	-7.0	-5.45	100.40
Молекула 4	-6.1	-3.95	1280
Небрацетам	-5.2	-5.74	62.49

Одержані значення молекулярної стиковки свідчать, що активність досліджуваних молекул щодо з мускаринового та нікотинного ацетилхолінових рецепторів може бути реалізована за рахунок утворення між ними комплексів, стабільність яких забезпечується за рахунок енергетично вигідного геометричного розташування протестованих молекул в активних сайтах рецепторів, утворення між ними міжмолекулярних взаємодій а саме:

водневих зв'язків, електростатичних та гідрофобних взаємодій. Результат такої стиковки підтверджується високими абсолютними значеннями скорингової функції (Affinity DG, ккал/моль), значеннями вільної енергії EDos (ккал/моль) і констант зв'язування Ki (мМ/моль). мкМ) (табл. 3.2, 3.3).

Одержані дані також свідчать, що в результаті стиковки з мускариновим ацетилхоліновим рецептором спостерігався кращий афінітет, ніж у випадку з нікотинним. Афінітет був на рівні Небрацетаму або перевищував за всіма обчисленими значеннями у випадку молекули 1 та 3. Обчислені значення можуть бути корисними при плануванні експериментального скринінгу на ноотропну активність.

У зв'язку з цим подальший аналіз геометричного розташування тестованих молекул доцільно проводити в активному сайті мускаринового ацетилхолінового рецептора. Результати аналізу нададуть якісну та кількісну оцінку утворених міжмолекулярних взаємодій між фрагментами тестованих сполук та залишками амінокислот сайту, що є важливим при наданні рекомендацій для оптимізації пошуку майбутніх ноотропних кандидатів.

Молекула **1** з мускариновим ацетилхоліновим рецептором утворює комплекс за рахунок водневого зв'язку між атомом Оксигену пірролідін-2-онового фрагменту з залишком ізолейцину Ile180. Міжмолекулярні взаємодії π - π виникають між тіофеновим, 1,2,4-тріазольним каркасами та фенільним фрагментом з залишками амінокислот Tyr381, Tyr404 і Trp400 відповідно. . Додатковій стабілізації утвореного комплексу сприяють π -Alk міжмолекулярні взаємодії між тріазольним кільцем та лейцином Leu183 (Рис. 3.5, 3.6.).

Молекула **2** з досліджуваними рецептором утворює комплекс за рахунок водневого зв'язку між атомом Оксигену пірролідін-2-онового фрагменту з залишком ізолейцину Ile180. π - π Взаємодії виникають між фенільними фрагментами з залишками амінокислот Tyr404 і Trp400 відповідно. Додатковій стабілізації утвореного комплексу сприяють π -Alk

міжмолекулярні взаємодії між триазольним кільцем та лейцином Leu183 (Рис. 3.7, 3.8.).

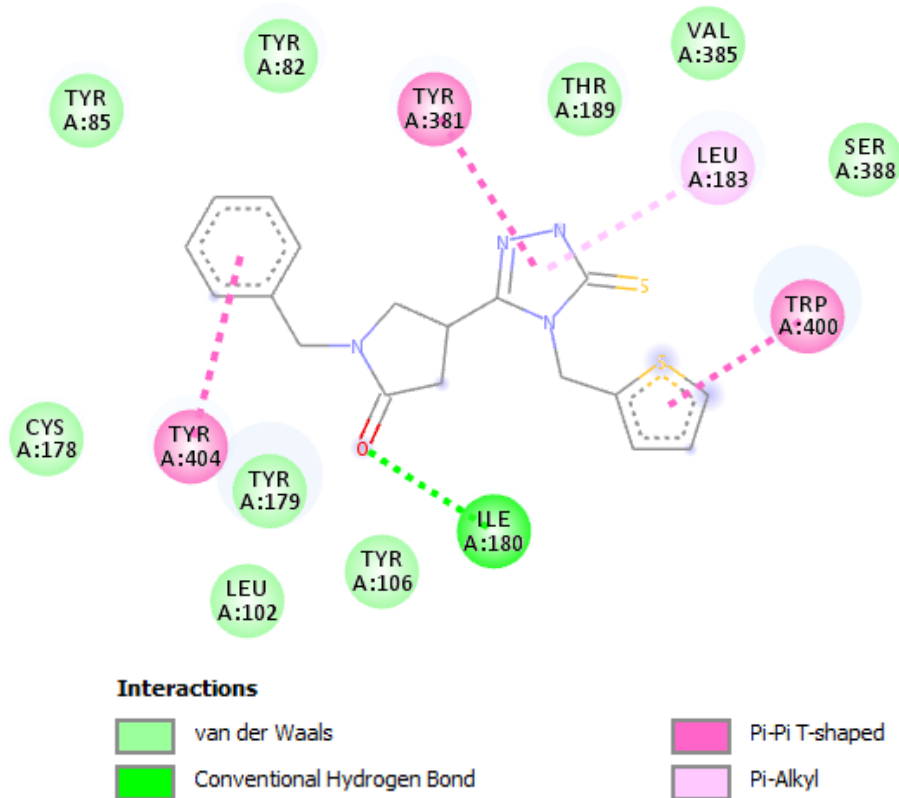


Рис. 3.5. Діаграма міжмолекулярних взаємодій молекули 1 у комплексі з біомішенню (PDB ID: 5CXV)

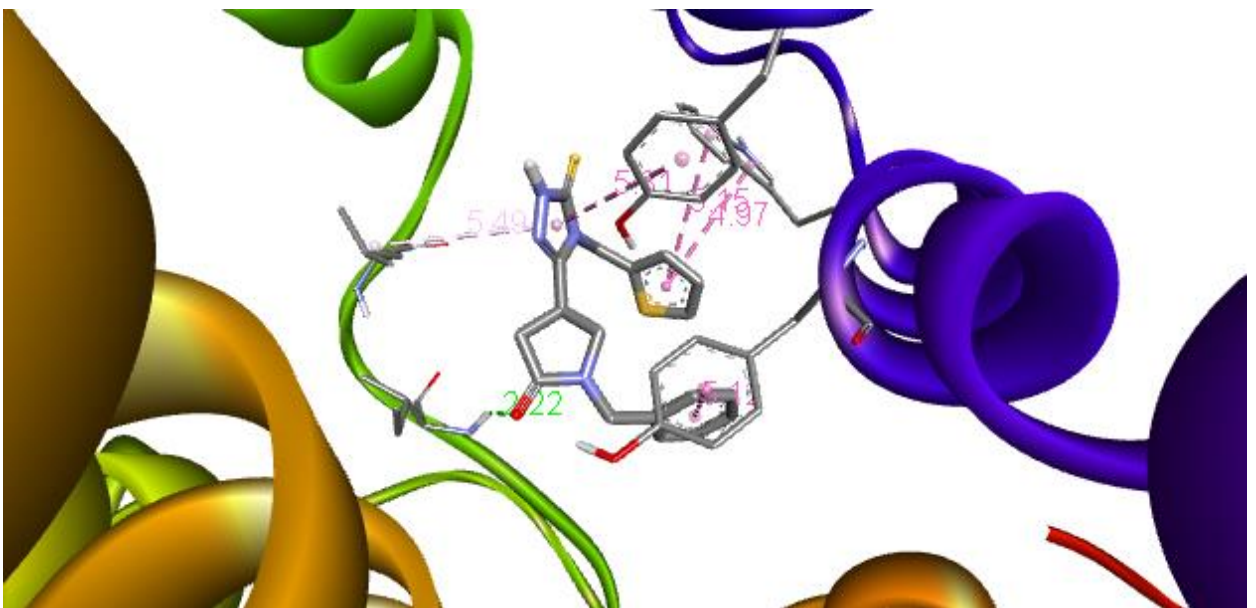


Рис. 3.6. Суперпозиція молекули 1 в активному сайті мускаринового ацетилхолінового рецептора (PDB ID: 5CXV)

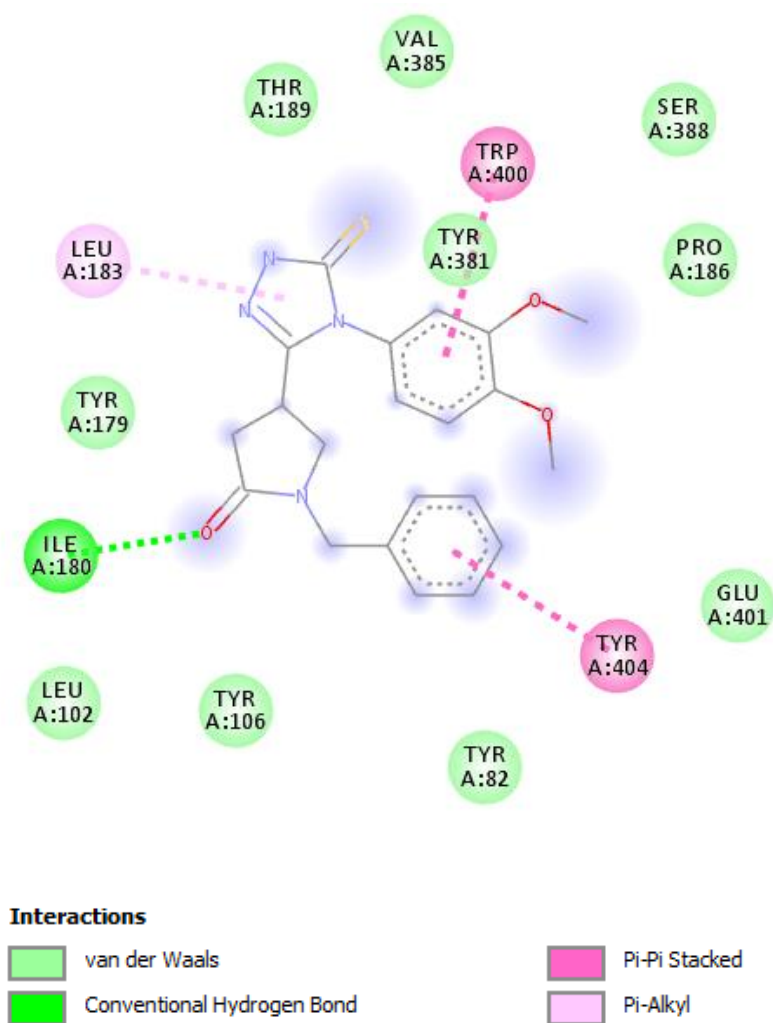


Рис. 3.7. Діаграма міжмолекулярних взаємодій молекули 2 у комплексі з біомішенню (PDB ID: 5CXV)

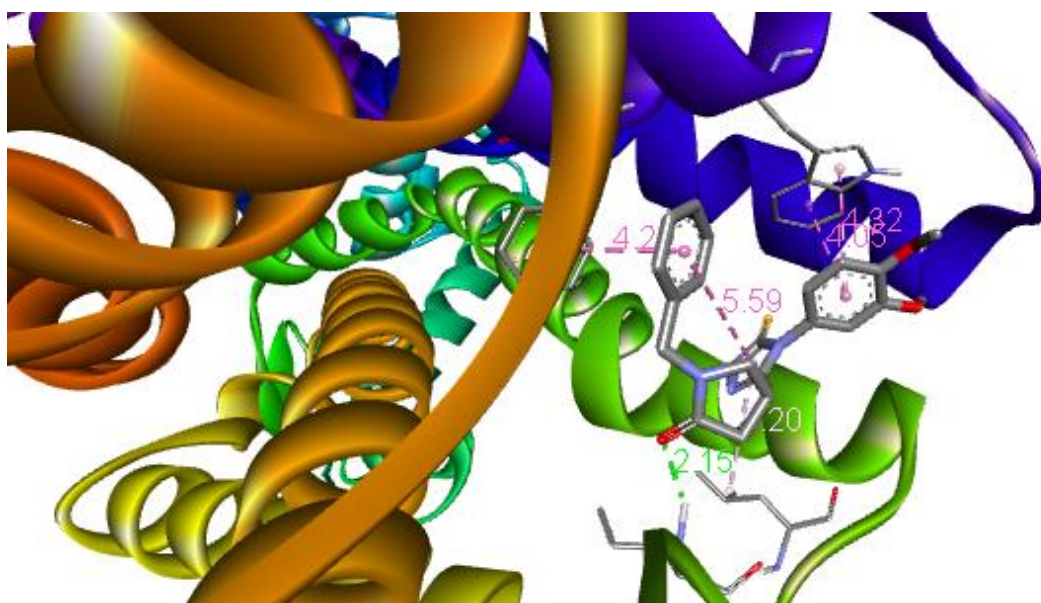


Рис. 3.8. Суперпозиція молекули 2 в активному сайті мускаринового ацетилхолінового рецептора (PDB ID: 5CXV)

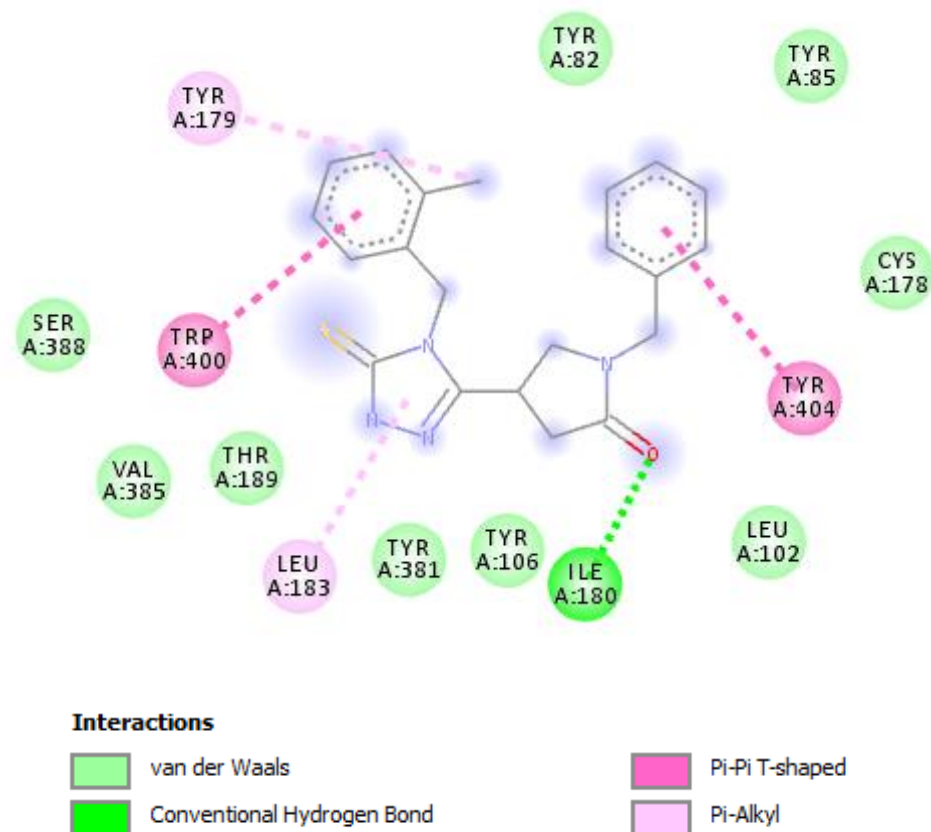


Рис. 3.9. Діаграма міжмолекулярних взаємодій молекули 3 у комплексі з біомішенню (PDB ID: 5CXV)

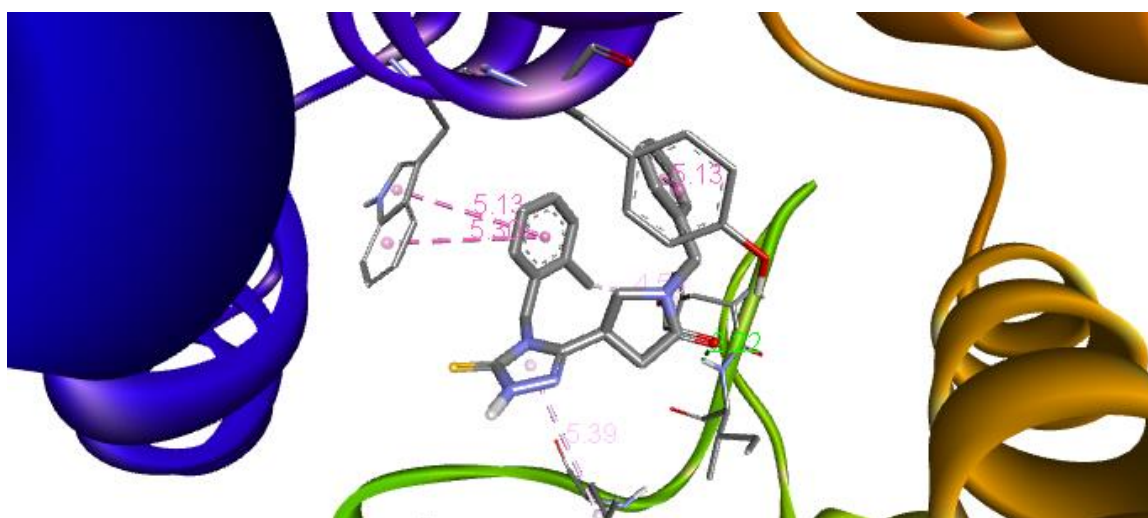


Рис. 3.10. Суперпозиція молекули 3 в активному сайті мускаринового ацетилхолінового рецептора (PDB ID: 5CXV)

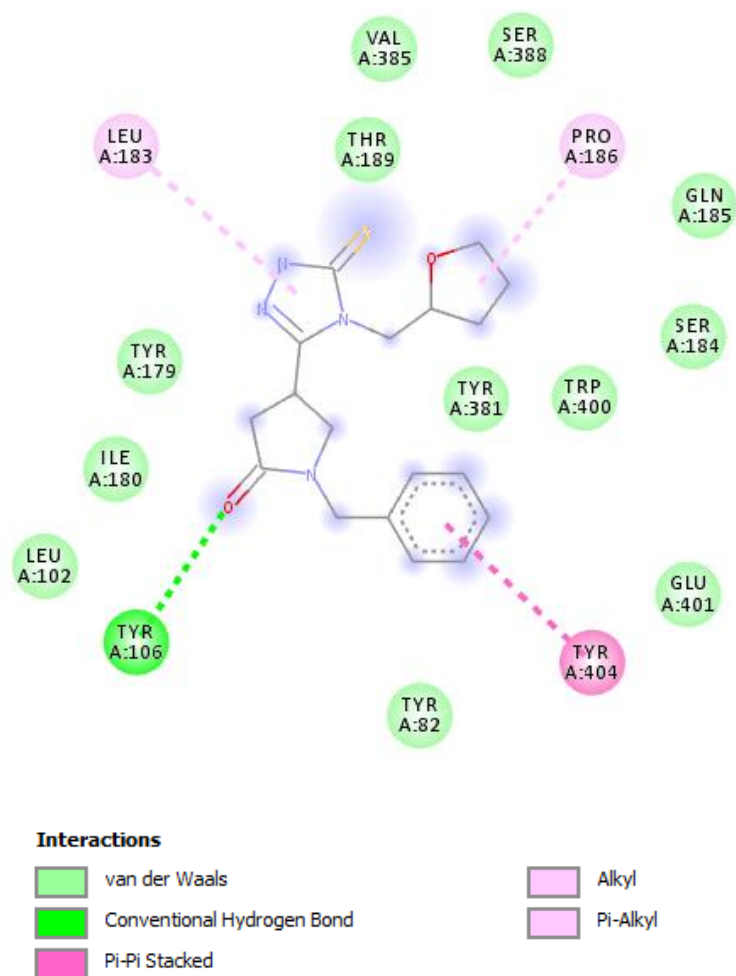


Рис. 3.11. Діаграма міжмолекулярних взаємодій молекули 4 у комплексі з біомішенню з (PDB ID: 5CXV)

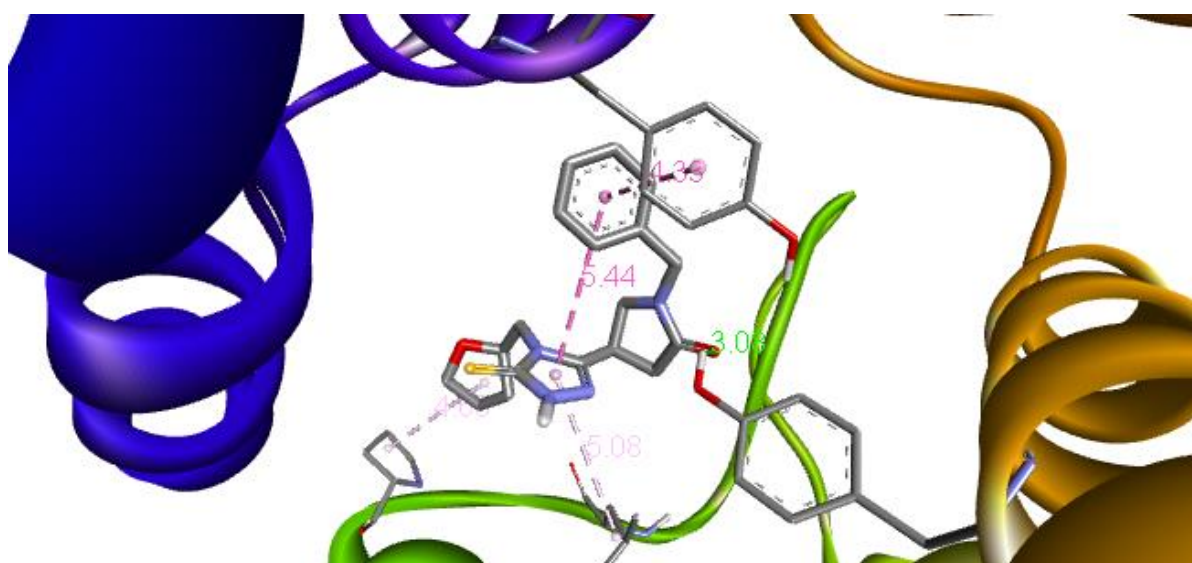


Рис. 3.12. Суперпозиція молекули 4 в активному сайті мускаринового ацетилхолінового рецептора (PDB ID: 5CXV)

Утворенню комплексу молекули **3** з рецептором (PDB ID: 5CXV) сприяє поява водневого зв'язку між атомом Оксигену пірролідін-2-онового фрагменту з залишком ізолейцину Ile180. π - π Взаємодії виникають між фенільними фрагментами з залишками амінокислот Tyr404 і Trp400 відповідно. Стабілізації утвореного комплексу сприяють π -Alk взаємодії між тріазольним кільцем та атомом Хлору фенольного кільця з фрагментами лейцину Leu183 та тирозину Tyr179 (Рис. 3.9, 3.10.).

Молекула **4** з мішенню утворює комплекс за рахунок водневого зв'язку між атомом Оксигену пірролідін-2-онового фрагменту з залишком ізолейцину Ile180, π - π взаємодії між фенільним фрагментом і залишком амінокислоти Tyr404, π -Alk і Alk взаємодій між тріазольним та оксалановими фрагментами і амінокислотними залишками Leu183, Pro 186 (Рис. 3.11, 3.12.).

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3

1. З метою оптимізації вибору біологічної мішені для молекулярного докінгу був створений органайзер кристалографічних моделей ноотропних мішеней. Вибір ацетилхолінових рецепторів для докінгу базувався на аналізі архітектури мішеней та на структурну подібність з генерованих об'єктів до референс препарату Небрацетаму, який здатний посилювати холінергічні функції гіпокампу.
2. Одержані значення молекулярної стиковки свідчать, що активність досліджуваних молекул щодо з мускаринового та нікотинового ацетилхолінових рецепторів може бути реалізована за рахунок утворення між ними комплексів, стабільність яких забезпечується за рахунок енергетично вигідного геометричного розташування протестованих молекул в активних сайтах рецепторів. Результат такої стиковки підтверджується високими абсолютними значеннями скорингової функції (Affinity DG, ккал/моль), значеннями вільної енергії ED₀₅ (ккал/моль) і констант зв'язування K_i (мМ/моль). мкМ)
3. В результаті стиковки з мускариновим ацетилхоліновим рецептором спостерігався кращий афінітет, ніж у випадку з нікотиновим. Афінітет був на рівні Небрацетаму або перевищував за всіма обчисленими значеннями у випадку молекули 1 та 3.
4. Детальний аналіз геометричного розташування досліджуваних молекул в активному сайті рецептора свідчить, що в утворенні комплексів беруть участь однаковий набір амінокислотних залишків з відповідними ключовими фрагментами протестованих сполук.
5. Отримані дані молекулярного докінгу можуть бути використані при плануванні експериментального скринінгу на ноотропну активність та при наданні рекомендацій для оптимізації пошуку майбутніх ноотропних кандидатів.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Систематизовано, проаналізовано та узагальнено літературні дані щодо сучасних досліджень пірацетаму та пірацетам-подібних сполук для нових показань. Встановлено, що удосконалення дизайну хімічних речовин нового покоління може призвести до кращої клінічної ефективності.
2. Об'єктами докінгових досліджень були обрані структури на основі 1-бензил-4-піролідин-2-ону, модифікованим заміщеними 5-тіо-1,2,4-тріазольними каркасами. В якості препарату порівняння обрано Небрацетам у зв'язку з структурною подібністю базового скафолду.
3. Вибір молекулярного докінгу для оптимізації пошуку нових молекул направленої дії обумовлений найбільшою вірогідністю прогнозування активності та надання якісної і кількісної оцінки зв'язування з мішенню.
4. З метою оптимізації вибору біологічної мішені для молекулярного докінгу був створений органайзер кристалографічних моделей ноотропних мішеней. Вибір ацетилхолінових рецепторів для докінгу базувався на аналізі архітектури мішеней та на структурну подібність з генерованих об'єктів до рефренс препарату Небрацетаму, який здатний посилювати холінергічні функції гіпокампу.
5. Одержані значення молекулярної стиковки свідчать, що активність досліджуваних молекул щодо з мускаринового та нікотинового ацетилхолінових рецепторів може бути реалізована за рахунок утворення між ними комплексів, стабільність яких забезпечується за рахунок енергетично вигідного геометричного розташування протестованих молекул в активних сайтах рецепторів. Результат такої стиковки підтверджується високими абсолютними значеннями скорингової функції (Affinity DG, ккал/моль), значеннями вільної енергії ED₀₅ (ккал/моль) і констант зв'язування K_i (мМ/моль). мкМ)

6. В результаті стиковки з мускариновим ацетилхоліновим рецептором спостерігався кращий афінітет, ніж у випадку з нікотиновим. Афінітет був на рівні Небрацетаму або перевищував за всіма обчисленими значеннями у випадку молекули 1 та 3.
7. Детальний аналіз геометричного розташування досліджуваних молекул в активному сайті рецептора свідчить, що в утворенні комплексів беруть участь однаковий набір амінокислотних залишків з відповідними ключовими фрагментами протестованих сполук.
8. Отримані дані молекулярного докінгу можуть бути використані при плануванні експериментального скринінгу на ноотропну активність та при наданні рекомендацій для оптимізації пошуку майбутніх ноотропних кандидатів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Giurgea C. The 'nootropic' approach to the pharmacology of the integrative activity of the brain. *Cond Reflex* 1973 Apr-Jun; 8 (2): 108-15
2. Piracetam [online]. Available from URL: <http://www.piracetam.com> [Accessed 2010 Jan 22]
3. US National Institutes of Health. ClinicalTrials.gov [online]. Available from URL: <http://www.clinicaltrials.gov> [Accessed 2010 Jan 22]
4. Waegemans T, Wilsher CR, Danniau A, et al. Clinical efficacy of piracetam in cognitive impairment: a metaanalysis. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2002; 13 (4): 217-24
5. Wheble PC, Sena ES, Macleod MR. A systematic review and meta-analysis of the efficacy of piracetam and piracetam-like compounds in experimental stroke. *Cerebrovasc Dis* 2008; 25 (1-2): 5-11
6. Gualtieri F, Manetti D, Romanelli MN, et al. Design and study of piracetam-like nootropics, controversial members of the problematic class of cognition-enhancing drugs. *Curr Pharm Des* 2002; 8 (2): 125-38
7. Information letter from the Institute of Medical-Biological Problems of the Russian Academy of Sciences. Available from URL: http://www.phenotropil.ru/img/articles/popup_01264.html [Accessed 2010 Jan 22]
8. Nickolson VJ, Wolthuis OL. Effect of the acquisitionenhancing drug piracetam on rat cerebral energy metabolism: comparison with naftidrofuryl and methamphetamine. *Biochem Pharmacol* 1976 Oct 15; 25 (20): 2241-4
9. Grau M, Montero JL, Balasch J. Effect of Piracetam on electrocorticogram and local cerebral glucose utilization in the rat. *Gen Pharmacol* 1987; 18 (2): 205-11
10. Tacconi MT, Wurtman RJ. Piracetam: physiological disposition and mechanism of action. *Adv Neurol* 1986; 43: 675-85
11. Wischer S, Paulus W, Sommer M, et al. Piracetam affects facilitatory I-wave interaction in the human motor cortex. *Clin Neurophysiol* 2001 Feb; 112 (2): 275-9

12. Horvath B, Marton Z, Halmosi R, et al. In vitro antioxidant properties of pentoxifylline, piracetam, and vinpocetine. *Clin Neuropharmacol* 2002 Jan-Feb; 25 (1): 37-42
13. Pepeu G, Spignoli G. Nootropic drugs and brain cholinergic mechanisms. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1989; 13 Suppl.: S77-8
14. Pilch H, Müller WE. Piracetam elevates muscarinic cholinergic receptor density in the frontal cortex of aged but not of young mice. *Psychopharmacology (Berl)* 1988; 94 (1): 74-8
15. Copani A, Genazzani AA, Aleppo G, et al. Nootropic drugs positively modulate alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid-sensitive glutamate receptors in neuronal cultures. *J Neurochem* 1992 Apr; 58 (4): 1199-204
16. Pugsley TA, Shih Y-H, Coughenour L, et al. Some neurochemical properties of pramiracetam (CI-879), a new cognition-enhancing agent. *Drug Dev Res* 1983; 3: 407-20
17. Kovalev GI, Akhapkina VI, Abaimov DA, et al. Phentropil as receptor modulator of synaptic neurotransmission. *Nervnye Bolezni* 2007; 4: 22-6
18. Carunchio I, Pieri M, Ciotti MT, et al. Modulation of AMPA receptors in cultured cortical neurons induced by the antiepileptic drug levetiracetam. *Epilepsia* 2007 Apr; 48 (4): 654-62
19. Lukyanetz EA, Shkryl VM, Kostyuk PG. Selective blockade of N-type calcium channels by levetiracetam. *Epilepsia* 2002 Jan; 43 (1): 9-18
20. Pisani A, Bonsi P, Martella G, et al. Intracellular calcium increase in epileptiform activity: modulation by levetiracetam and lamotrigine. *Epilepsia* 2004 Jul; 45 (7): 719-28
21. Lynch BA, Lambeng N, Nocka K, et al. The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 Jun; 101 (26): 9861-6
22. Bennett B, Matagne A, Michel P, et al. Seletracetam (UCB 44212). *Neurotherapeutics* 2007 Jan; 4 (1): 117-22

23. Tai KK, Truong DD. Brivaracetam is superior to levetiracetam in a rat model of post-hypoxic myoclonus. *J Neural Transm* 2007; 114 (12): 1547-51
24. Moriguchi S, Shioda N, Maejima H, et al. Nefiracetam potentiates N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor function via protein kinase C activation and reduces magnesium block of NMDA receptor. *Mol Pharmacol* 2007 Feb; 71 (2): 580-7
25. Kataoka Y, Niwa M, Koizumi S, et al. Nebracetam (WEB 1881FU) prevents N-methyl-D-aspartate receptor-mediated neurotoxicity in rat striatal slices. *Jpn J Pharmacol* 1992 Jun; 59 (2): 247-50
26. 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 Jan; 67 (1): 87-90
27. Oka M, Itoh Y, Tatsumi S, et al. A novel cognition enhancer NS-105 modulates adenylate cyclase activity through metabotropic glutamate receptors in primary neuronal culture. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1997 Aug; 356 (2): 189-96
28. Oka M, Itoh Y, Shimidzu T, et al. 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. *Brain Res* 1997 Apr 18; 754 (1-2): 121-30
29. Shimidzu T, Itoh Y, Oka M, et al. Effect of a novel cognition enhancer NS-105 on learned helplessness in rats: possible involvement of GABA(B) receptor up-regulation after repeated treatment. *Eur J Pharmacol* 1997 Nov 12; 338 (3): 225-32
30. Takashina K, Bessho T, Mori R, et al. MKC-231, a choline uptake enhancer: (3) mode of action of MKC-231 in the enhancement of high-affinity choline uptake. *J Neural Transm* 2008 Jul; 115 (7): 1037-46

31. Takashina K, Bessho T, Mori R, et al. MKC-231, a choline uptake enhancer: (2) effect on synthesis and release of acetylcholine in AF64A-treated rats. *J Neural Transm* 2008 Jul; 115 (7): 1027-35
32. Fedi M, Reutens D, Dubeau F, et al. Long-term efficacy and safety of piracetam in the treatment of progressive myoclonus epilepsy. *Arch Neurol* 2001 May; 58 (5): 781-6
33. Holinski S, Claus B, Alaaraj N, et al. Cerebroprotective effect of piracetam in patients undergoing coronary bypass surgery. *Med Sci Monit* 2008 Nov; 14 (11): PI53-7
34. Uebelhack R, Vohs K, Zytowski M, et al. Effect of piracetam on cognitive performance in patients undergoing bypass surgery. *Pharmacopsychiatry* 2003 May; 36 (3): 89-93
35. Szalma I, Kiss A, Kardos L, et al. Piracetam prevents cognitive decline in coronary artery bypass: a randomized trial versus placebo. *Ann Thorac Surg* 2006 Oct; 82 (4): 1430-5
36. Batysheva TT, Bagir LV, Kostenko EV, et al. Experience of the out-patient use of memotropil in the treatment of cognitive disorders in patients with chronic progressive cerebrovascular disorders. *Neurosci Behav Physiol* 2009 Feb; 39 (2): 193-7
37. Neznamov GG, Teleshova ES. 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 Mar; 39 (3): 311-21
38. Zavadenko NN, Guzilova LS. Sequelae of closed craniocerebral trauma and the efficacy of piracetam in its treatment in adolescents. *Neurosci Behav Physiol* 2009 May; 39 (4): 323-8.
39. Boiko AN, Batysheva TT, Matvievskaia OV, et al. Characteristics of the formation of chronic fatigue syndrome and approaches to its treatment in young patients with focal brain damage. *Neurosci Behav Physiol* 2007 Mar; 37 (3): 221-8

40. Akhondzadeh S, Tajdar H, Mohammadi MR, et al. A double-blind placebo controlled trial of piracetam added to risperidone in patients with autistic disorder. *Child Psychiatry Hum Dev* 2008 Sep; 39 (3): 237-45
41. Butler DE, Leonard JD, Caprathe BW, et al. Amnesia reversal activity of a series of cyclic imides. *J Med Chem* 1987 Mar; 30 (3): 498-503
42. Tang WK, Ungvari GS, Leung HC. Effect of piracetam on ECT-induced cognitive disturbances: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *J ECT* 2002 Sep; 18 (3): 130-7
43. Lobaugh NJ, Karaskov V, Rombough V, et al. Piracetam therapy does not enhance cognitive functioning in children with Down syndrome. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2001 Apr; 155 (4): 442-8
44. Jelic V, Kivipelto M, Winblad B. Clinical trials in mild cognitive impairment: lessons for the future. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006 Apr; 77 (4): 429-38
45. Libov I, Miodownik C, Bersudsky Y, et al. Efficacy of piracetam in the treatment of tardive dyskinesia in schizophrenic patients: a randomized, double-blind, placebo controlled crossover study. *J Clin Psychiatry* 2007 Jul; 68 (7): 1031-7
46. Ince Gunal D, Agan K, Afsar N, et al. The effect of piracetam on ataxia: clinical observations in a group of autosomal dominant cerebellar ataxia patients. *J Clin Pharm Ther* 2008 Apr; 33 (2): 175-8
47. Ricci S, Celani MG, Cantisani TA, et al. Piracetam in acute stroke: a systematic review. *J Neurol* 2000 Apr; 247 (4): 263-6
48. Kessler J, Thiel A, Karbe H, et al. Piracetam improves activated blood flow and facilitates rehabilitation of poststroke aphasic patients. *Stroke* 2000 Sep; 31 (9): 2112-6
49. Ovanesov KB, Shikina IB, Arushanian EB, et al. Effect of pyracetam on the color discriminative function of retina in patients with craniocerebral trauma. *Eksp Klin Farmakol* 2003 Jul-Aug; 66 (4): 6-8

50. Kiseleva TN, Lagutina IuM, Kravchuk EA. Effect of fezam on ocular dynamics in patients with senile macular degeneration. *Vestn Oftalmol* 2005 Jul-Aug; 121 (4): 26-8
51. Preda L, Alberoni M, Bressi S, et al. Effects of acute doses of oxiracetam in the scopolamine model of human amnesia. *Psychopharmacology (Berl)* 1993; 110 (4): 421-6
52. Rozzini R, Zanetti O, Bianchetti A. Treatment of cognitive impairment secondary to degenerative dementia: effectiveness of oxiracetam therapy. *Acta Neurol (Napoli)* 1993 Feb; 15 (1): 44-52
53. Green RC, Goldstein FC, Auchus AP, et al. Treatment trial of oxiracetam in Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 1992 Nov; 49 (11): 1135-6
54. 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]
55. McLean Jr A, Cardenas DD, Burgess D, et al. Placebocontrolled study of pramiracetam in young males with memory and cognitive problems resulting from head injury and anoxia. *Brain Inj* 1991 Oct-Dec; 5 (4): 375-80
56. Mauri M, Sinforiani E, Reverberi F, et al. Pramiracetam effects on scopolamine-induced amnesia in healthy volunteers. *Arch Gerontol Geriatr* 1994 Mar-Apr; 18 (2): 133-9
57. Dziak LA, Golik VA, Miziakina EV. Experience in the application of pramistar, a new nootropic preparation, in the treatment of memory disorders in patients with cerebrovascular pathology. *Lik Sprava* 2003 Dec; (8): 67-72
58. Tkachev AV. Application of nootropic agents in complex treatment of patients with concussion of the brain. *Lik Sprava* 2007 Jul-Sep; (5-6): 82-5
59. Ogiso T, Iwaki M, Tanino T, et al. Pharmacokinetics of aniracetam and its metabolites in rats. *J Pharm Sci* 1998 May; 87 (5): 594-8

60. Senin U, Abate G, Fieschi C, et al. Aniracetam (Ro 13- 5057) in the treatment of senile dementia of Alzheimer type (SDAT): results of a placebo controlled multicentre clinical study. *Eur Neuropsychopharmacol* 1991 Dec; 1 (4): 511-7
61. Canonico V, Forgione L, Paoletti C, et al. Efficacy and tolerance of aniracetam in elderly patients with primary or secondary mental deterioration [in Italian]. *Riv Neurol* 1991 May-Jun; 61 (3): 92-6
62. Somnier FE, Ostergaard MS, Boysen G, et al. Aniracetam tested in chronic psychosyndrome after long-term exposure to organic solvents: a randomized, double-blind, placebo-controlled cross-over study with neuropsychological tests. *Psychopharmacology (Berl)* 1990; 101 (1): 43-6
63. Zvonareva EV. Phenotropil in the therapy of cognitive disorders in teenagers with astenic syndrome. *Nervnye Bolezni* 2006; 2: 27-8
64. Bel'skaia GN, Ponomareva IV, Lukashevich IG, et al. Complex treatment of epilepsy with phenotropil. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova* 2007; 107 (8): 40-3
65. Lybzikova GN, Iaglova ZhS, Kharlamova IuS. The efficacy of phenotropil in the complex treatment of epilepsy. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova* 2008; 108 (2): 69-70
66. Gerasimova MM, Chichanovskaia LV, Slezkina LA. The clinical and immunological aspects of the effects of phenotropil on consequences of stroke. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova* 2005; 105 (5): 63-4
67. Bagir LV, Batysheva TT, Boiko AN, et al. Use of phenotropil for early treatment of patients after stroke. *Concilium Medicum* 2006; 8 (8): 96-101
68. Basinskii SN, Basinskii AS. Neuroprotective effect of Fenotropil in unstabilized primary glaucoma. *Russkii Med Zh* 2007; 8 (4): 148-51
69. Sirsi D, Safdieh JE. The safety of levetiracetam. *Expert Opin Drug Saf* 2007 May; 6 (3): 241-50

70. Nissen-Meyer LS, Svalheim S, Taubøll E, et al. How can antiepileptic drugs affect bone mass, structure and metabolism? Lessons from animal studies. *Seizure* 2008 Mar; 17 (2): 187-91
71. Carreno M. Levetiracetam. *Drugs Today (Barc)* 2007 Nov; 43 (11): 769-94
72. Zhou B, Zhang Q, Tian L, et al. Effects of levetiracetam as an add-on therapy on cognitive function and quality of life in patients with refractory partial seizures. *Epilepsy Behav* 2008 Feb; 12 (2): 305-10
73. Kossoff EH, Los JG, Boatman DF. A pilot study transitioning children onto levetiracetam monotherapy to improve language dysfunction associated with benign rolandic epilepsy. *Epilepsy Behav* 2007 Dec; 11 (4): 514-7
74. Kinrys G, Wygant LE, Pardo TB, et al. Levetiracetam for treatment-refractory posttraumatic stress disorder. *J Clin Psychiatry* 2006 Feb; 67 (2): 211-4
75. Simon NM, Worthington JJ, Doyle AC, et al. An openlabel study of levetiracetam for the treatment of social anxiety disorder. *J Clin Psychiatry* 2004 Sep; 65 (9): 1219-22
76. Mazza M, Martini A, Scoppetta M, et al. Effect of levetiracetam on depression and anxiety in adult epileptic patients. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008 Feb 15; 32 (2): 539-43
77. Wasserman S, Iyengar R, Chaplin WF, et al. Levetiracetam versus placebo in childhood and adolescent autism: a double-blind placebo-controlled study. *Int Clin Psychopharmacol* 2006 Nov; 21 (6): 363-7
78. Brown ES, Frol AB, Khan DA, et al. Impact of levetiracetam on mood and cognition during prednisone therapy. *Eur Psychiatry* 2007 Oct; 22 (7): 448-52
79. Bialer M, Johannessen SI, Kupferberg HJ, et al. Progress report on new antiepileptic drugs: a summary of the Eighth Eilat Conference (EILAT VIII). *Epilepsy Res* 2007 Jan; 73 (1): 1-52
80. Rogawski MA. Brivaracetam: a rational drug discovery success story. *Br J Pharmacol* 2008 Aug; 154 (8): 1555-7

81. Malawska B, Kulig K. Brivaracetam: a new drug in development for epilepsy and neuropathic pain. *Expert Opin Investig Drugs* 2008 Mar; 17 (3): 361-9
82. French J, von Rosenstiel P. Efficacy and tolerability of brivaracetam as adjunctive treatment for adults with refractory partial-onset seizures [abstract]. *Epilepsia* 2007; 48 Suppl. 7: 78
83. van Paesschen W, von Rosenstiel P. Efficacy and tolerability of brivaracetam as adjunctive treatment for adults with refractory partial-onset epilepsy. *Epilepsia* 2007; 48 Suppl. 7: 56-7
84. Narahashi T, Moriguchi S, Zhao X, et al. Mechanisms of action of cognitive enhancers on neuroreceptors. *Biol Pharm Bull* 2004 Nov; 27 (11): 1701-6
85. Münte TF, Heinze HJ, Scholz M, et al. Effects of a cholinergic nootropic (WEB 1881 FU) potentials recorded in incidental and intentional memory tasks. *Neuropsychobiology* 1988; 19 (3): 158-68
86. Münte TF, Heinze HJ, Scholz MB, et al. Event-related potentials and visual spatial attention: influence of a cholinergic drug. *Neuropsychobiology* 1989; 21 (2): 94-9
87. Urakami K, Shimomura T, Ohshima T, et al. Clinical effect of WEB 1881 (nebracetam fumarate) on patients with dementia of the Alzheimer type and study of its clinical pharmacology. *Clin Neuropharmacol* 1993 Aug; 16 (4): 347-58
88. Scott AI, Perini AF, Shering PA, et al. In-patient major depression: is rolipram as effective as amitriptyline? *Eur J Clin Pharmacol* 1991; 40 (2): 127-9
89. Ross CE, Toon S, Rowland M, et al. A study to assess the anticholinergic activity of rolipram in healthy elderly volunteers. *Pharmacopsychiatry* 1988 Sep; 21 (5): 222-5
90. Hebenstreit GF, Fellerer K, Fichte K, et al. Rolipram in major depressive disorder: results of a double-blind comparative study with imipramine. *Pharmacopsychiatry* 1989 Jul; 22 (4): 156-60

91. Bertolino A, Crippa D, di Dio S, et al. 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. *Int Clin Psychopharmacol* 1988 Jul; 3 (3): 245-53
92. Nikulina E, Tidwell JL, Dai HN, et al. The phosphodiesterase inhibitor rolipram delivered after a spinal cord lesion promotes axonal regeneration and functional recovery. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004 Jun 8; 101 (23): 8786-90
93. Kajana S, Goshgarian HG. Administration of phosphodiesterase inhibitors and an adenosine A1 receptor antagonist induces phrenic nerve recovery in high cervical spinal cord injured rats. *Exp Neurol* 2008 Apr; 210 (2): 671-80
94. 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 Apr; 135 (7): 1783-93
95. Mukai H, Sugimoto T, Ago M, et al. 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. *Arzneimittelforschung* 1999 Dec; 49 (12): 977-85.
96. NMDA receptor structures reveal subunit arrangement and pore architecture. Lee, C.H., Lu, W., Michel, J.C., Goehring, A., Du, J., Song, X., Gouaux, E. (2014) *Nature* 511: 191-197.
97. Mechanism of NMDA receptor channel block by MK-801 and memantine. Song, X., Jensen, M.O., Jogini, V., Stein, R.A., Lee, C.H., Mchaourab, H.S., Shaw, D.E., Gouaux, E. (2018) *Nature* 556: 515-519.
98. Cryo-EM structures of the triheteromeric NMDA receptor and its allosteric modulation. Lu, W., Du, J., Goehring, A., Gouaux, E. (2017) *Science* 355.
99. Crystal structures of the M1 and M4 muscarinic acetylcholine receptors. Thal, D.M., Sun, B., Feng, D., Nawaratne, V., Leach, K., Felder, C.C.,

Bures, M.G., Evans, D.A., Weis, W.I., Bachhawat, P., Kobilka, T.S., Sexton, P.M., Kobilka, B.K., Christopoulos, A. (2016) *Nature* 531: 335-340.

100. Agonist Selectivity and Ion Permeation in the alpha 3 beta 4 Ganglionic Nicotinic Receptor. Gharpure, A., Teng, J., Zhuang, Y., Noviello, C.M., Walsh Jr., R.M., Cabuco, R., Howard, R.J., Zaveri, N.T., Lindahl, E., Hibbs, R.E. (2019) *Neuron* 104: 501.

Національний фармацевтичний університет

Факультет фармацевтичних технологій та менеджменту

Кафедра медичної хімії

Ступінь вищої освіти магістр

Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація

Освітня програма Фармація

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувачка кафедри
медичної хімії

Ліна ПЕРЕХОДА

«22» серпня 2022 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ

Анни РІЗНИЧЕНКО

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Оптимізація пошуку ноотропних агентів, що містять заміщені пірролідинові та 1,2,4-тріазаольні каркаси»
керівник кваліфікаційної роботи: Маргарита СУЛЕЙМАН, к.фарм.н., доцент
затверджений наказом НФаУ від «14» жовтня 2022 року № 227.
2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи: грудень 2022 р.
3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: оптимізація пошуку ноотропних агентів, що містять заміщені пірролідинові та 1,2,4-тріазаольні каркаси за допомогою сучасного методу прогнозування спорідненості до визначених мішеней (молекулярного докінгу).
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): 1) обґрунтувати структурну модифікацію базового 1-бензил-4-пірролідін-2-ону з метою створення оптимальних молекул для молекулярної стиковки; 2) створити органайзер кристалографічних моделей ноотропних мішеней для оптимізації вибору біологічної мішені для молекулярного докінгу; 3) встановити активність досліджуваних молекул по відношенню до обраної ноотропної мішені за допомогою отриманих скорингових функцій, енергій та констант зв'язування; 4) провести детальний аналіз геометричного розташування випробуваних молекул в активному сайті рецептора з метою надання рекомендацій для оптимізації пошуку майбутніх ноотропних кандидатів.
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): таблиць – 4, рисунків – 18.

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Маргарита СУЛЕЙМАН, доцент кафедри медичної хімії	23.08.2022	23.08.2022
2	Маргарита СУЛЕЙМАН, доцент кафедри медичної хімії	29.10.2022	29.10.2022
3	Маргарита СУЛЕЙМАН, доцент кафедри медичної хімії	30.11.2022	30.11.2022

7. Дата видачі завдання: «22» серпня 2022 року.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Пірацетам і пірацетам-подібні препарати. від фундаментальної науки до нових клінічних застосувань розладів цнс (огляд літератури) Написання розділу 1	серпень - вересень 2022 р.	виконано
2	Характеристика та аргументація вибору об'єктів і методів дослідження. Написання розділу 2	вересень 2022 р.	виконано
3	Створення органайзеру моделей ноотропних мішеней.	жовтень 2022 р.	виконано
4	Проведення молекулярного докінгу потенційних ноотропних агентів, що містять заміщені пірролідинові та 1,2,4-тріазаольні каркаси	листопад-грудень 2022 р	виконано
5	Написання розділу 3. Оформлення кваліфікаційної роботи	грудень 2022 р.	виконано

Здобувач вищої освіти _____

Анна РІЗНІЧЕНКО

Керівник кваліфікаційної роботи _____

Маргарита СУЛЕЙМАН

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 227
по Національному фармацевтичному університету
від 14 жовтня 2022 року

Про затвердження тем кваліфікаційних робіт

Затвердити теми кваліфікаційних робіт, керівників-консультантів та рецензентів здобувачам вищої освіти 5 курсу, спеціальність – 226 Фармація, промислова фармація, освітня програма – Фармація (для осіб, що мають ОКР «молодший спеціаліст» за напрямом «Медицина»), ступінь вищої освіти – магістр, термін навчання – 4 р. 6 міс., заочна форма.

Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
Різніченко Анна Володимирівна	Оптимізація пошуку ноотропних агентів, що містять заміщені пірролідинові та 1,2,4-тріазольні каркаси	Optimization of the search for nootropic agents containing substituted pyrrolidine and 1,2,4-triazole frameworks	к.фарм.н., доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії Сулейман М.М.	к.фарм.н., доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії Северіна Г.І.

Ректор

Алла КОТВИЦЬКА

Вірно:
Декан факультету фармацевтичних технологій та менеджменту



Наталія ЖИВОРА

ВИСНОВОК

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

№ 110275 від «20» грудня 2022 р.

Проаналізувавши випускню кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти заочної форми навчання Різніченко Анни Володимирівни, 5 курсу, _____ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Оптимізація пошуку ноотропних агентів, що містять заміщені пірролідинові та 1,2,4-тріазольні каркаси / Optimization of the search for nootropic agents containing substituted pyrrolidine and 1,2,4-triazole frameworks», 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**



Ірина ВЛАДИМИРОВА

3%

21%

ВІДГУК

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

Анни РІЗНІЧЕНКО

на тему: «Оптимізація пошуку ноотропних агентів, що містять заміщені пірролідинові та 1,2,4-тріазаольні каркаси».

Актуальність теми. Механізми дії пірацетаму та більшості його похідних залишаються загадкою. Були залучені диференціальні ефекти на підтипи глутаматних рецепторів, опосередкований вплив на ацетилхолінові мішені; активація надходження кальцію до нейрональних клітин; зв'язування з іншими нейронними рецепторами тощо. Відсутність загального молекулярного механізму дії робить актуальним виявлення для ноотропних засобів рецепторів та синаптичних процесів, за допомогою яких вони проявляють вплив на когнітивні функції та реалізують неспецифічні ефекти. Виявлення таких закономірностей сприятиме оптимізації фармакотерапії існуючих препаратів та розробці нових високо ефективних ноотропів.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. .

Одержані значення молекулярної стиковки свідчать, що активність досліджуваних молекул щодо мускаринового та нікотинowego ацетилхолінових рецепторів може бути реалізована за рахунок утворення між ними комплексів, стабільність яких забезпечується за рахунок енергетично вигідного геометричного розташування протестованих молекул в активних сайтах рецепторів. Результат такої стиковки підтверджується високими абсолютними значеннями скорингової функції (Affinity DG, ккал/моль), значеннями вільної енергії $E_{Dос}$ (ккал/моль) і констант зв'язування K_i (мкМ). Отримані дані молекулярного докінгу можуть бути використані при плануванні експериментального скринінгу на ноотропну активність та при наданні рекомендацій для оптимізації пошуку майбутніх ноотропних кандидатів.

Оцінка роботи. Робота виконана на високому рівні, одержані результати є надійними, висновки логічні та обґрунтовані. Загальна оцінка роботи є позитивною.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту. Робота виконана на високому рівні з науковою новизною і практичною значущістю отриманих результатів. Робота по тематиці, рівню виконання, обґрунтованістю висновків відповідає вимогам, що висуваються до випускних робіт і може бути представлена до захисту в Екзаменаційній комісії.

Науковий керівник

Маргарита СУЛЕЙМАН

07 грудня 2022 р.

РЕЦЕНЗІЯ

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

Анни РІЗНІЧЕНКО

на тему: «Оптимізація пошуку ноотропних агентів, що містять заміщені пірролідинові та 1,2,4-тріазаольні каркаси».

Актуальність теми. Зростає інтерес та потреба в нових ліках для вікових проблем центральної нервової системи. На сьогодні існує достатня кількість даних мета-аналізу клінічної ефективності ноотропів з групи рацетамів, що стосується фармакології, фармакокінетики/фармакодинаміки, механізму дії, дозування, токсикології та побічних ефектів. Лікарські препарати даної групи, за даними останніх досліджень покращували когнітивний дефіцит, пов'язаний із черепно-мозковими травмами та проявляли нейропротекторний ефект при застосуванні під час операції коронарного шунтування. Механізми дії пірацетаму більшості його похідних залишаються загадкою. Відсутність загального молекулярного механізму дії робить актуальним виявлення для ноотропних засобів рецепторів та синаптичних процесів, за допомогою яких вони проявляють вплив на когнітивні функції та реалізують неспецифічні ефекти. Виявлення таких закономірностей сприятиме оптимізації фармакотерапії існуючих препаратів та розробці нових ліків.

Теоретичний рівень роботи. Кваліфікаційна робота складається зі вступної частини, огляду літератури, розділу експериментальних досліджень. Мета і завдання дослідження сформовані чітко і спрямовані на комплексне вирішення досліджуваної проблеми. У роботі чітко інтерпретовані результати дослідження і сформульовані відповідні висновки.

Пропозиції автора з теми дослідження. Отримані дані молекулярного докінгу можуть бути використані при плануванні експериментального скринінгу на ноотропну активність та при наданні рекомендацій для оптимізації пошуку майбутніх ноотропних кандидатів.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість.

Одержані значення молекулярної стиковки свідчать, що активність досліджуваних молекул щодо мускаринового та нікотинового ацетилхолінових рецепторів може бути реалізована за рахунок утворення між ними комплексів, стабільність яких забезпечується за рахунок енергетично вигідного геометричного розташування протестованих молекул в активних сайтах рецепторів. Результат такої стиковки підтверджується високими абсолютними значеннями скорингової функції (Affinity DG, ккал/моль), значеннями вільної енергії EDoc (ккал/моль) і констант зв'язування K_i (мкМ). Детальний аналіз геометричного розташування досліджуваних молекул в активному сайті рецептора свідчить, що в утворенні комплексів беруть участь однаковий набір амінокислотних залишків з відповідними ключовими фрагментами тестованих сполук.

Недоліки роботи. У роботі зустрічаються невелика кількість граматичних помилок. Представлені зауваження не принципові і суттєво не впливають на наукову і практичну цінність кваліфікаційної роботи..

Загальний висновок і оцінка роботи. Кваліфікаційна робота Анни РІЗНИЧЕНКО на тему: «Оптимізація пошуку ноотропних агентів, що містять заміщені пірролідинові та 1,2,4-тріазаольні каркаси» може бути рекомендована до офіційного захисту у Екзаменаційній комісії Національного фармацевтичного університету а її автор заслуговує на високу оцінку.

Рецензент _____

доц. Ганна СЕВЕРІНА

«16» грудня 2022 р.

ВИТЯГ

з протоколу засідання кафедри медичної хімії

№ 5 від 23 грудня 2022 р.

ПРИСУТНІ:

проф. Ліна ПЕРЕХОДА, 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 фармацевтичних технологій та менеджменту Фс18(4,5з)мед-02б (226 Фармація, промислова фармація освітньої програми Фармація) Анни РІЗНІЧЕНКО на тему: «Оптимізація пошуку ноотропних агентів, що містять заміщені пірролідінові та 1,2,4-тріазаольні каркаси».

СЛУХАЛИ: доповідь здобувача вищої освіти факультету фармацевтичних технологій та менеджменту Фс18(4,5з)мед-02б Анни РІЗНІЧЕНКО на тему: «Оптимізація пошуку ноотропних агентів, що містять заміщені пірролідінові та 1,2,4-тріазаольні каркаси», керівник доцент каф. медичної хімії, к.фарм.н., Маргарита СУЛЕЙМАН

УХВАЛИЛИ: рекомендувати кваліфікаційну роботу Анни РІЗНІЧЕНКО до офіційного захисту в Екзаменаційній комісії.

Зав. 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 здобувачка вищої освіти Анна РІЗНІЧЕНКО до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «Оптимізація пошуку ноотропних агентів, що містять заміщені пірролідинові та 1,2,4-тріазаольні каркаси».

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Наталія ЖИВОРА /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувачка вищої освіти Анна РІЗНІЧЕНКО за час виконання експерименту і узагальнення отриманих результатів проявила себе кваліфікованим спеціалістом. Роботу виконала вчасно, має добру практичну та теоретичну підготовку. Кваліфікаційна робота може бути рекомендована до захисту в Екзаменаційній комісії.

Керівник кваліфікаційної роботи

Маргарита СУЛЕЙМАН

«07» грудня 2022 р.

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувачка вищої освіти Анна РІЗНІЧЕНКО допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри
медичної хімії

Ліна ПЕРЕХОДА

« 23 » грудня 2022 року

Кваліфікаційну роботу захищено
у Екзаменаційній комісії
«08» лютого 2023 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії,
доктор фармацевтичних наук, професор

_____ / Володимир ЯКОВЕНКО /