

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
факультет фармацевтичних технологій та менеджменту
кафедра медичної хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: «ПРОГНОЗУВАННЯ НАПРЯМКІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ
ПОТЕНЦІЙНОГО АНКСІОЛІТИКА
N-[(2-МЕТИЛ-4-ОКСО-1Н-ХІНОЛІН-3-ІЛ)МЕТИЛ]-
N-ФЕНІЛ-2-ХЛОРБЕНЗАМІДУ»

Виконав: здобувач вищої освіти групи Фм21(1,5з)-01а
спеціальності 226 Фармація, промислова фармація
освітньої програми Фармація
Антон ЧЕРНЕЦЬКИЙ

Керівник: доцент закладу вищої освіти кафедри
медичної хімії, д.фарм.н., доцент Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ

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

АНОТАЦІЯ

Проведено комп'ютерне прогнозування можливих шляхів біотрансформації потенційного анксиолітика з ноотропними властивостями N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду. Найбільш імовірними шляхами біотрансформації є ароматичне гідроксилювання за участю атомів карбону гетероциклічної системи хінолону, фенільного замісника та бензамідного фрагменту, гідроліз бензамідного фрагменту, окиснювальне дезамінування амінометильного фрагменту в положенні 3 та окиснення метильної групи в положенні 2 хінолонового кільця. Прогнозовані напрямки аліфатичного гідроксилювання за метильною групою в положенні 2 гетероциклу до похідних кінуренової кислоти та дебензоїлювання з утворенням 2-метил-3-(феніламінометил)-1H-хінолін-4-ону (атристаміну) свідчать, що доведені фармакодинамічні ефекти можуть частково забезпечуватись саме цими фармакологічно активними метаболітами.

Ключові слова: N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензамід, метаболізм, біотрасформація, комп'ютерне прогнозування, онлайн системи, фармакологічна активність..

ANNOTATION

The computer prediction of possible ways of biotransformation of a potential anxiolytic with nootropic properties N-[(2-methyl-4-oxo-1H-quinoline-3-yl)methyl]-N-phenyl-2-chlorobenzamide was carried out. The most likely pathways of biotransformation are aromatic hydroxylation involving carbon atoms of the quinolone heterocyclic system, phenyl substituent and benzamide fragment, hydrolysis of the benzamide fragment, oxidative deamination of the aminomethyl fragment at position 3 and oxidation of the methyl group at position 2 of the quinolone ring. The predicted directions of aliphatic hydroxylation of the methyl group at position 2 of the heterocycle to kynurenic acid derivatives and debenzoylation with the formation of 2-methyl-3-(phenylaminomethyl)-1H-quinolin-4-one (atristamine) suggest in favor of the hypothesis that proven pharmacodynamic effects may be partially provided by these pharmacologically active metabolites.

Key words: N-[(2-methyl-4-oxo-1H-quinolin-3-yl)methyl]-N-phenyl-2-chlorobenzamide, metabolism, biotransformation, computer prediction, online systems, pharmacological activity.

ЗМІСТ

	Стор.
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО КОМП'ЮТЕРНОГО ПРОГНОЗУВАННЯ МЕТАБОЛІЗМУ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН В ОРГАНІЗМІ ЛЮДИНИ (Огляд літератури)	7
1.1. Місце методів комп'ютерного прогнозування метаболізму в розробці лікарських засобів	7
1.2. Підходи <i>in silico</i> до прогнозування біотрансформації молекул	9
1.2.1. Прогнозування на основі кількісних взаємозв'язків "структура-активність" та підходи машинного навчання	9
1.2.2. Структурні обчислювальні підходи	15
1.3. Застосування розроблених <i>in silico</i> інструментів для прогнозування метаболічних шляхів лікарських засобів	19
1.3.1. Прогнозування перетворення лікарських засобів у токсичні метаболіти	19
1.3.2. Прогнозування ферментативних реакцій лікарських засобів та ферментів	20
1.3.3. Прогнозування взаємодій "лікарська молекула – мішень" на основі концепції фармакологічного простору	21
1.4. Проблеми, пов'язані з побудовою прогнозних моделей	22
<i>Висновки до розділу 1</i>	24
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	25
2.1. Синтез N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду	25
2.2. Фармакологічні властивості N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду	27
2.3. Застосовані онлайн системи комп'ютерного прогнозування метаболізму	31
<i>Висновки до розділу 2</i>	41
РОЗДІЛ 3. ПРОГНОЗУВАННЯ НАПРЯМКІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ ПОТЕНЦІЙНОГО АНКСІОЛІТИКА N-[(2-МЕТИЛ-4-ОКСО-1H-ХІНОЛІН-3-ІЛ)МЕТИЛ]-N-ФЕНІЛ-2-ХЛОРБЕНЗАМІДУ	42
<i>Висновки до розділу 3</i>	56
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	58
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	60

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ADME/Tox	Параметри абсорбції, розподілу, метаболізму, виведення та токсичності
AUC	Площа під кривою "концентрація – час" у плазмі крові
CYP	Ферменти цитохрому P450
FDA	Food and Drug Administration, USA
IC ₅₀	Середня інгібуюча концентрація
<i>in silico</i>	Методи дослідження із застосуванням математичних розрахункових методів
<i>in vitro</i>	Методи дослідження із застосуванням клітинних культур
<i>in vivo</i>	Методи дослідження в живому організмі
K _i	Константа інгібування
K _m	Константа Міхаеліса
LOO	Перехресна перевірка без вилучення
QSAR	Моделі співвідношення структура-активність
SOM	Сайт метаболізму
UGT	Уридиндифосфат-глюкурононілтрансферази
AA	Антиамнестична активність
ВП	Відкрите поле
АФІ	Активний фармацевтичний інгредієнт
НГТГ	Нормобарична гіпоксична гіпоксія з гіперкапнією
ПХЛ	Піднесений хрестоподібний лабіринт
УРПУ	Умовна реакція пасивного уникнення

ВСТУП

Актуальність теми. Кваліфікаційна робота присвячена дослідженню можливих шляхів біотрансформації N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду як перспективного кандидата в АФІ з анксиолітичними та ноотропними властивостями. З метою зменшення ризиків відкликання сполук-кандидатів у ліки на стадії клінічних випробувань внаслідок несприятливих метаболічних характеристик молекул необхідні ефективні та надійні способи прогнозування метаболізму молекули біологічно активної сполуки *in silico*, *in vitro* та *in vivo*. Експериментальні дослідження можливих шляхів біотрансформації нових молекул *in vitro* та *in vivo* завжди є нетривіальними та ресурсозатратними задачами. Підходи *in silico* все частіше використовуються для прогнозування метаболічного перетворення лікарських засобів і вважаються найкращою стратегією «відмовитися рано і відмовитися дешево», що дозволяє знизити витрати, заощадити час і, таким чином, зменшити рівень «провалів» на пізніх стадіях відкриття лікарських засобів. Обрана тематика кваліфікаційної роботи спрямована на вирішення цих питань, що визначає її актуальність.

Мета дослідження. Прогнозування можливих шляхів біотрансформації потенційного анксиолітика з ноотропними властивостями N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду.

Для досягнення мети були поставлені наступні **завдання**:

1. Провести систематизацію та аналіз наукової літератури, присвяченої основним математичним та статистичним підходам та методам, які застосовуються для прогнозування можливих шляхів метаболізму хімічних речовин в організмі людини.

2. Провести комп'ютерне прогнозування можливих шляхів біотрансформації перспективної сполуки – N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду (лабораторний шифр VAZ16_p10) із застосуванням п'яти різних онлайн ресурсів, що знаходяться у вільному доступі.

3. На основі систематизації одержаних результатів визначити основні можливі шляхи біотрансформації N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-

N-феніл-2-хлорбензаміду.

4. На основі аналізу співпадінь та розбіжностей у результатах, одержаних за допомогою різних програмних продуктів, визначити співвіднесеність основних трендів у напрямках біотрансформації.

Об'єкт дослідження. Перспективний анксиолітик з ноотропними та анксиолітичними властивостями N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензамід.

Предмет дослідження. Можливі шляхи метаболізму N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду в організмі людини.

Методи дослідження:

1. Аналіз та систематизація наукової та патентної літератури.
2. *In silico* прогнозування можливих шляхів біотрансформації ксенобіотиків в організмі людини.
3. Методи екстраполяції та візуалізації результатів прогнозування можливих метаболітів.

Практичне значення отриманих результатів. Одержані результати дослідження розширюють знання щодо можливих шляхів метаболізму N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду, речовини що є перспективним анксиолітиком з ноотропними властивостями. Одержані результати можуть значно розширити та поглибити розуміння як фармакодинамічних, так і фармакокінетичних особливостей перспективного кандидата в АФІ за умов подальшого поглибленого фармакологічного дослідження та впровадження сполуки в медичну практику.

Елементи наукових досліджень. Уперше проведено комп'ютерне прогнозування можливих шляхів біотрансформації перспективного кандидата в АФІ з анксиолітичними та ноотропними властивостями.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи. Кваліфікаційна робота складається зі вступу, 3 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел (81 найменування). Загальний обсяг роботи – 59 сторінок. Робота містить 2 схеми, 3 таблиці та 16 рисунків.

РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО КОМП'ЮТЕРНОГО ПРОГНОЗУВАННЯ МЕТАБОЛІЗМУ ЛІКАРСЬКИХ РЕЧОВИН В ОРГАНІЗМІ ЛЮДИНИ (Огляд літератури)

1.1 Місце методів комп'ютерного прогнозування метаболізму в розробці лікарських засобів

Оскільки наше розуміння метаболічних реакцій, що визначають долю лікарських засобів, останнім часом значно поглибилось, метаболізм лікарських засобів привертає все більшу увагу як критичний фактор у відкритті лікарських засобів [1, 2]. Доля таких речовин, як ліки та ксенобіотики, що вводяться в наш організм, значною мірою регулюється трьома фазами метаболізму лікарських засобів: фаза I, введення реакційноздатної групи шляхом окислення, відновлення або гідролізу, серед інших; фаза II, кон'югація з різними фрагментами; і фаза III, виведення ксенобіотиків і метаболітів з клітин печінки і кишечника. Ці процеси трансформації можуть перетворювати сполуки на неактивні, активні або токсичні метаболіти. Не дивно, адже він відповідає за кліренс ~70% клінічних лікарських засобів, метаболізм інтенсивно досліджується в рамках зусиль з розробки лікарських засобів [3].

Природні сполуки останнім часом привертають значну увагу дослідників завдяки притаманним їм перевагам та високому потенціалу в якості кандидатів у лікарські засоби [4]. Більше того, структурна подібність деяких природних сполук до метаболітів, що знаходяться в організмі людини, робить метаболізм критичним фактором у визначенні ефективності природних лікарських засобів [5]. Наприклад, історичні кандидати в опіодні препарати метаболізуються в більш потужні метаболіти, такі як (дигідро)кодеїн, який, у свою чергу, метаболізується в (дигідро)морфін [6]. Враховуючи велику кількість ендогенних ферментативних реакцій, які впливають на модифікацію лікарських засобів шляхом (де)активації та (де)токсикації, визначення того, як

метаболізується лікарський засіб, є важливим кроком у відкритті лікарських засобів.

В останні десятиліття для вивчення метаболізму та долі лікарських засобів використовуються численні експериментальні технології [7, 8]. Традиційний метод відкриття лікарських засобів – "від мішені до мішені", "від мішені до ліда" та оптимізація ліда – є дорогим, коштуючи понад 200 млн. доларів США для середнього препарату, і трудомістким, з типовим періодом відкриття 4-5 років [9]. Крім того, через неможливість точного відтворення біологічних середовищ *in vivo*, такі методи є відносно неточними і досі вважаються низькопродуктивними, враховуючи масштаби комбінаторних структурних варіацій хімічних сполук.

В рамках зусиль з відкриття лікарських засобів було досягнуто численних успіхів у прогнозуванні метаболізму лікарських засобів з використанням підходів *in silico*, і були розглянуті різні аспекти цих успіхів [10-14]. До них відносяться інструменти для прогнозування метаболізму лікарських засобів, засновані на взаємодії лікарських засобів з ферментами цитохрому P450 (CYP450) та їх кінцевими точками метаболізму [12, 14], інструменти для прогнозування ADMET (абсорбція, розподіл, метаболізм, виведення та токсичність) властивостей лікарських засобів та пов'язаної з ними розчинності, проникності та біодоступності [10], а також підходи до прогнозування індуктивності лікарських метаболізуючих ферментів і транспортерів, які впливають на концентрацію лікарських засобів у плазмі крові, що може спричинити небажану або пролонговану дію чи побічні ефекти [13].

З огляду на ці спостереження, підходи *in silico* все частіше використовуються для прогнозування метаболічного перетворення лікарських засобів [15] і як такі вважаються найкращою стратегією "відмовитися рано і відмовитися дешево", що дозволяє знизити витрати, заощадити час і, таким чином, зменшити рівень відтоку на пізніх стадіях відкриття лікарських засобів.

1.2 Підходи *in silico* до прогнозування біотрансформації молекул

1.2.1 Прогнозування на основі кількісних взаємозв'язків "структура-активність" та підходи машинного навчання

Концепція кількісного взаємозв'язку структура-активність (QSAR), розроблена на початку 1960-х років Hansch/Fujita [16] та Free/Wilson [17] і широко використовується при створенні лікарських засобів, передбачає, що молекули зі схожою структурою потенційно проявляють подібну хімічну та біологічну активність [18]. Початкова концепція взаємозв'язку структура-активність бере свій початок у 1868 році, коли Крам-Браун і Фрейзер представили ідею кореляції хімічного складу певної сполуки з її фізіологічними властивостями в біологічних системах [19]. Моделі на основі QSAR широко використовуються на етапі оптимізації розробки лікарських засобів для оцінки різних властивостей лікарських засобів (зокрема, токсичності) і, як наслідок, зменшення кількості перспективних сполук-лідерів, виявлених за допомогою скринінгу, що в кінцевому підсумку мінімізує час, витрати і трудовитрати. Регламент Європейської комісії (REACH: Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals) [20] допускає використання різних підходів, таких як QSAR, за умови доведення високої надійності результатів [21].

Підхід QSAR використовує експериментальні набори даних, що включають біологічну активність хімічних сполук, їх хімічні та фізичні характеристики, представлені у вигляді молекулярних дескрипторів [22], та статистичні методи для кореляції цих молекулярних дескрипторів з біологічною активністю [23] (рис. 1.1). Молекулярні дескриптори є арифметичними величинами, що відображають фізико-хімічні властивості сполук, і можуть бути класифіковані на 1D, 2D або 3D дескриптори, залежно від наданого обсягу/типу інформації. Найбільш поширеними типами дескрипторів, що використовуються в QSAR, є конституційні, електронні, топологічні та геометричні дескриптори, які включають молекулярну масу,

загальну кількість атомів, загальну кількість атомів вуглецю, атомну сітку, загальну кількість зв'язків та площу Ван-дер-Ваальса, серед інших. Для обчислення молекулярних дескрипторів доступний широкий спектр програмного забезпечення та веб-інструментів, як показано в таблиці 1.1; існують також різні системи QSAR з власними інтегрованими генераторами дескрипторів, включаючи CASE Ultra (<http://www.multicase.com/case-ultra>) та Leadscope (<http://www.leadscope.com/>).

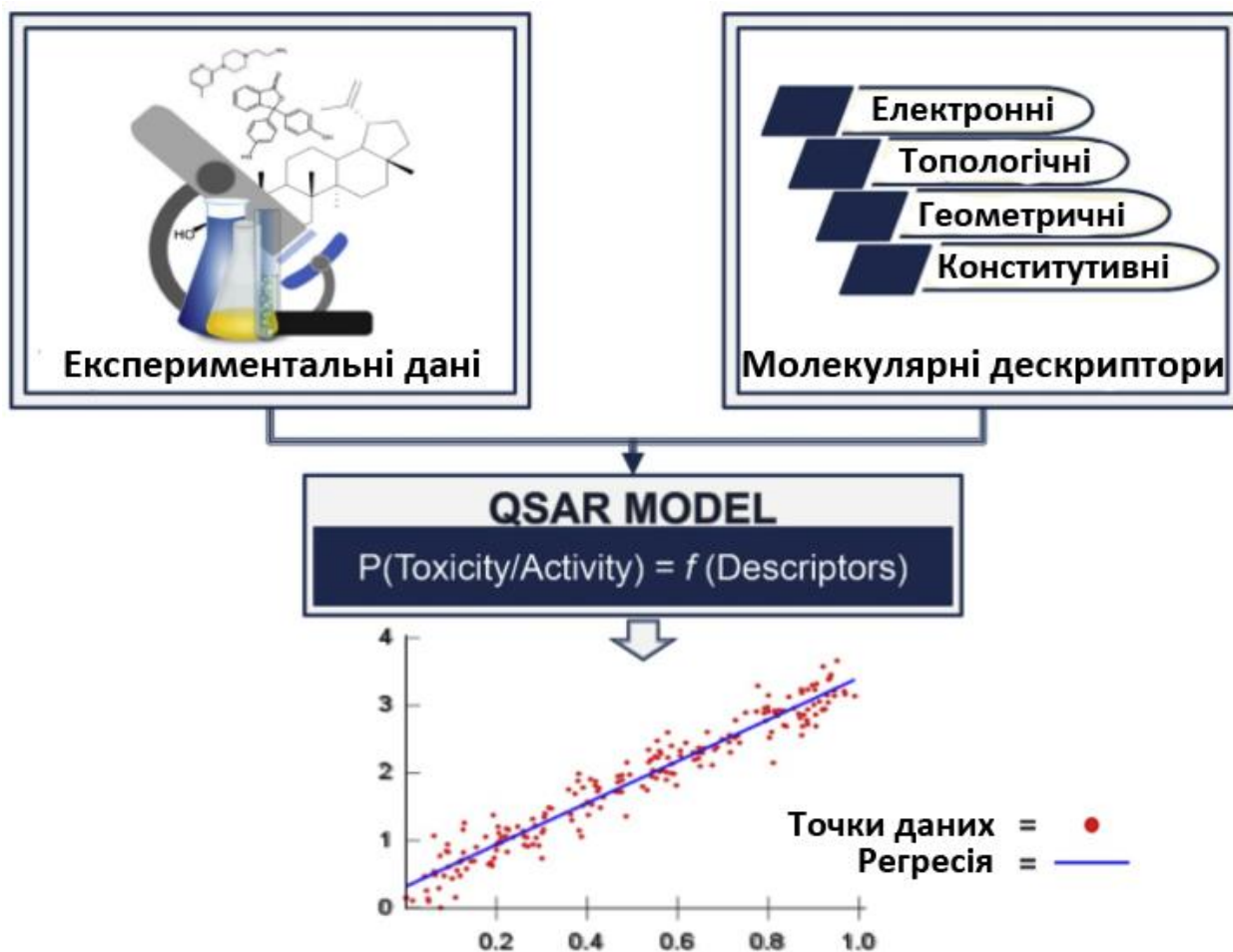


Рис. 1.1 QSAR підхід до *in silico* прогнозування

Як правило, QSAR, які прогнозують метаболічне перетворення ендогенних або екзогенних сполук, побудовані для печінкових ферментів сімейства CYP450 (які метаболізують більшість лікарських засобів у токсичні хімічні сполуки [24]) і відомі своєю надійністю в прогнозуванні токсичності; як такі, вони надають цінну інформацію для широкомасштабного віртуального скринінгу ефективності лікарських засобів.

Таблиця 1.1

Перелік основних онлайн-систем для розрахунків молекулярних дескрипторів

Назва програми	Операційна система	Кількість дескрипторів	Ліцензія
ADAPT ^a	Unix/Linux	265	Free
ADMET Predictor ^b (PCB module)	Windows	297	Commercial
ChemAxon ^c (Calculator plugins)	Windows/Unix/Linux	> 500	Commercial
Codessa ^d	Windows	> 1400	Commercial
Corina Symphony ^e	Windows	786	Commercial
DRAGON 7.0 ^f	Windows/Unix/Linux	5270	Commercial
E-Dragon ^g	Web service	1666	Free
MOE ^h	Windows/Unix/Linux	> 400	Commercial
Molconn-Z ⁱ	Windows/Unix/Linux	> 1000	Commercial
MOLGEN QSPR ^j	Windows	708	Commercial
PaDEL-descriptor (CDK) ^k	Java JRE	1875	Free
PowerMV ^l	Windows	122	Partially Free ^m
PreADMET ⁿ	Windows	955	Commercial
Open Babel ^o	Windows/Linux	> 20	Free
QikProp ^p	Windows/Linux	> 20	Commercial
ACD Labs/Percepta ^q	Web service & modules	> 40	Free
MOPAC ^r	Windows/Linux	24	Free
EPI Suite ^s	Windows	13	Free

^a <http://research.chem.psu.edu/pcjgroup/adapt.html>

^b <http://www.simulations-plus.com/software/admet-property-prediction-qsar/>

^c <https://www.chemaxon.com/products/>

^d <http://www.codessa-pro.com/>

^e <https://www.mn-am.com/products/corinasymphony>

^f https://chm.kode-solutions.net/products_dragon.php

^g <http://www.vcclab.org/lab/edragon/>

^h http://www.chemcomp.com/MOE-Cheminformatics_and_QSAR.htm

ⁱ <http://www.edusoft-lc.com/molconn/>

^j <http://molgen.de/download.html>

^k <http://www.yapcsoft.com/dd/padeldescriptor/>

^l <https://www.niss.org/research/software/powermv>

^m Commercial affiliates available

ⁿ <https://preadmet.bmdrc.kr/>

^o <http://openbabel.org>

^p <https://www.schrodinger.com/qikprop>

^q <https://www.acdlabs.com/products/percepta/>

^r <http://openmopac.net/>

^s <https://www.epa.gov/tsca-screening-tools/download-epi-suitetm-estimation-program-interface-v411>

У таблиці 1.2 перераховані загальні моделі на основі QSAR, побудовані для прогнозування реакцій метаболізму лікарських засобів. Декілька інших моделей, перелічених у таблиці (наприклад, IDsite, SMARTcup), також можуть передбачити місце, на якому відбувається метаболічне перетворення в хімічній сполуці. Крім того, база даних CQSAR, створена в 2003 році і доступна для користувачів [25], містить понад 18000 рівнянь QSAR і пов'язаних з ними біофізичних даних.

Банк даних QSAR, ще один репозиторій, який архівує *in silico* описові та прогнозні моделі типу QSAR, дозволяє дослідницькій спільноті ділитися та представляти свої дані QSAR [26]. QSAR використовувалися з ранньої епохи відкриття лікарських засобів, але їх застосування було обмежено лише невеликими лінійними наборами даних. Однак, вдосконалені методи, засновані на прямого скорингу та/або алгоритмів машинного навчання, які здатні моделювати складні нелінійні масиви даних, стали застосовуватися останнім часом [27].

Швидкий прогрес у розробці нових методів машинного навчання в комп'ютерних науках надихнув на розробку тисяч QSAR-моделей для точного прогнозування метаболізму лікарських засобів, які базуються на методах, відмінних від лінійної та множинної лінійної регресії [20, 28]. Машинне навчання, що визначається як обчислювальний метод, який навчається на основі набору тестових даних для побудови моделі для класифікації невідомих даних [29], в першу чергу використовувалося для розробки QSAR моделей [30]. Застосування підходів машинного навчання в сучасному «drug discovery» дозволило прискорити процес сканування та відсіювання неефективних сполук, досягнувши значного скорочення часу та витрат у порівнянні з експериментальними методами скринінгу [31]. Машинне навчання краще підходить для вилучення непараметричних і нелінійних взаємозв'язків з наборів даних, що дозволяє розробляти моделі *in silico* з кращими прогностичними характеристиками [32].

Перелік основних онлайн-систем для прогнозування метаболізму ліків

Програма	Операційна система	Мішень в організмі	Ліцензія
ADME WORKS Predictor ^a	Windows/Linux	CYP450 isoforms ^b	Commercial
ADMET Predictor ^c (Metabolism module)	Windows	CYP450 isoforms ^d	Commercial
admetSAR ^e	Web service	CYP450 isoforms ^f and P-glycoprotein	Free
PreADMET ^g	Web service Windows (PC version)	CYP450 isoforms ^h and P-glycoprotein	Free (Web service) Commercial (PC version)
SMARTCyp ⁱ	Web service	CYP450 isoforms ^j	Free
SOMP (Way2Drug) ^k	Web service	CYP450 isoforms ^l and UDP-glucuronosyltransferase	Free
MetaSite ^m	Windows/Linux	CYP450, FMO3, and AOX1	Commercial
RS-WebPredictor ⁿ	Web service	CYP450 isoforms ^o	Free
Meteor Nexus ^p	Windows	User query structure	Commercial
ACD Labs/Percepta ^q	Windows/Linux	User 2D structure/SMILE	Commercial
MetabolExpert ^r	Windows/Linux	User 2D structure/SMILE	Commercial
Meta-PC ^s	Unix/Linux	Query chemical structure	Commercial
syGMA ^t	Windows/Linux	Query chemical structure	Free (for academic institutions)
TIMES ^u	Unix/Linux	User query structure	Commercial
MetaPath (OASIS) ^v	Unix/Linux	User query structure	Commercial
IDSite ^w	–	CYP isoform 2D6	–
Metabolizer (ChemAxon) ^x	Windows/Linux	User query structure	Commercial
MetaDrug ^y	Unix	Small molecule compounds	Commercial

a <http://www.fqs.pl/en/chemistry/products/admeworks-predictor>

b 2D and 3A4

c <http://www.simulations-plus.com/software/admet-property-prediction-qsar/metabolism/>

d 1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C19, 2C9, 2D6, 2E1, and 3A4

e <http://lmm.d.ecust.edu.cn:8000/>

f 1A1, 1A2, 2A5, 2C9, etc.

g <https://preadmet.bmdrc.kr/>

h 2C9, 2C19, 2D6, and 3A4

i <https://smartcyp.sund.ku.dk/>

j 3A4 isoform

k <http://www.way2drug.com/SOMP/>

l 1A2, 2C9, 2C19, 2D6 and 3A4

m <http://www.moldiscovery.com/software/metasite/>

n <http://reccr.chem.rpi.edu/Software/RS-WebPredictor/>

o 2C9, 2D6, 3A4, 1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C19 and 2E1

p <https://www.lhasalimited.org/products/meteor-nexus.htm>

q <https://www.acdlabs.com/products/percepta/>

r <http://www.compudrug.com/metabolexpert>

s <http://www.multicase.com/meta-pc>

t <https://sygma.readthedocs.io>

u <http://oasis-lmc.org/products/software/times.aspx>

v <http://oasis-lmc.org/products/software/metapath.aspx>

w <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ct200462q>

x <https://docs.chemaxon.com/display/docs/Metabolizer>

y <https://portal.genego.com/>

Кілька методів машинного навчання (наприклад, нейронна мережа, дерево рішень, машина опорних векторів, k-найближчого сусіда) були успішно використані для побудови більш точних QSAR моделей [33], які отримують набір дескрипторів з великого набору даних на вході і створюють модель класифікації, яка прогнозує біологічну активність запитуваної сполуки на виході.

В даний час машинне навчання широко використовується в області комп'ютеризованого відкриття ліків, що дозволяє прогнозувати взаємодію між лігандом і білком-мішенню, а отже, полегшує розробку нових лікарських засобів [34]. Він також спрямований на прогнозування ADMET властивостей лікарських засобів, що в кінцевому підсумку полегшує розробку безпечних і перспективних агентів [35]. Метаболізм лікарських засобів розбивається на кілька фаз, кожна з яких має численні ферменти, які відіграють певну роль у метаболізмі препарату, тому було побудовано велику кількість моделей машинного навчання для класифікації долі лікарського засобу на основі того, чи буде препарат метаболізуватися певними ферментами чи ні [35].

Останнім часом підвищена увага приділяється прогнозуванню токсичності лікарських засобів за допомогою інших методів машинного навчання, таких як нейронні мережі та глибоке навчання [36], які передбачають використання потужних багатосарових взаємопов'язаних нейронних мереж, що складаються з одиниць обробки, які позначаються як вузли [37]. Прикладами архітектур, що використовуються для прогнозування біологічної активності, є згорткові, автокодерні та рекурентні нейронні мережі [38]. Швидке збільшення обсягу фармацевтичних даних і обчислювальних потужностей надихнуло на застосування нейронних мереж і глибокого навчання в різних областях, включаючи біоінформатику [39], хімічну інформатику [40], прогнозування структури [41] і відкриття ліків [42].

Поява комп'ютерного прогнозування є важливим поворотним моментом в історії відкриття лікарських засобів, оскільки для прогнозування токсичності лікарських засобів зараз доступний ряд моделей, заснованих на машинному

навчанні [43]. Однак їх застосування все ще обмежене такими недоліками, як тенденція до надмірної підгонки даних та труднощі у виборі відповідного алгоритму та дескрипторів для проблеми з-поміж наявних [44]. Надмірно підігнана модель виникає тоді, коли модель є занадто складною або кількість ознак/дескрипторів є занадто великою порівняно з розміром набору даних. Ці проблеми призводять до упередженої моделі, яка добре працює на навчальному наборі даних, що використовується для побудови моделі, але не здатна точно прогнозувати з використанням зовнішніх наборів даних [45].

1.2.2 Структурні обчислювальні підходи

Ідентифікація структурних властивостей білка дає уявлення про його біологічну активність і дозволяє розробляти ефективні ліганди для його зв'язування. Часто метаболічні реакції відбуваються на ділянці, де ліганд зв'язується з білком-мішенню. Ця ділянка багато говорить нам про метаболічну долю препарату, а отже, про те, чи буде препарат терапевтично активним, неактивним або токсичним. Він також часто надає інформацію, яка допомагає оптимізувати сполуки-лідери.

На сьогоднішній день структурні підходи є одними з найуспішніших і найбільш визнаних методологій, що використовуються в різних областях фармацевтичних досліджень для розробки лікарських засобів [46]. Ці сучасні методи включають такі методи, як комп'ютерний докінг і молекулярна динаміка, які інтенсивно використовуються для вивчення метаболізму лікарських засобів шляхом ідентифікації місця метаболізму [47] і молекулярних взаємодій, інформації, яка вносить значний внесок у процес відкриття лікарських засобів [48].

Метод докінгу розглядає взаємодію між малою молекулою та активним центром на білку-мішені і прогнозує афінність їхніх зв'язуючих взаємодій, виходячи з їхньої докінгової орієнтації та сил, що взаємодіють між ними. Білок-лігандні взаємодії моделюються за допомогою потужних обчислювальних засобів, таких як алгоритми докінгу [49], реалізовані в

програмних пакетах AutoDock Vina, GOLD, DOCK, які передбачають найбільш сприятливу реакцію. Побудова цих моделей базується на припущенні, що структурна інформація тісно пов'язана з метаболічною долею препарату [50]. Докінговий підхід широко використовується для швидкої ідентифікації перспективних сполук свинцю з великих бібліотек сполук. Взаємодія ліганд-білок часто вимагає структурних змін для досягнення кращої взаємодії, і може бути змодельована за допомогою моделювання молекулярної динаміки. Таким чином, моделювання молекулярної динаміки часто використовується в поєднанні з алгоритмами докінгу для подальшого вдосконалення докінгових комплексів з урахуванням інших параметрів, таких як вплив розчинника, що дозволяє отримати більш точні кандидати в лікарські засоби; вони також використовуються для прогнозування місця метаболізму. У таблиці 1.3 наведені деякі з найпоширеніших інструментів, що використовуються для моделювання докінгу білок-ліганд.

Незважаючи на свої численні переваги, структурні підходи вимагають високих обчислювальних потужностей для моделювання структурної гнучкості. Процеси розрахунку енергії зв'язування та оцінки конформації докінгу вимагають різних методів, які можуть займати від декількох секунд до декількох днів, що робить ці розрахунки обчислювально дорогими. Крім того, білок-мішень та його ліганд можуть зазнавати структурних змін для адаптації своїх структур до відповідного конформаційного стану [51]; таким чином, отримання точної модельної репліки все ще залишається складним завданням. Однак для підвищення точності моделювання були використані додаткові методи, такі як використання бібліотек ротамерів [52] або моделювання м'якого докінгу [53].

Перелік основних інструментів для моделювання білок-лігандного докінгу

Програма	Операційна система	Ліцензія
AutoDock Vina ^a	Windows/Linux/Unix	Free Open source
BetaDock ^c	Linux	Free
BSP-SLIM ^d	Web service	Free
DOCK 6.8 ^e	Windows/Linux/Unix	Free Open source
Docking Server ^f	Web service	Partially Free ^g
FlexAID ^h	Windows/Linux/Unix	Free Open source
Glide ^j	Windows/Linux/Unix	Commercial
GOLD Suite ^k	Windows/Linux	Commercial
idTarget ^l	Web service	Free
MOE ^m	Windows/Unix/Linux	Commercial
MOLS 2.0 ⁿ	Java	Free Open source
ParDock ^o	Web service	Free
rDock ^p	Linux	Free Open source
SwissDock ^q	Web service	Free
Virtual ToxLab ^f	Windows/Unix/Linux	Free (for academic institutions)

a <http://vina.scripps.edu/>

b <https://www.worldcommunitygrid.org/>

c <http://voronoi.hanyang.ac.kr/software.htm>

d <http://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/BSP-SLIM/>

e http://dock.compbio.ucsf.edu/DOCK_6/index.htm

f <http://www.dockingserver.com/web>

g Commercial premium licenses

h <http://biophys.umontreal.ca/nrg/NRG/FlexAID.html>

i <http://sw16.im.med.umich.edu/databases/pdbbind/index.jsp>

j <https://www.schrodinger.com/glide>

k <https://www.ccdc.cam.ac.uk/solutions/csd-discovery/components/gold/>

l <http://idtarget.rcas.sinica.edu.tw/>

m <https://www.chemcomp.com/MOE-Structure Based Design.htm>

n <https://sourceforge.net/projects/mols2-0/>

o <http://www.scfbio-iitd.res.in/dock/pardock.jsp>

p <http://rdock.sourceforge.net/>

q <http://www.swissdock.ch/>

r <http://www.biograf.ch/index.php?id=projects&subid=virtualtoxlab>

Бібліотеки ротамерів використовуються для прогнозування найбільш придатних конформацій бічних ланцюгів і видалення несприятливих конформацій, що призводить до вибору низькоенергетичних конформацій бічних ланцюгів і, таким чином, підвищує точність моделювання і скорочує час моделювання. М'який докінг може бути виконаний з використанням функцій м'якого підрахунку балів для внесення незначних змін у конформацію білкових рецепторів, підхід, який, як відомо, є ефективним з точки зору обчислень [54].

Підходи докінгу ретельно застосовуються для прогнозування токсичності лікарських засобів *in silico*, що дозволяє ідентифікувати зв'язування сполук-лідерів з несприятливими білками та прогнозувати небажані побічні ефекти та наслідки [55]. Наприклад, використовуючи докінг-симуляцію, *Ji et al.* здійснили пошук потенційних білкових партнерів для зв'язування 11 антиретровірусних препаратів серед 147 відомих білків, пов'язаних з побічними реакціями, депонованих у базі даних DART (Drug Adverse Reaction Target – мішень побічних реакцій) для прогнозування несприятливих наслідків застосування препаратів. Вони підтвердили, що прогнозовані білки, пов'язані з побічними реакціями лікарських засобів, які викликали побічні/токсичні ефекти, відповідали зареєстрованим побічним реакціям, що виникали в результаті взаємодії лікарського засобу з мішенню [56]. У 2011 році такий самий підхід було застосовано для прогнозування токсичності меламіну та його основного похідного – ціанурової кислоти. Цей аналіз визначив потенційні білки-мішені, пов'язані з токсичністю, та надав детальне розуміння механізму токсичності. Зокрема, на додаток до нефротоксичності, було передбачено, що меламін також чинить токсичну дію на легені [57]. Таким чином, стратегія комп'ютерного докінгу може суттєво полегшити прогнозування токсичності лікарських засобів.

Незважаючи на значний прогрес у відкритті ліків, досягнутий за допомогою структурно-орієнтованих підходів, широкому використанню цієї стратегії перешкоджають численні обмеження, не останнє з яких – проблема

проліків та їх метаболічного перетворення в іншу активну сполуку (сполуки) [58]. Наприклад, для надійного прогнозування метаболічної долі певного препарату необхідні експериментальні структурні дані з високою роздільною здатністю для всіх білків-мішеней (наприклад, ферментів). Крім того, аналізу білок-лігандних комплексів (а отже, точному прогнозуванню реакції) перешкоджає структурна гнучкість білків.

1.3 Застосування розроблених *in silico* інструментів для прогнозування метаболічних шляхів лікарських засобів

1.3.1 Прогнозування перетворення лікарських засобів у токсичні метаболіти

Метаболізм ксенобіотиків, таких як лікарські засоби та інші чужорідні речовини, включає певні важливі ферментативні реакції, зокрема ті, що опосередковуються ферментами родини CYP450, які експресуються в печінці та тонкому кишечнику. За даними літератури, ~90% лікарських засобів можуть ефективно метаболізуватися шістьма ферментами CYP450 [59], активність яких може змінюватися під впливом таких факторів, як генетичні поліморфізми, регуляція цитокінів, стан захворювання, стать, вік та гормони [60]. Іншим прикладом є мембранозв'язаний Р-глікопротеїн (кодується геном мультирезистентності-1), який експресується в різних тканинах, включаючи кишковий епітелій, клітини печінки та клітини, що утворюють гематоенцефалічний бар'єр. Ці тканини, як відомо, діють як біологічні бар'єри, що обмежують надходження різних речовин у клітини, а отже, впливають на розподіл лікарських засобів для подальшого метаболізму [61].

Як зазначено в таблицях 1.1 і 1.2, існує велика кількість комп'ютерних моделей прогнозування ферментативних реакцій, що відображають сильний вплив таких реакцій на властивості ADMET, які призводять до зниження або підвищення фармацевтичного ефекту лікарського засобу [62].

1.3.2 Прогнозування ферментативних реакцій лікарських засобів та ферментів

Ендогенні ферменти в організмі людини можуть опосередковувати метаболічні перетворення введених лікарських засобів у неактивні, активні або токсичні хімічні сполуки, що підкреслює практичну значущість прогнозування потенційних хімічних модифікацій лікарських засобів. Метаболізм лікарських засобів включає реакції, що каталізуються ферментами; таким чином, останнім часом було зроблено ряд спроб передбачити реакції, опосередковані ферментами. Прикладом цього є повідомлення про прогнозування гідролізу та окислювально-відновних реакцій. У цьому дослідженні була побудована модель на основі машинного навчання для прогнозування класів/підкласів реакцій гідролізу (ЕС 3.b.c.d, b - 1, 2 і 5) та окисно-відновних реакцій (ЕС 1.b.c.d, b - 1, 2, 3, 4, 5, 8, 13 і 14) [63], що дозволяє прогнозувати метаболічні перетворення молекули.

Для прогнозування ферментативних реакцій, задіяних у метаболічних шляхах, в одному з досліджень використовувався новий підхід побудови мережі взаємодії субстрат-фермент-продукт на основі методу k-найближчих сусідів для надання інформації, пов'язаної з токсичністю в метаболічних шляхах. Субстрат, фермент та продукти кодувалися молекулярними дескрипторами та фізико-хімічними властивостями, а для побудови прогностичної моделі використовувався алгоритм k-найближчого сусіда. Мережі взаємодії субстрат-фермент-продукт були представлені як основні фактори, а оптимальні ознаки були відібрані за допомогою методу максимальної релевантності, мінімальної надлишковості та інкрементального відбору ознак (mRMR-IFS). З 290 ознак було відібрано 160, які були згруповані в 10 різних категорій, включаючи амінокислотний склад, передбачувану вторинну структуру, гідрофобність, гідрофобність та амінокислотний склад, прогнозована вторинна структура, гідрофобність та полярність, серед інших [64].

В іншому дослідженні нещодавно було використано підхід на основі машинного навчання для обчислювального прогнозування потенційних реакцій 1449 ферментів (включаючи ферменти CYP450), депонованих у базах даних BRENDA (Braunschweig Enzyme Database) [65] та HMDB (Human Metabolome Database) [66]. Зокрема, передбачалося, що якщо відома молекула взаємодіє з певним ферментом, то молекула запиту також повинна взаємодіяти з цим ферментом, якщо фізико-хімічні дескриптори молекули запиту подібні до дескрипторів відомої молекули. Цікаво, що ця модель показала здатність прогнозувати ферментативне перетворення ферментами CYP450 і супутнє утворення токсичних метаболітів, і тому було зроблено висновок про її корисність для прогнозування метаболізму лікарських засобів з точки зору їх біологічної активності та токсичності [67].

Таким чином, вищезазначені методи прогнозування потенційних ферментативних реакцій здійснили революцію в підходах *in silico* і зробили значний внесок у скринінг лікарських засобів та ідентифікацію потенційних нових лікарських засобів.

1.3.3 Прогнозування взаємодій "лікарська молекула – мішень" на основі концепції фармакологічного простору

Виходячи з теорії, що білки, які опосередковують подібні реакції, ймовірно, мають субстратну подібність, Yamanishi та ін. [68] запропонували модель на основі QSAR для прогнозування невідомих взаємодій лікарських засобів з мішенями, ввівши поняття фармакологічного простору, який інтегрує хімічну структуру та інформацію про геномний профіль білка. Виходячи з припущення, що сполуки, які мають високу структурну схожість, з великою ймовірністю будуть взаємодіяти зі схожими білками-мішенями, було розраховано хімічну та геномну схожість та об'єднано у фармакологічний простір. Модель прогнозування була побудована з використанням трьох наборів даних: набору даних про взаємодію лікарських засобів та мішеней, отриманих з різних баз даних, хімічного набору даних, що складається зі

структур хімічних сполук, виражених у вигляді матриці подібності між двома сполуками (хімічний простір), і геномного набору даних, що складається з амінокислотних послідовностей білків-мішеней, виражених у вигляді матриці подібності (геномний простір). Хімічні та геномні масиви даних послідовностей білків були об'єднані у фармакологічний простір і розраховані на основі методу двостороннього методу графової навчальної моделі. Ефективність моделі була згодом оцінено на основі даних про взаємодію лікарських засобів та мішеней, і показано, що розроблена модель прогнозує як взаємодію фермент-сполука, так і взаємодію білків. активність фермент-сполука, так і взаємодію білків з іншими факторами, такими як іонні канали, G-білок-зв'язаними рецепторами та ядерними рецепторами. Таким чином, побудована модель дозволила надійно прогнозувати взаємодію множини пар білок-сполука.

1.4. Проблеми, пов'язані з побудовою прогнозних моделей

Неузгодженість наявних експериментальних даних, що використовуються для побудови моделей *in silico*, є основною проблемою [69]. Прогностичні моделі значною мірою покладаються на експериментальні дані для побудови моделі; таким чином, висока мінливість експериментальних аналізів, спричинена біологічними варіаціями та технічними помилками, може призвести до помилкових даних і, отже, може внести неточність у прогнозні моделі. Неточність моделей *in silico* також може бути результатом різних експериментальних умов для декількох зібраних ресурсів, незбалансованих наборів даних та значень молекулярних дескрипторів, які відрізняються від інструменту до інструменту [70]. Надійність експериментальних даних підтверджується, якщо результати є послідовними і точними в рамках стандартизованого експериментального протоколу з плином часу. Тому, крім розгляду достовірності моделей *in silico*, слід також розглядати якість експериментальних даних. Було кілька спроб врахувати надійність експериментальних даних та їх ступінь невизначеності, зусилля, які часто

підвищують точність прогнозування [71]. Це підкреслює той факт, що низька точність прогнозування може бути не тільки результатом *in silico* природи інструменту прогнозування, але також може відображати природу біологічних експериментів. Комплексні бази даних, такі як Drugbank, HMDB та інші, такі як MetaDrug і MetaCore, поступово стають більш надійними завдяки людському кураторству, вдосконаленим алгоритмам інтелектуального аналізу даних та/або додаванню нових експериментально перевічених даних, що підвищує надійність наборів даних, які використовуються моделями *in silico*, і тим самим підвищує точність результатів. Методи *in silico* стали основним нововведенням у спробах передбачити долю лікарських засобів, проте побудова надійних прогностичних моделей залишається складним завданням. Тому прогностичні моделі тестуються, а їх точність, достовірність і надійність підтверджуються за допомогою зовнішніх валідаційних наборів даних, щоб визначити, чи є модель прийнятною для конкретної мети. Наприклад, три веб-сервери, SOMP, SMARTsup та RSWebPredictor, які використовуються для прогнозування місця метаболізму, були порівняні на предмет точності прогнозування. З них було показано, що сервер SOMP має вищу інваріантну точність прогнозування (подібну до AUC), ніж інші, з оцінкою 0,9, і, таким чином, вважається адекватним інструментом прогнозування метаболізму лікарських засобів [72].

Таким чином, метаболізм в біологічних системах, зважаючи на його центральне значення, інтенсивно досліджується, особливо в галузі створення лікарських засобів. Високий вплив метаболізму лікарських засобів на їх ефективність та долю в біологічних системах призвів до появи в останні десятиліття численних *in silico* підходів та інструментів для прогнозування метаболічних реакцій. Однак не можна ігнорувати обмеження цих підходів. Зокрема, те, що ці методи сильно залежать від експериментальних даних, викликає велике занепокоєння, оскільки суперечливі та помилкові дані можуть призвести до неточних моделей прогнозування. Хоча прогнозування метаболічних реакцій є надзвичайно складною сферою, воно значно

полегшило просування відкриття лікарських засобів, продовжуючи демонструвати швидке вдосконалення з розвитком обчислювальних методів і збільшенням обчислювальних потужностей.

Висновки до розділу 1

1. Проведено систематизацію та аналіз наукової літератури, присвяченої основним *in silico* підходам та методам, які застосовуються для прогнозування можливих шляхів метаболізму хімічних речовин в організмі людини.

2. Проведений аналіз підтверджує перспективність застосування програмного забезпечення з метою прогнозування можливих метаболітів потенційного лікарського засобу на ранніх етапах його дослідження.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом дослідження є *N*-[(2-метил-4-оксо-1*H*-хінолін-3-іл)метил]-*N*-феніл-2-хлорбензамід (лабораторний шифр VAZ16_p10), синтезований доцентом кафедри медичної хімії, д. фарм. н. Зубковим В. О (рис. 2.1).

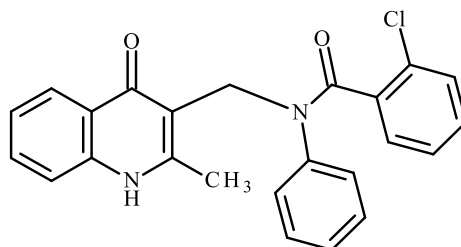
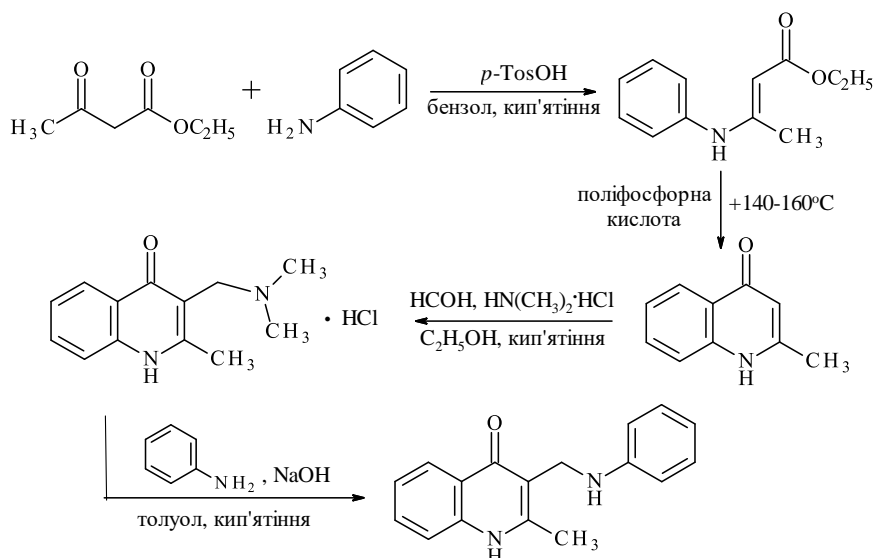


Рис. 2.1 Структурна формула *N*-[(2-метил-4-оксо-1*H*-хінолін-3-іл)метил]-*N*-феніл-2-хлорбензаміду (VAZ16_p10)

2.1 Синтез *N*-[(2-метил-4-оксо-1*H*-хінолін-3-іл)метил]-*N*-феніл-2-хлорбензаміду

Як вихідну сполуку для синтезу 2-метил-3-(феніламінометил)-1*H*-хінолін-4-ону (ключовий інтермедіат) використано 2-метилхінолін-4-он, який амінометилували в умовах реакції Манніха [73], а одержана основа Манніха (3-диметиламінометил-2-метилхінолін-4-ону гідрохлорид) при переамінуванні аніліном утворює 2-метил-3-(феніламінометил)-2-метил-1*H*-хінолін-4-он (схема 2.1).

Схема 2.1



Відомо, що однозначно реакція Манніха перебігає лише при використанні вторинних амінів, тоді як амоніак та первинні аміни можуть реагувати із заміною усіх атомів водню, що стоять біля нітрогену. Підтверджено, що взаємодія 2-метилхінолін-4-ону з первинними аліфатичними амінами, анілінами, а також з діетиламіном в класичних умовах реакції Манніха призводить до утворення здебільшого побічних продуктів, нерозчинних у більшості органічних розчинників. Відомо також, що основи Манніха можуть бути використані як алкілюючі агенти в реакціях з амінами та метиленактивними сполуками. Особливо легко таке алкілювання відбувається в тому випадку, якщо основа Манніха утворена аміном, котрий у подальшому може легко відщеплюватися, наприклад, диметиламіном. У зв'язку з цим був здійснений синтез 3-диметиламінометил-2-метил-1H-хінолін-4-ону, а також подальший синтез на його основі 3-ариламінопохідних 2-метилхінолін-4-ону.

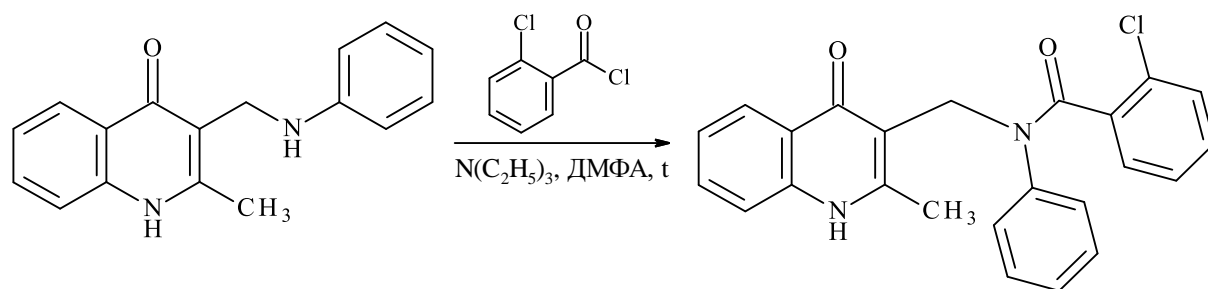
Гідрохлорид 3-диметиламінометил-2-метил-1H-хінолін-4-ону було отримано двома способами: кип'ятінням в етанолі 2-метилхінолін-4-ону з формальдегідом та диметиламіну гідрохлоридом (спосіб I), а також амінометилуванням 2-метилхінолін-4-ону хлоридом N,N-диметилімонію (спосіб II). Використання солей імонію дозволяє однозначно провести синтез, підвищити вихід цільових продуктів у порівнянні зі звичайною реакцією Манніха, а також спрощує проведення самої реакції [73]. Отже, спосіб II є більш прийнятним для синтезу гідрохлорида. Отримана сіль при кип'ятінні в толуолі, в присутності порошкоподібного NaOH, легко вступає в реакцію переамінування з первинними аліфатичними амінами, анілінами та діетиламіном, утворюючи цільові 3-N-R-амінометильні хінолони. Кінець реакції визначають по закінченню виділення диметиламіну з реакційного середовища.

Ключовий інтермедіат можна отримати при взаємодії вільної основи з первинними амінами та діетиламіном у киплячому толуолі (спосіб Б). Однак сумарний вихід кінцевих продуктів за цим способом у перерахунку на гідрохлорид виявився значно нижчим, аніж виходи синтезів із використанням

безпосередньо самого гідрохлориду. Це, вочевидь, пов'язано з гарною розчинністю 3-диметиламінометил-2-метил-1H-хінолін-4-ону у воді та відповідно із втратами сполуки на стадії отримання вільної основи [73].

Синтез цільового N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду здійснено ацилюванням 2-метил-3-(феніламінометил)-2-метил-1H-хінолін-4-ону хлорангідридом *орто*-хлорбензойної кислоти (схема 2.2).

Схема 2.2



Структура та індивідуальність N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду підтверджені методами спектроскопії ЯМР ^1H та тонкошарової хроматографії.

2.2 Фармакологічні властивості N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду

Перспективним об'єктом для фармакологічного вивчення досліджувана молекула стала на основі результатів комплексного скринінгового дослідження ряду 3-амінометильних похідних 2-метилхінолін-4-ону на наявність психо- та нейротропних властивостей, проведеного доцентом кафедри медичної хімії, д. фарм. н. Подольським І. М.

Скринінг проведено на білих нелінійних мишах у дозах 10 та 100 мг/кг із використанням тестів піднесеного хрестоподібного лабіринту, відкритого поля, іммобілізаційного тесту Порсолта, ротарод-тесту та умовної реакції пасивного уникнення на тлі амнезії, індукованої скополаміном. Наприкінці скринінгу досліджували вплив на тривалість життя мишей на моделі гострої нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією [74].

Результатами дослідження VAZ16_p10 у тесті відкритого поля була виявлена відсутність у досліджуваної сполуки стимулювальних чи седативних властивостей. В обох досліджених дозах N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензамід не впливав на показники локомоторної, дослідницької активності, а також на вегетативний супровід емоційних реакцій.

Анксиолітичні властивості VAZ16_p10 були виявлені за результатами дослідження тварин у тесті піднесеного хрестоподібного лабіринту (рис. 2.2).

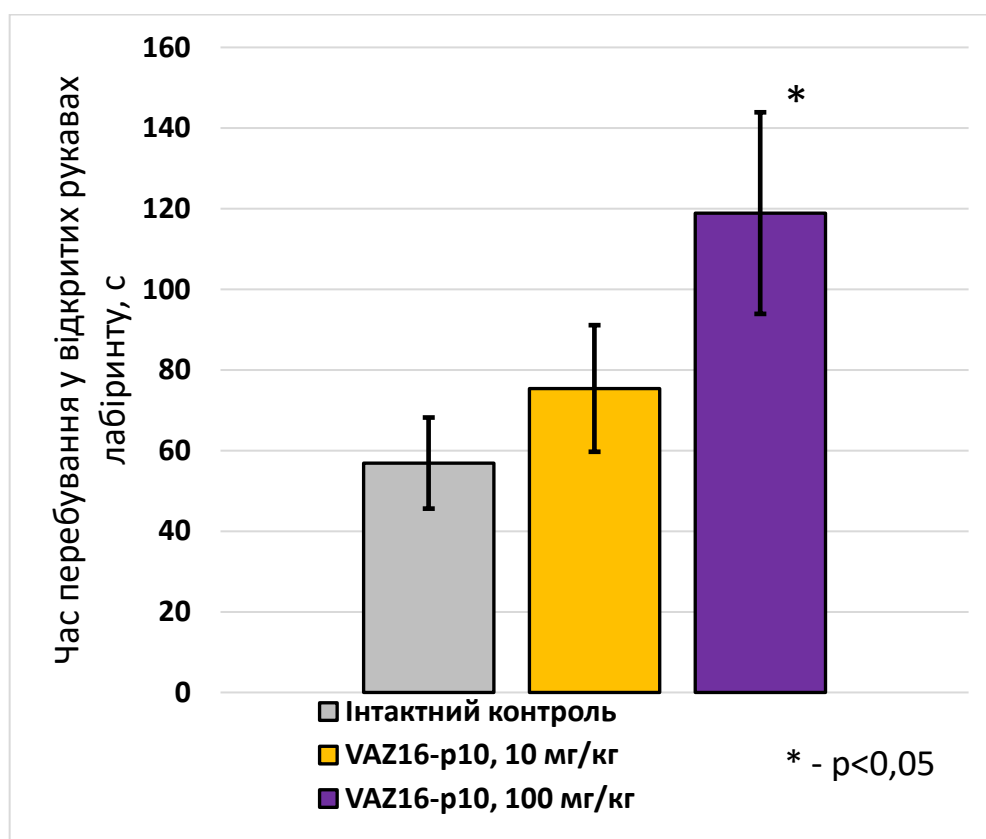


Рис. 2.2 Результати дослідження VAZ16_p10 у тесті піднесеного хрестоподібного лабіринту

Як видно з рис. 2.2, N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензамід у дозі 100 мг/кг достовірно збільшував основний маркер протитривожної активності – загальний час перебування мишей у відкритих (освітлених) компартментах лабіринту. Різниця за цим показником для групи мишей, яким вводили 100 мг/кг VAZ16_p10, порівняно з групою синхронного інтактного контролю була в 2,1 разу ($p < 0,05$) більше, що свідчить про значний

вплив на тривожність піддослідних тварин. Окрім цього, досліджувана сполука в зазначеній дозі більш ніж вдвічі подовжувала відносно інтактного контролю латентний час першого входу в рукав (з 14,5 до 30,0 с), проте відмінності не сягали необхідного рівня достовірності.

За результатами тесту умовної реакції пасивного уникнення на тлі скополамін-індукованої амнезії (рис. 2.3) VAZ16_p10 тільки в дозі 100 мг/кг достовірно виявив антиамнестичний ефект, а антиамнестична активність склала 64,5 % ($p < 0,05$).

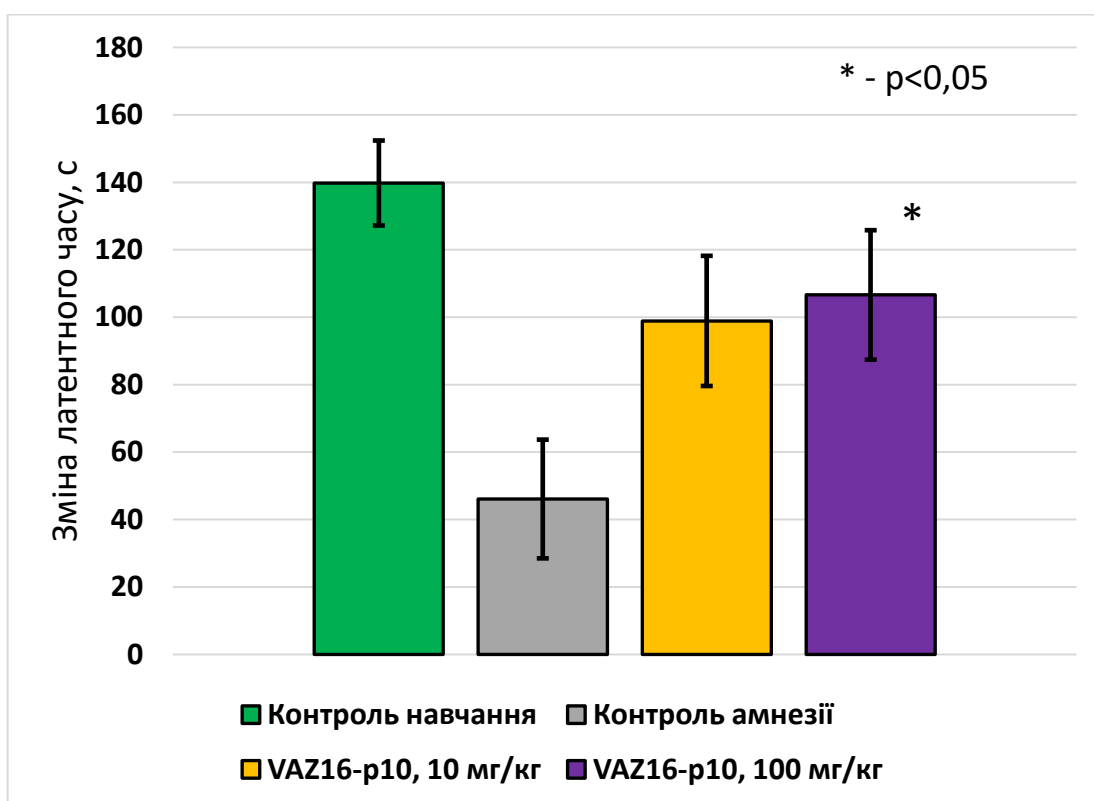


Рис. 2.3 Результати дослідження VAZ16_p10 у тесті умовної реакції пасивного уникнення на тлі скополамін-індукованої амнезії

В дозі 10 мг/кг досліджувана речовина також чинила захисну дію на тлі застосування М-холіноблокатора скополаміну на рівні 56,3 %, проте різниця з показниками тварин групи контролю амнезії не сягала достовірного рівня.

Найбільшу увагу привертають результати дослідження сполуки VAZ16_p10 в іммобілізаційному тесті Порсолта (рис. 2.4).

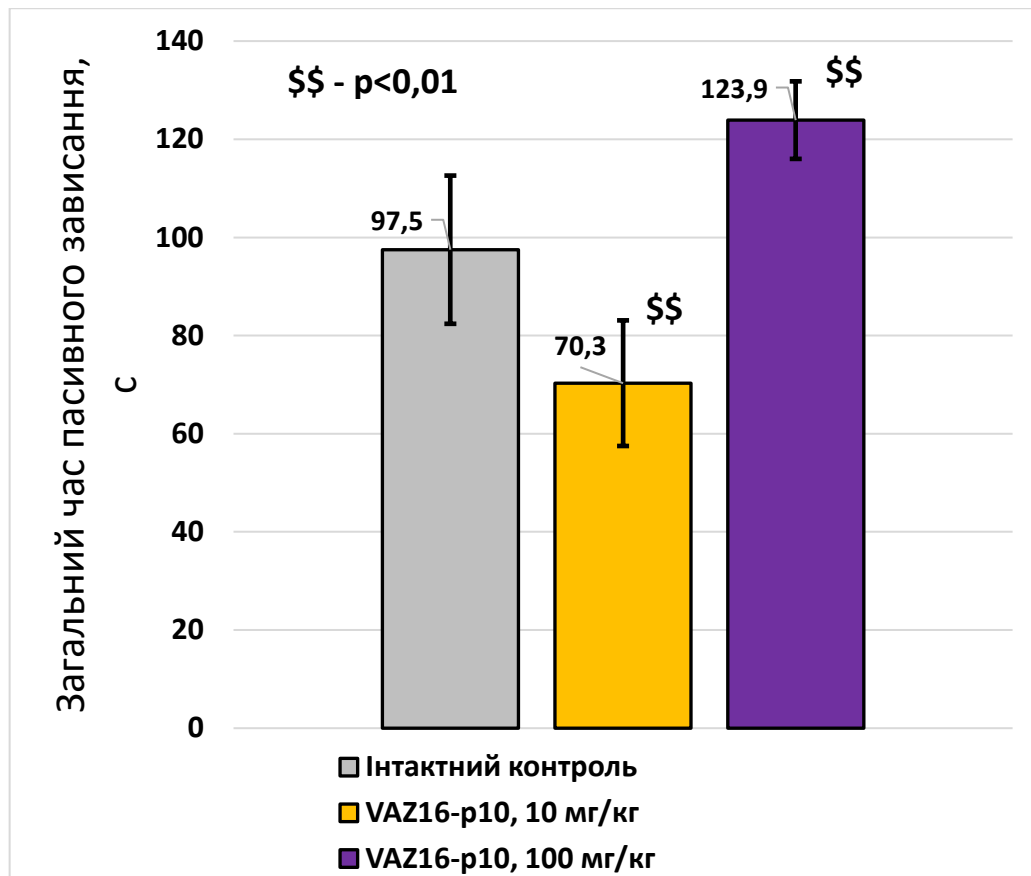


Рис. 2.4 Результати дослідження антидепресивної активності VAZ16_p10 в іммобілізаційному тесті Порсолта (тест підвішування за хвіст)

Загальний час іммобільності мишей при застосуванні VAZ16_p10 у дозі 10 мг/кг був на 27,9 % меншим, проте необхідного рівня достовірності порівняно з інтактним контролем ця різниця не сягала. Тварини, що одержували VAZ16_p10 у дозі 100 мг/кг, навпаки, на 27,1 % довше перебували в нерухомому стані. Тобто, спостерігається дозозалежна зміна антидепресивного ефекта на продепресивний (показники тварин у різних дозах достовірно відрізняються з $p < 0,01$). Це досить поширена особливість психотропних препаратів, яка, однак, значно обмежує їх використання в медичній практиці. Слід зауважити, що продепресивний ефект VAZ16_p10 у дозі 100 мг/кг добре корелює з його анксиолітичними властивостями, виявленими в тій самій дозі.

Таким чином, результати проведеного комплексного скринінгового дослідження [74] окреслили перспективність поглибленого дослідження

VAZ16_p10 у дозі 100 мг/кг як перспективного анксиолітика з ноотропними властивостями.

2.3 Застосовані онлайн системи комп'ютерного прогнозування метаболізму

Xenosite (<https://swami.wustl.edu/xenosite>)

XenoSite – модель прогнозування CYP SOM, заснована на нейронних мережах, яка покращує RSP різними способами [75].

Xenosite використовує попередньо зібраний набір з 680 субстратів CYP, розподілених між дев'ятьма ферментами CYP: 1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 та 3A4. Крім того, аналізується набір мікросом печінки людини (HLM), при цьому враховуються всі 680 субстратів та всі спостережувані метаболіти, незалежно від метаболізуючої ізоформи. Цей набір HLM не представляє всіх метаболічних функцій мікросом печінки, але віддзеркалює сукупність відомого метаболізму CYP [75].

У молекулі кожен атом, здатний метаболізуватися в субстраті CYP, є потенційним SOM. Кожен атом асоційований з вектором чисел, при цьому кожне число кодує хімічні властивості цього SOM; ці коди хімічної інформації відомі як дескриптори. Потім алгоритми машинного навчання аналізують ці кодовані дескриптори SOM, щоб визначити функцію підрахунку, яка надає експериментально спостережуваним CYP-опосередкованим SOM високі бали, а неспостережуваним SOM – низькі бали. Використовується комбінація раніше визначених дескрипторів – топологічних (TOP) та квантово-хімічних (QC) дескрипторів, дескриптора реактивності SMARTCyp (SCR) на додаток до уточненої підмножини дескрипторів QC (SQC), молекулярні (MOL) дескриптори та дескриптори схожості відбитків пальців (FP). Дескриптори MOL і FP не так давно застосовуються для прогнозування SOM і кодують інформацію про молекули в цілому на додаток до локального атомного середовища [75].

Усі моделі побудовані із використанням стандартної нейронної мережі з п'ятьма прихованими вузлами, відкаліброваними за допомогою перехресної перевірки без вилучення (LOO) з градієнтним спуском на помилку перехресної ентропії. Перехресна перевірка LOO у цьому випадку означає, що всі SOM для одного тестового субстрату прогноуються з використанням моделей, відкаліброваних з усіма SOM з решти набору субстратів. Цей процес повторюється з кожним субстратом, який один раз розглядається як тест. Моделі, створені за цим протоколом, дають вихідні оцінки від 0 до 1, що можна інтерпретувати як ймовірності. Для кожного тренувального циклу проводили три випадкові повторні запуски, вибираючи модель з найкращою точністю до набору тренувань перед тестуванням. Унікальні моделі прогнозування SOM були побудовані з кожного з 10 наборів підкладок з SOM, представленими дескрипторами TOP і SCR у поєднанні з різними комбінаціями дескрипторів QC, SQC, MOL та FP. Оптимальні моделі XenoSite в середньому мають точність на 87 % для всіх аналізованих наборів підкладок, рівень продуктивності на 3 % вищий, ніж у раніше існуючого оптимального методу RSP. Це підвищення продуктивності походить від представлення передбачуваних SOM з двома новими класами дескрипторів на рівні молекули та обрізання дескрипторного складу раніше розробленого класу дескрипторів на рівні атома для видалення шуму при збереженні сигналу; жодне з цих удосконалень не відповідає за повне збільшення точності прогнозування [75].

SMARTCyp (https://smartcyp.sund.ku.dk/mol_to_som)

Більшість раніше опублікованих методів прогнозування метаболізму СУР вимагають експериментальних даних для створення моделей. Такі дані є неповними, оскільки вони завжди включають ділянки, які є «помилково негативними» (реакційноздатні ділянки, для яких метаболіти не знайдені, оскільки метаболіт знайдений для ще більш реакційноздатного сайту), і часто включають сполуки з відсутніми метаболітами, що призводить до значних «шумів» в навчальних даних.

SMARTCyp не вимагає тривимірних структур молекули, і хоча він підтверджений експериментальними даними, його реалізація не залежить від них [76]. Ідея SMARTCyp полягає в тому, що енергії активації CYP, що реагують з фрагментами лігандів, розраховані квантово-хімічними методами, є найкращим можливим посиланням на реакційну здатність фрагмента. Довідкові дані квантово-хімічних розрахунків для речовин мають дуже високе відношення сигнал/шум, оскільки в даних відсутні експериментальні помилки або так звані «помилкові негативи». Результати дуже легко інтерпретувати, оскільки чим нижче енергії активації, тим більша ймовірність того, що сайт буде метаболізований.

Атоми, що не відповідають будь-якій схемі, не вважаються реактивними. Дескриптор доступності, A , – це коефіцієнт дескриптора SPAN, як визначено Шеріданом та ін. Він визначається як найбільша відстань зв'язку від даного атома, поділена на найдовшу відстань зв'язку у всій молекулі. Це міра того, наскільки далеко від 2D центру молекули розташований атом, і завжди є числом від 0,5 до 1. Отже, це не міра доступної площі поверхні, але вона описує, як атоми в кінці молекули, швидше за все, потрапляє близько до реактивної групи гему в активному центрі CYP. Нарешті, оцінка S обчислюється для кожного атома як $S = E - 8A$, де нижча оцінка вказує на вищу ймовірність бути SOM. Константа 8 обрана таким чином, що доступність може змінити показник, що відповідає максимум енергії 4 кДж/моль (що трохи вище середнього стандартного відхилення серед розрахункових енергій за нашими правилами, яке становить 3,2 кДж/моль). Це дозволяє дещо менш реактивним атомам оцінюватись вище, якщо їх доступність A значно більша.

Розробка правил SMARTS базується на наборі даних, що складається із 475 субстратів цитохрому P450 з літератури. Процедури визначення енергій активації у межах теорії функціональної щільності (DFT), різниці енергій між перехідним станом та комплексом реагенту вже описані. Тоді як оригінальна програма SMARTCyp базується на Java із використанням бібліотеки Chemistry Development Kit (CDK), SMARTCyp 3.0 базується на Python за допомогою

бібліотеки RDKit. CDK та RDKit сприймають ароматичність у структурі молекули по-різному, і, відповідно, є різниця в тому, в яких саме атомах збігаються моделі SMARTS, наприклад внаслідок різного набору атомів. Для забезпечення зворотної сумісності відмінності в правилах SMARTS, виявлені CDK та RDKit для всіх сайтів для тестового набору з 475 субстратів 3A4 (Zaretski et al., 2012), були ідентифіковані. Кожне правило SMARTS, в якому було виявлено розбіжності, аналізувалось індивідуально, порівнювалось з відповідною молекулою та субструктурою, з якої воно було створено, та коригувалось за необхідності [76].

Розраховані різні ділянки можна розділити на шість різних типів, які представляють один або кілька типів реакцій P450. Розподіл енергій активації досить сильно варіюється між різними типами, при цьому десульфування фосфору та S-окислення дає найнижчі енергії, а N-окислення та N-деалкілювання пептидних груп дають найвищі енергії. Для отримання енергій активації обчислюється етап реакції з найбільшою енергією активації у відповідних реакціях. Для реакцій аліфатичного гідроксилювання, гідроксилювання альдегіду та деалкілювання це абстракція водню з атома вуглецю, тоді як для інших типів реакцій це атака кисню на відповідний атом.

Однією з нових функцій, реалізованих в SMARTCyp 3.0, є функція «Подібність», яка на основі «відбитків пальців Моргана» порівнює схожість узгодженої підструктури з повним фрагментом молекули, для якого було зроблено розрахунок DFT. Оцінка «1,0» вказує на ідеальний збіг, тоді як оцінка «0,0» означає відсутність відповідного фрагмента, що означає, що атом або не вважається реактивним, або призначена реакційна здатність не базується на розрахункових даних, а отже, не настільки надійна [76].

Той факт, що SMARTCyp працює досить добре, показує, що реактивність є головним фактором метаболізму CYP 3A4 і підкреслює важливість використання точних методів для формування правил реактивності. SMARTCyp добре виявляє сполуки з метаболічним становищем, що посідає найвище місце, зокрема, тому що це чистий 2D-метод, який дає

надзвичайно швидкий прогноз. Дві основні переваги методу полягають у тому, що створення методу надає фізичний сенс і низьке відношення сигнал/шум у вхідних даних. Обидва вони впливають з того, що модель реакційної здатності обчислюється на основі висококваліфікованих квантово-хімічних розрахунків енергії активації для реакцій окислення. Інші методи часто використовують більшу кількість дескрипторів, що призводить до значної кількості шумів у вхідних даних, і відносний вплив дескрипторів часто важко зрозуміти. Ще однією перевагою методу є те, що його легко реалізувати, використовуючи будь-яку з доступних бібліотек хімічного програмування, безкоштовну чи комерційну, і його можна інтегрувати в робочі процеси, що використовуються іншим програмним забезпеченням.

Way2Drug RA (<http://www.way2drug.com/RA>)

Для визначення SOM підходи машинного навчання повинні враховувати основні механізми дії ферментів. Але не завжди така інформація доступна, і результати прогнозування SOM можна правильно інтерпретувати для розуміння структури продуктів реакцій. Наприклад, у багатьох випадках дослідники воліють розглядати атом карбону групи, що відходить, прилеглої до нітрогену, як SOM для N-деалкілування. Це припущення базується на механізмі абстракції атома гідрогену, але не враховує інших можливих одноелектронних механізмів переносу реакції N-деалкілування [77]. Ми розглядаємо нітроген як «реагуючий атом» у разі реакції N-деалкілування. Інша проблема з невизначеністю виявлення ділянки молекули, яка атакується цитохромами P450, пов'язана з механізмом ароматичного гідроксилювання, який може бути реалізований утворенням епоксидного проміжного продукту або «NIH зсувом». Тому безпосереднє визначення SOM для створення навчальних наборів у підходах машинного навчання є проблематичним, а інтерпретація передбачуваних результатів неоднозначна.

У підході Way2Drug SOM та RA [77] не намагаються змоделювати або імітувати гіпотетичний процес утворення проміжних сполук, що реалізується P450. Використовується лише відома інформація про структури субстрату та

метаболіту реакцій для створення тренувальних наборів для прогнозування реагуючих атомів дев'яти класів реакцій. У підході Way2Drug SOMP та RA розглядаються класи реакцій аліфатичного та ароматичного гідроксилювання, N-, S- та C-окислення, N- та O-деалкілювання, які, згідно з базою даних Biovia Metabolite [77], охоплюють приблизно 70% усіх реакцій, каталізованих п'ятьма основними ізоферментами P450 (CYP1A2, CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19). Крім того, розглядаються реакції N- та O-глюкуронування, які охоплюють майже всі реакції, що каталізуються сімейством УДФ-глюкуронілтрансфераз.

Використання терміну «реагуючий атом» і розгляд його як ділянки молекули субстрату, до якого додається (або з якого він видаляється) конкретний структурний фрагмент, дозволяє ідентифікувати структури метаболітів за прогнозом реагуючого атома. Структурні фрагменти, що додаються до реакційноздатних атомів, включають гідроксильну (реакції гідроксилювання), карбонільну або карбоксильну (реакції окислення C), гідроксильну або оксогрупу (N- та S-реакції окислення) та глюкуронільні (реакції глюкуронування) групи. У разі реакцій деалкілювання алкільна група розглядається як фрагмент, який видаляється від реагуючого атома, представленого киснем або нітрогеном [77].

У підході Way2Drug SOMP та RA реагуючі атоми автоматично визначені в кожній структурі субстрату з вибраних біотрансформацій. Для автоматичної ідентифікації реагуючих атомів використовуються бібліотеки APGL та python-igraph [77]. Спочатку виявляються всі субізоморфізми між субстратом та продуктом. Потім алгоритм перевіряє, чи графічна різниця структур субстрату та продукту реакції пов'язана з процесом, що вивчається. Якщо це так, то шукають атоми із зміненою кількістю сусідів в ізоморфному оточенні. Реакції окислення каталізуються цитохромами P450 і в основному реалізуються шляхом окислення гетероатомами (N- та S-окислення) або гідроксилювання карбону (аліфатичне або ароматичне гідроксилювання). Під реакцією аліфатичного гідроксилювання розуміють гідроксилювання атома

карбону, який не входить до складу ароматичних кілець. У випадку реакцій окислення С розглядається утворення карбонільних або карбоксильних груп. N- та O-глюкуронування каталізується УДФ-глюкуроносилтрансферазами.

Biotransformer (<http://biotransformer.ca>)

BioTransformer – програмний засіб з відкритим доступом та веб-сервіс із вільним доступом для точного та всебічного прогнозування метаболізму *in silico* та ідентифікації метаболітів [78].

BioTransformer складається з інструменту прогнозування метаболізму (ВМРТ) та інструменту ідентифікації метаболітів (ВМІТ). ВМРТ складається з п'яти незалежних модулів прогнозування, що називаються «трансформерами», а саме:

- 1) трансформер на основі спрямованості ферменту;
- 2) трансформер СYP450 (фаза I);
- 3) трансформер фази II;
- 4) трансформер мікробіоти кишечника людини;
- 5) трансформер мікробного навколишнього середовища.

Для прогнозування метаболітів BioTransformer застосовує два підходи – підхід, заснований на правилах або знаннях, та підхід машинного навчання. Система, заснована на знаннях, в BioTransformer складається з трьох основних компонентів: (1) база даних про біотрансформацію (звана MetXBioDB), що містить докладні анотації експериментально підтверджених метаболічних реакцій, (2) база знань про реакції, що містить загальні правила біотрансформації, правила переваг та інші обмеження для прогнозування метаболізму та (3) механізм відбору, який реалізує як загальні, так і специфічні для трансформера алгоритми для прогнозування та відбору метаболітів. Система машинного навчання ВМРТ використовує набір випадкових моделей прогнозування лісів та ансамблів для прогнозування селективності субстрату СYP450 та для фільтрації молекул фази II. Інструмент ідентифікації метаболітів BioTransformer спирається на ВМРТ для ідентифікації конкретних

метаболітів за допомогою даних мас-спектрометрії (MS), а саме точної інформації про масу або хімічну формулу [78].

MetXBioDB – це база даних, що складається з колекції понад 2000 експериментально підтверджених біотрансформацій, отриманих з літератури. Він був розроблений для допомоги у: (1) розробці правил біотрансформації, (2) навчанні та підтвердженні моделей прогнозування метаболізму машинного навчання та (3) розробці правил переваг. Кожна біотрансформація в MetXBioDB включає вихідний реагент (структуру та ідентифікатори), продукт реакції (структуру та ідентифікатори), назву або тип ферменту, що каталізує біотрансформацію, тип реакції та одне або кілька цитат. Для цілей цієї статті реагент визначається як невелика молекула, яка зв'язується з певним ферментом та зазнає метаболічної трансформації, що каталізується цим ферментом. Біотрансформація описує хімічне перетворення або молекулярне перетворення реагенту в один або кілька продуктів за допомогою певного ферменту (або класу ферментів) за допомогою певної хімічної реакції. Ферменти цитохрому P450 (CYP450s) відповідають за >90% окисних реакцій фази I і >75% метаболізму лікарських засобів, тоді як УДФ-глюкуронозилтрансферази (UGT) та сульфотрансферази (SULT) відповідають за метаболізм фази II більшості ксенобіотиків [78]. У мікробіоті кишечника ферментативні реакції здебільшого відновні і здійснюються анаеробними бактеріями через дуже низьку концентрацію кисню.

База знань про реакцію BioTransformer містить описи хімічних реакцій та правила, закодовані рядками SMARTS та SMIRKS, які використовуються механізмом відбору для прогнозування біотрансформації. Ця база знань кодує інформацію про п'ять різних понять і містить дані, що відображають: (1) біосистему, (2) метаболічний фермент, (3) метаболічну реакцію, (4) метаболічний шлях та (5) хімічний клас.

Система обґрунтування VMPT використовує правила в базі знань про реакції, щоб вибрати найбільш вірогідну з усіх застосовних метаболічних біотрансформацій або шляхів. Загалом для відбору та ранжування

передбачуваних метаболітів використовуються два типи міркувань: абсолютні та відносні [78]. Абсолютні міркування зосереджуються виключно на ймовірності біотрансформації та використовуються для вибору біотрансформацій із коефіцієнтом зустрічальності вище заданого порогу.

GLORYx (<https://nerdd.zbh.uni-hamburg.de>)

GLORY включає новий набір правил реакції для CYP-опосередкованого метаболізму, завдяки чому загальні типи реакцій відрізняються від більш незвичних реакцій [79]. Важливо, що GLORY дослідив, як прогнозування SoM може бути ефективно використано в контексті прогнозування структури метаболітів.

Програмним забезпеченням для прогнозування SoM, яке застосовувалось в GLORY, було FAME 2 – програма прогнозування SoM на основі машинного навчання, яка використовує надзвичайно рандомізовані класифікатори дерев у поєднанні з двовимірними (2D) круговими дескрипторами для прогнозування SoM для метаболізму, опосередкованого CYP. З моменту розробки GLORY стала доступною наступниця FAME 2. FAME 3 продовжує використовувати концепцію додаткових класифікаторів дерев та двовимірних кругових дескрипторів, розроблену в FAME 2, і застосовує цей підхід для створення всебічних моделей прогнозування SoM як для метаболізму фази 1, так і для фази 2.

На основі розширеного підходу, розроблений у GLORY, створено новий інструмент, який називається GLORYx, який поєднує прогнозування SoM із набором правил реакції для прогнозування метаболітів як метаболізму фази 1, так і фази 2. GLORYx використовує FAME 3 для прогнозування SoM, результати якої застосовуються для оцінки та ранжування передбачуваних метаболітів. Порівняно з GLORY, GLORYx вимагає більшої кількості правил реакцій, щоб охопити метаболічні реакції фази 1, які не є CYP, а також метаболічні реакції фази 2. GLORYx є у вільному доступі через веб-сервер за адресою <https://nerdd.zbh.uni-hamburg.de/>.

Довідковий набір даних щодо поєднаних пар метаболітів був складений із вільно доступних даних метаболізму в базах даних DrugBank (група препаратів “Усі”) та MetXBioDB, щоб слугувати основою для оцінки методу під час розробки GLORYx. Для кожної метаболічної реакції в будь-якій базі даних реагент вважався вихідною молекулою, а продукт – метаболітом. Отже, еталонний набір даних подано у форматі карти кожної материнської молекули до її метаболітів першого покоління, незалежно від того, чи є материнська молекула сама метаболітом іншої молекули.

GLORYx застосовує правила реакції до всіх відповідних положень в молекулі, що визначається тим, де збігається кожне правило реакції SMIRKS, якщо воно взагалі відповідає. В рамках програми основні показники прогнозуються за допомогою FAME 3, а прогнозовані ймовірності використовуються для оцінки та ранжування передбачуваних метаболітів. Програмне забезпечення написано на Java та використовує CDK версії 2.0. GLORYx виконує початковий етап попередньої обробки для всіх вхідних молекул, щоб перевірити, чи може вхідна молекула успішно аналізуватися CDK, не має декількох компонентів і не містить інших типів елементів, крім C, N, S, O, H, F, Cl, Br, I, P, B та Si (дозволені типи елементів FAME 3). Якщо будь-яка з цих перевірок не вдається, для вхідної молекули не робляться прогнози [79].

Прогнозування SoM у GLORYx виконується за допомогою FAME 3. FAME 3 навчається на основі даних SoM з бази даних MetaQSAR та пропонує три моделі прогнозування SoM:

- 1) модель P1 прогнозує SoM, що відповідають метаболічним реакціям фази 1;
- 2) модель P2 прогнозує SoM, що відповідають метаболічним реакціям фази 2;
- 3) модель P1 + P2 прогнозує SoM, що відповідають обом фазам метаболізму.

Код FAME 3 включає попередню обробку вхідних молекул, що включає стандартизацію нітрогруп, виявлення ароматичності та автоматичне додавання водню, якщо водні вхідної молекули явно не вказані. Оскільки етап передбачення SoM відбувається перед застосуванням правил реакції в рамках програми GLORYx, стандартизація описаних тут молекул залишається на місці для наступного етапу трансформації.

Правила реакції застосовуються з використанням Ambit-SMIRKS. Що стосується GLORY, будь-який продукт, що містить менше трьох важких атомів, не входить до набору передбачуваних метаболітів. Для того, щоб правильно застосувати правила реакції, тобто досягти тих самих передбачуваних метаболітів, що і SyGMA, використовуючи ті самі правила, необхідно було використовувати модель ароматичності, яка могла б розпізнати ароматичність у кільцях з екзоциклічними гетероатомами.

У GLORYx ваговий коефіцієнт 1 використовується для правил реакції, позначених як «загальні», а коефіцієнт ваги 0,2 використовується для правил реакцій, позначених як «незвичні». Таким чином, ці вагові коефіцієнти підтримують те саме співвідношення 5: 1, але масштабуються таким чином, що кінцевий бал пріоритету більше відображає імовірнісну концепцію, значення яких варіюються від 0 до 1.

Висновки до розділу 2

1. Наведено методи синтезу досліджуваної сполуки – N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду (лабораторний шифр VAZ16_p10).

2. Обґрунтовано перспективність поглибленого фармакологічного вивчення VAZ16_p10 як потенційного АФІ з анксиолітичними та ноотропними властивостями.

3. Обґрунтовано вибір та проведено аналіз розрахункових алгоритмів застосованих в роботі онлайн систем комп'ютерного прогнозування можливих шляхів біотрансформації в організмі людини.

РОЗДІЛ 3. ПРОГНОЗУВАННЯ НАПРЯМКІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ ПОТЕНЦІЙНОГО АНКСІОЛІТИКА

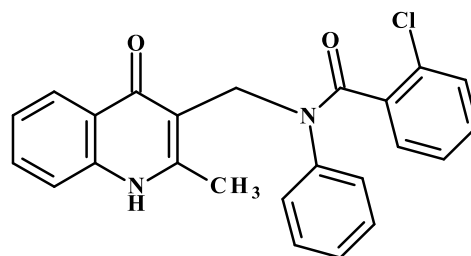
N-[(2-МЕТИЛ-4-ОКСО-1Н-ХІНОЛІН-3-ІЛ)МЕТИЛ]- N-ФЕНІЛ-2-ХЛОРБЕНЗАМІДУ

З метою прогнозування можливих шляхів біотрансформації перспективної сполуки – N-[(2-метил-4-оксо-1Н-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду (лабораторний шифр VAZ16_p10), застосовано п'ять різних онлайн ресурсів, що знаходяться у вільному доступі, а саме:

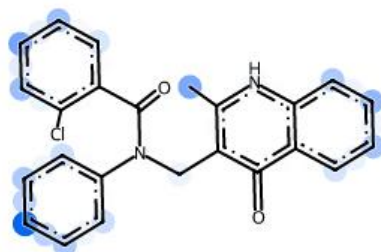
- 1) Xenosite (<https://xenosite.org/>)
- 2) SMARTCyp (https://smartcyp.sund.ku.dk/mol_to_som)
- 3) Way2Drug RA (<http://www.way2drug.com/RA>)
- 4) Biotransformer 3.0 (<http://biotransformer.ca>)
- 5) GLORYx (<https://nerdd.zbh.uni-hamburg.de>)

За результатами прогнозування можливих шляхів метаболізму N-[(2-метил-4-оксо-1Н-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду за допомогою онлайн сервісу Xenosite найбільш імовірним напрямком є окисне дезамінування амінометильного фрагменту в положенні 3 хінолонового кільця за класичним механізмом – утворення відповідного альдегіду та аміну (рис. 3.1). Також можливими напрямками біотрансформації молекули є стабільне окиснення, тобто ароматичне або аліфатичне гідроксилювання. У випадку ароматичного гідроксилювання реакція може відбуватись у всіх трьох ароматичних фрагментах молекули – хінолоновому кільці, фенільному заміснику та 2-хлорбензамідному фрагменті, з найбільшою вірогідністю – по *пара*-положенню фенільного замісника.

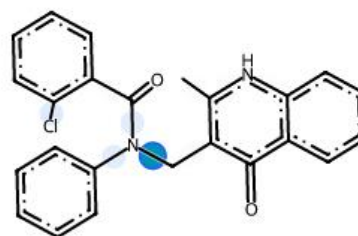
За результатами прогнозу метильна група в положенні 2 хінолонового циклу є високо реакційноздатною. За такого розвитку подій в результаті подальшого окиснення гідроксиметильної групи до карбоксильної, прогнозується утворення ряду метаболітів з новими фармакологічними властивостями – похідних кінуренової кислоти.



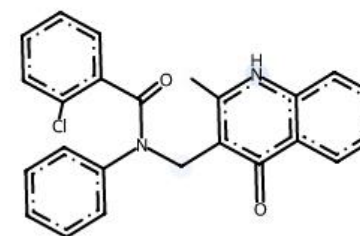
CC1=C(CN(C(=O)c2ccccc2Cl)c3ccccc3)C(=O)c4ccccc4N1



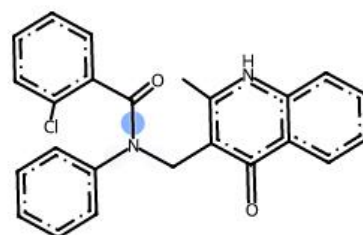
stable oxygenation



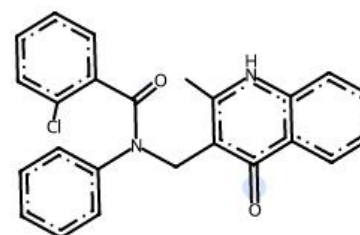
unstable oxygenation



dehydrogenation



hydrolysis



reduction

Рис. 3.1 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду за допомогою онлайн сервісу Xenosite

Кінуренова кислота (4-гідроксихінолін-2-карбонова кислота) є метаболітом триптофану та утворюється з кінуреніну під дією кінуренін-амінотрансферази [80]. Кінуренова кислота в головному мозку виступає ендогенним антагоністом гліцинового сайту NMDAR, що обумовлює інтерес до кінуренової кислоти як потенційного фармакокоректора патологічних станів, що супроводжуються та обтяжуються ексайтотоксичністю. Значною проблемою при дослідженнях *in vivo* стала незначна проникність зазначеної молекули крізь гематоенцефалічний бар'єр [80], тому зусилля дослідників зосередились на її хімічній модифікації з метою пошуку похідних кінуренової кислоти з фізико-хімічними властивостями, що здатні подолати це обмеження.

Слід також звернути увагу на ймовірність гідролізу бензамідного угруповання з утворенням ще й 2-метил-3-(феніламінометил)-2-метил-1Н-хінолін-4-ону (атристаміну) [81], який достатньо тривалий час інтенсивно досліджується на кафедрі медичної хімії як перспективний антидепресант з цілою низкою нейротропних ефектів.

Таким чином, результати прогнозування свідчать, що частково ефекти фармакодинаміки VAZ16_p10, зокрема її анксиолітичні та антиамнестичні властивості, можуть бути пов'язані не тільки з прямою дією сполуки на певні рецепторні системи головного мозку, а і з активними метаболітами, що утворюються внаслідок біотрансформації.

Окрім прогнозування можливих напрямків біотрансформації молекул в межах I фази метаболізму програмний комплекс Xenosite дозволяє оцінити певним чином безпечність перспективної сполуки в аспекті реактивності, а також можливості утворення токсичних метаболітів. За результатами проведеного прогнозування N-[(2-метил-4-оксо-1Н-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензамід має невисокі показники ймовірності утворення хінонів або епоксидів (рис. 3.2).

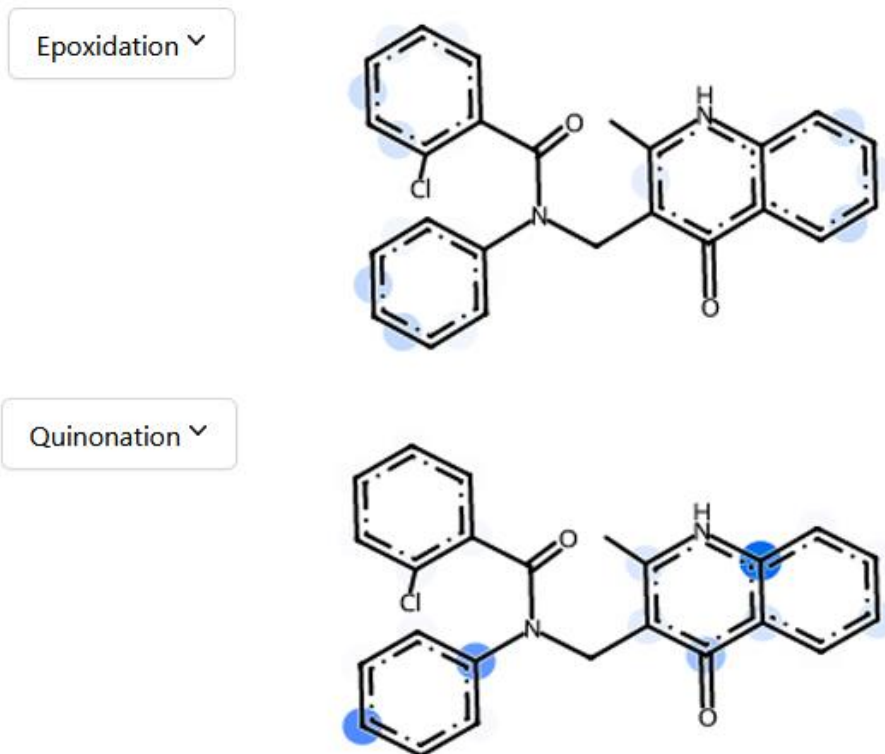
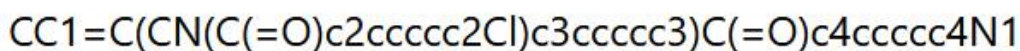
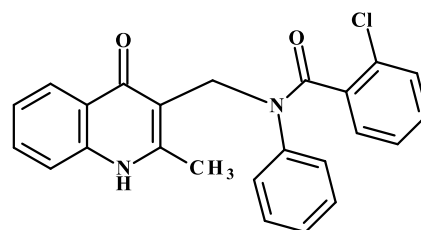
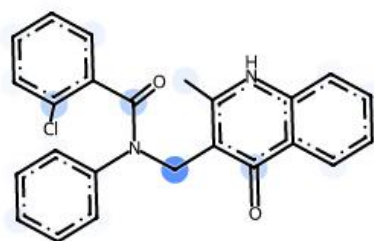
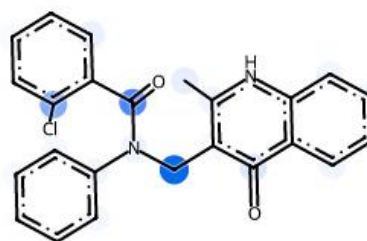


Рис. 3.2 Результати прогнозування можливості утворення високореактивних хінонів та епоксидів як метаболітів N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду (онлайн сервіс Xenosite)

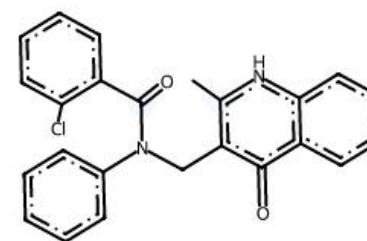
На рис. 3.3 наведено результати прогнозування реактивності досліджуваної молекули, тобто потенційної взаємодії з певними структурами в організмі людини. Показано, що VAZ16_p10 має невисокі показники потенційної взаємодії з системою відновленого глутатіону, білками та не має потенціалу до утворення ціанідів. Проте, існує певна ймовірність взаємодії з ДНК матеріалом за рахунок реакційноздатної метиленової групи амінометильного фрагменту, яка швидше за все в умовах *in vivo* не буде відбуватись, оскільки навряд чи зазначена молекула зможе, принаймні в незміненому вигляді, проникати безпосередньо до ядра клітини. Реактивність цієї групи швидше буде реалізована в реакціях окиснювального дезамінування як показано на рис. 3.1.


CC1=C(CN(C(=O)c2ccccc2Cl)c3ccccc3)C(=O)c4ccccc4N1


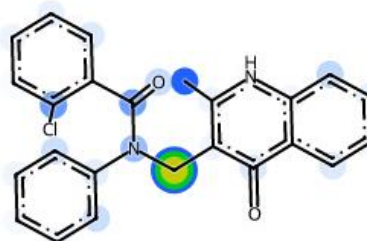
gsh



protein



cyanide



dna

Рис. 3.3 Результати прогнозування реактивності N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду в організмі людини за допомогою онлайн сервісу Xenosite

Аналіз результатів прогнозування за допомогою онлайн системи SMARTСур показав, що різноманітні ізоформи СYP можуть каталізувати процеси окиснення, а саме аліфатичне та ароматичне гідроксилювання по різних положеннях, окиснювальне дезамінування та утворення N-оксиду (рис. 3.4, 3.5 та 3.6).

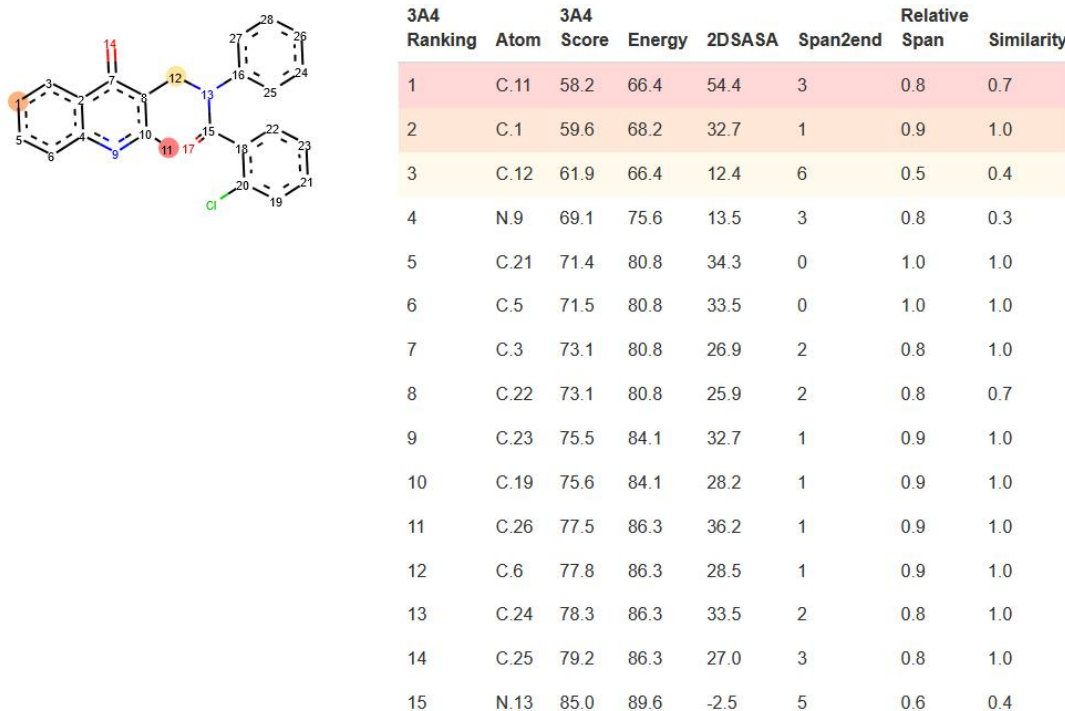
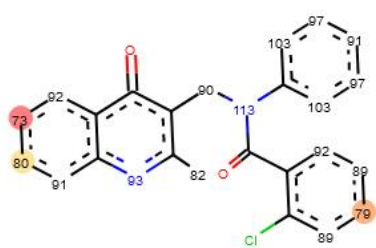


Рис. 3.4 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p10 за участі СYP3A4 (програмний комплекс SMARTСур)

За участі ізоформи СYP3A4 найбільш імовірними напрямками біотрансформації VAZ16_p10 є аліфатичне гідроксилювання метильної групи в положенні 2 хінолонового циклу, гідроксилювання гетероциклу в положення б, окиснювальне дезамінування амінометильного фрагменту в положенні 3 хінолонового кільця, утворення N-оксиду по гетероциклічному нітрогену та гідроксилювання *para*-положення бензамідного фрагменту (рис. 3.4). Серед мінорних шляхів метаболізму за участю ізоформи СYP3A4 можна віднести утворення гідроксильованих похідних по 7-му та 5-му положенню хінолонового циклу, нижче за ймовірністю – ароматичне гідроксилювання за участю атомів карбону бензамідного фрагменту, найстабільний в аспекті ароматичного гідроксилювання – фенільний замісник.



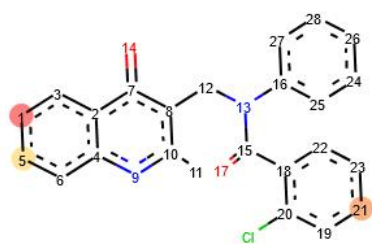
2C9 Ranking	Atom	2C9 Score	Energy	2DSASA	Span2end	COO-Dist	Similarity
1	C.1	72.8	68.2	32.7	1	0	1.0
2	C.21	79.4	80.8	34.3	0	0	1.0
3	C.5	79.5	80.8	33.5	0	0	1.0
4	C.11	81.9	66.4	54.4	3	0	0.7
5	C.23	88.7	84.1	32.7	1	0	1.0
6	C.19	88.9	84.1	28.2	1	0	1.0
7	C.12	89.6	66.4	12.4	6	0	0.4
8	C.26	90.8	86.3	36.2	1	0	1.0
9	C.6	91.1	86.3	28.5	1	0	1.0
10	C.3	91.5	80.8	26.9	2	0	1.0
11	C.22	91.6	80.8	25.9	2	0	0.7
12	N.9	92.8	75.6	13.5	3	0	0.3
13	C.24	96.8	86.3	33.5	2	0	1.0
14	C.25	102.9	86.3	27.0	3	0	1.0
15	N.13	113.4	89.6	-2.5	5	0	0.4

Рис. 3.5 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p10 за участі CYP2C9 (програмний комплекс SMARTCyp)

Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p10 за участі CYP2C9 та CYP2D6 вказують переважно на такі само напрямки, що і за участі CYP3A4 (рис. 3.5 та 3.6), зі збереженням спрямованості на ароматичне гідроксилювання різних положень.

Слід зауважити, що результати прогнозування напрямків біотрансформації VAZ16_p10 за допомогою різних систем з різними алгоритмами значною мірою збігаються або добре корелюють між собою.

Якщо окиснювальне дезамінування прогностично призводить повної втрати початкової архітектури молекули, ароматичне гідроксилювання з точки зору фармакологічної активності метаболітів також навряд чи є цікавим, то аліфатичне гідроксилювання метильної групи знову відкриває перспективу подальшого окиснення до біологічно активних похідних кінуренової кислоти.



2D6 Ranking	Atom	2D6 Score	Energy	2DSASA	Span2end	N+dist	Similarity
1	C.1	73.6	68.2	32.7	1	0	1.0
2	C.21	79.4	80.8	34.3	0	0	1.0
3	C.5	79.5	80.8	33.5	0	0	1.0
4	C.11	84.3	66.4	54.4	3	0	0.7
5	C.23	89.5	84.1	32.7	1	0	1.0
6	C.19	89.7	84.1	28.2	1	0	1.0
7	C.26	91.6	86.3	36.2	1	0	1.0
8	C.6	91.9	86.3	28.5	1	0	1.0
9	C.12	92.8	66.4	12.4	6	0	0.4
10	C.3	93.1	80.8	26.9	2	0	1.0
11	C.22	93.2	80.8	25.9	2	0	0.7
12	N.9	95.2	75.6	13.5	3	0	0.3
13	C.24	98.4	86.3	33.5	2	0	1.0
14	C.25	105.3	86.3	27.0	3	0	1.0
15	N.13	116.6	89.6	-2.5	5	0	0.4

Рис. 3.6 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p10 за участі CYP2D6 (програмний комплекс SMARTCyp)

На рис. 3.7 наведено фрагмент протоколу прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p10 за допомогою онлайн системи Biotransformer. Загалом системою розрахована можливість утворення 15 різноманітних метаболітів, переважна більшість з яких є продуктами ароматичного гідроксилювання по різних положеннях як гетероциклічної системи хінолону, так і фенільного та бензамідного фрагментів. Це цілком передбачувано з огляду на біохімічну природу процесів, які каталізують ферменти CYP.

При аналізі реакційної здатності ароматичних складових молекули до гідроксилювання можна зробити висновок, який повністю співпадає з результатами прогнозування за допомогою програмного комплексу SMARTCyp – хінолоновий цикл > бензамідний фрагмент > фенільний замісник.

BioTransformer 3.0 Metabolism Prediction About Download Contact Help -

Previous **1** Next

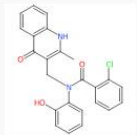
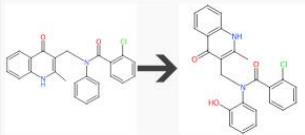
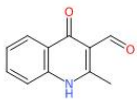
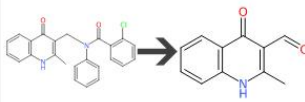
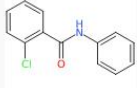
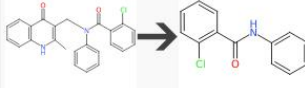
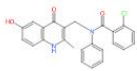
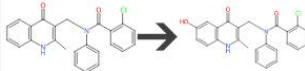
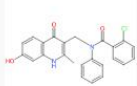
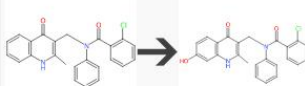
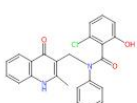
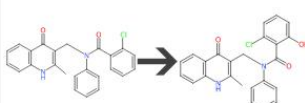
Result ID	Predicted Result	SMILES	Chemical Formula	Major Isotope Mass (Da)	Reaction Type	Reaction Info	Biotransformation Reaction
1		<chem>C1=CC=2C(=O)C(CN(C=3C(=CC=CC3)O)C(C=4C=CC=CC4Cl)=O)=C(C)NC2C=C1</chem>	C ₂₄ H ₁₉ ClN ₂ O ₃	418.1084	O-Hydroxylation of monosubstituted benzene	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	
2		<chem>C=1C=CC=2NC(C)=C(C=O)C(=O)C2C1</chem>	C ₁₁ H ₉ NO ₂	187.0633	N-Dealkylation of tertiary carboxamide AndFromCyProduct	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	
3		<chem>N(C=1C=CC=CC1)C(C=2C=CC=CC2Cl)=O</chem>	C ₁₃ H ₁₀ ClNO	231.045	N-Dealkylation of tertiary carboxamide AndFromCyProduct	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	
4		<chem>C1(=CC=2C(=O)C(CN(C=3C(=CC=CC3)C(C=4C=CC=CC4Cl)=O)=C(C)NC2C=C1)O</chem>	C ₂₄ H ₁₉ ClN ₂ O ₃	418.1084	Aromatic hydroxylation of fused benzene ring AndFromCyProduct	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	
5		<chem>C1=CC=2C(=O)C(CN(C=3C(=CC=CC3)C(C=4C=CC=CC4Cl)=O)=C(C)NC2C=C1)O</chem>	C ₂₄ H ₁₉ ClN ₂ O ₃	418.1084	Aromatic hydroxylation of fused benzene ring AndFromCyProduct	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	
6		<chem>C1=CC=2C(=O)C(CN(C=3C(=CC=CC3)C(C=4C(=CC=CC4Cl)O)=O)=C(C)NC2C=C1</chem>	C ₂₄ H ₁₉ ClN ₂ O ₃	418.1084	Hydroxylation of benzene on carbon ortho to electron donating group	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	

Рис. 3.7 Фрагмент протоколу прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p10 за допомогою онлайн системи Biotransformer

Можливим напрямком також є гідроліз бензамідного угруповання з утворенням зазначеного вище біологічно активного 2-метил-3-(феніламінометил)-2-метил-1Н-хінолін-4-ону (атристаміну) [74] та окиснення реакційноздатної метильної групи в положенні 2 хінолонового кільця.

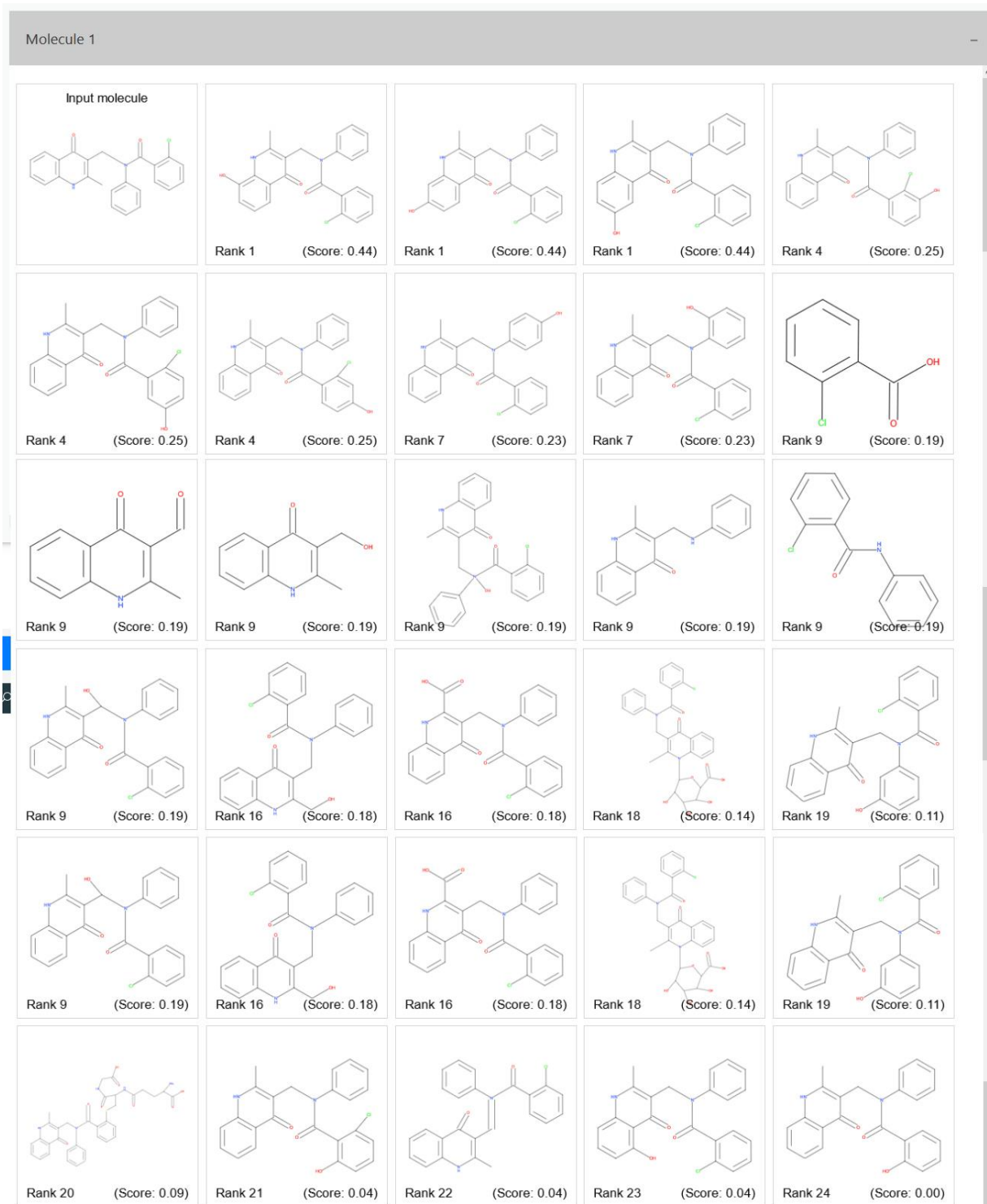


Рис. 3.8 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p10 за допомогою онлайн системи GLORYx

Також частина прогнозованих метаболітів вказує на можливість окиснювального дезамінування. Таким чином можна констатувати, що основні напрямки біотрансформації, прогнозовані за допомогою системи Biotransformer, повністю збігаються з результатами попередніх програм, не зважаючи на відмінності в алгоритмах розрахунків.

Аналіз прогнозованих метаболітів VAZ16_p10 за допомогою онлайн системи GLORYx підтверджує, що основними шляхами метаболічних перетворень досліджуваної молекули є ароматичне гідроксилування, гідроліз бензамідного фрагменту, окиснювальне дезамінування амінометильного фрагменту в положенні 3 та окиснення метильної групи в положенні 2 хінолонового кільця (рис. 3.8).

Окремої уваги заслуговує модуль системи GLORYx, який дозволяє прогнозувати субстратну специфічність сполуки до певних ізоформ CYP (рис. 3.9). Така оцінка дозволяє вже на ранніх етапах дослідження перспективних молекул спрогнозувати можливі метаболічні взаємодії речовини з відомими субстратами цитохромів при одночасному застосуванні. Як видно з рис. 3.9, VAZ16_p10 з високою ймовірністю метаболізується за участю цитохромів CYP3A4 та CYP2C8.

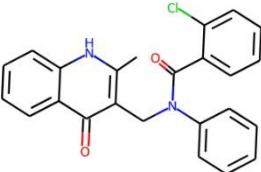
2D structure	CYP1A2	CYP2A6	CYP2B6	CYP2C8	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP2E1	CYP3A4
	No prediction	Non-substrate	No prediction	Substrate	No prediction	No prediction	No prediction	Non-substrate	Substrate

Рис. 3.9 Субстратна специфічність VAZ16_p10 до ізоформ цитохрому P450 за результатами онлайн системи GLORYx

Одними з найбільш інформативних є результати прогнозування за допомогою онлайн сервісу Way2Drug RA, які графічно репрезентовані на рис. 3.10.

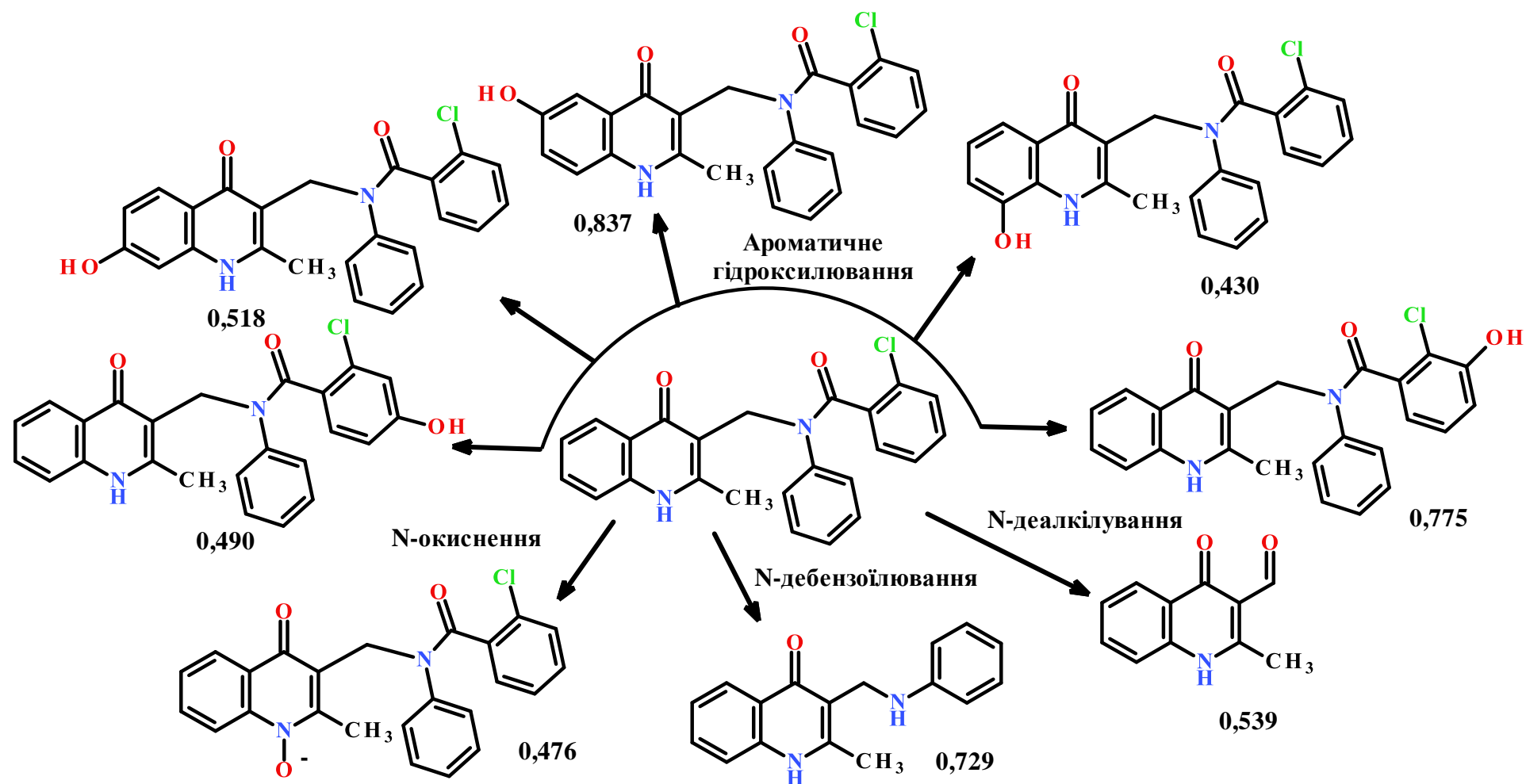


Рис. 3.10 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p10 за допомогою системи Way2Drug RA (наведено тільки напрямки, що мають найвищі показники DeltaP)

Цей програмний продукт надає тільки показники ймовірності перебігу того чи іншого процесу, тому візуалізація одержаних результатів вимагає певного експертного розуміння характеру біотрансформаційних змін для екстраполяції конкретних процесів, що можуть відбуватись відносно досліджуваної сполуки.

Як можна побачити з рис. 3.10, основними шляхами прогнозуються варіанти ароматичного гідроксилювання за участю атомів карбону як гетероциклічної системи хінолону, так і бензамідного фрагменту. Особливо реакційноздатним в аспекті ароматичного гідроксилювання є положення 6 системи хінолін-4-ону (рис. 3.10). Також спостерігаються обговорювані вище метаболіти з новими фармакологічними властивостями, що збігається з результатами розрахунків системою GLORYx в аспекті утворення, окрім кінцевих продуктів окиснення за метильною групою в положенні 2 гетероциклу (похідних кінуренової кислоти), ще й 2-метил-3-(феніламінометил)-2-метил-1H-хінолін-4-ону (атристаміну). При цьому ймовірності утворення саме цих продуктів біотрансформації є достатньо високими (рис. 3.10).

Слід підкреслити, що у попередніх роботах для атристаміну вже були проведені подібні дослідження можливих шляхів метаболізму, серед яких теж прогнозується утворення біологічно активних похідних кінуренової кислоти [81]. Зазначені результати репрезентовано на рис. 3.11.

Таким чином, комплексний аналіз результатів прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p10 за допомогою п'ятьох різних онлайн систем дозволяє зробити висновок, що молекула N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду може піддаватись інтенсивній біотрансформації за участю ферментних систем цитохрому P450. Основними напрямками можна вважати ароматичне гідроксилювання молекули досліджуваної речовини за участю атомів карбону гетероциклічної системи хінолону, фенільного замісника та бензамідного фрагменту, гідроліз бензамідного фрагменту, окиснювальне дезамінування амінометильного

фармакодинамічні ефекти VAZ16_p10, а саме ноотропний та седативний, можуть, принаймні частково, забезпечуватись саме цими фармакологічно активними метаболітами.

Загальні закономірності біотрансформаційних перетворень N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду повністю збігаються та цілковито укладаються в сучасні погляди медичної хімії щодо реакційної здатності ксенобіотиків під впливом ферментних систем цитохрому P450 організму людини. Результати, одержані з використанням різних систем, дещо відрізняються між собою, що повністю пояснюється різницею в алгоритмах розрахунків, покладених в основу програмних продуктів.

Висновки до розділу 3

1. Проведено комп'ютерне прогнозування можливих шляхів біотрансформації перспективної сполуки – N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду (лабораторний шифр VAZ16_p10) із застосуванням п'яти різних онлайн ресурсів, що знаходяться у вільному доступі.

2. Одержані результати свідчать, що молекула N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду в організмі людини може піддаватись інтенсивній біотрансформації за участю ферментних систем цитохрому P450.

3. Найбільш імовірними шляхами метаболізму досліджуваної сполуки є ароматичне гідроксилування молекули досліджуваної речовини за участю атомів карбону гетероциклічної системи хінолону, фенільного замісника та бензамідного фрагменту, гідроліз бензамідного фрагменту, окиснювальне дезамінування амінометильного фрагменту в положенні 3 та окиснення метильної групи в положенні 2 хінолонового кільця.

4. Прогнозовані напрямки аліфатичного гідроксилування за метильною групою в положенні 2 гетероциклу до похідних кінуренової кислоти та дебензоїлювання з утворенням 2-метил-3-(феніламінометил)-1H-хінолін-4-

ону (атристаміну) свідчать на користь припущення, що доведені фармакодинамічні ефекти VAZ16_p10 можуть частково забезпечуватись саме цими фармакологічно активними метаболітами.

5. За результатами модулю системи GLORYx, який дозволяє прогнозувати субстратну специфічність сполуки до певних ізоформ CYP, досліджувана сполука з високою ймовірністю метаболізується за участю цитохромів CYP3A4 та CYP2C8.

6. За результатами програми Xenosite N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензамід має низькі показники потенційної взаємодії з системою відновленого глутатіону, білками та низький потенціал до утворення ціанідів, хінонів або епоксидів, Проте, існує певна ймовірність взаємодії з ДНК клітин за рахунок реакційноздатної метиленової групи амінометильного фрагменту.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Проведено систематизацію та аналіз наукової літератури, присвяченої основним математичним та статистичним підходам та методам, які застосовуються для прогнозування можливих шляхів метаболізму хімічних речовин в організмі людини. Проведений аналіз підтверджує перспективність застосування програмного забезпечення з метою прогнозування можливих метаболітів потенційного лікарського засобу на ранніх етапах його дослідження.

2. Наведено методи синтезу N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду (лабораторний шифр VAZ16_p10). Обґрунтовано перспективність поглибленого фармакологічного вивчення VAZ16_p10 як потенційного анксиолітика з ноотропними властивостями. Обґрунтовано вибір та проведено аналіз розрахункових алгоритмів застосованих в роботі онлайн систем комп'ютерного прогнозування можливих шляхів метаболізму в організмі людини.

3. Проведено комп'ютерне прогнозування можливих шляхів біотрансформації перспективної сполуки – N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду (лабораторний шифр VAZ16_p10) із застосуванням п'яти різних онлайн ресурсів. Одержані результати свідчать, що молекула N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду в організмі людини може піддаватись інтенсивній біотрансформації за участю ферментних систем цитохрому P450.

4. Найбільш імовірними шляхами метаболізму досліджуваної сполуки є ароматичне гідроксилування молекули досліджуваної речовини за участю атомів карбону гетероциклічної системи хінолону, фенільного замісника та бензамідного фрагменту, гідроліз бензамідного фрагменту, окиснювальне дезамінування амінометильного фрагменту в положенні 3 та окиснення метильної групи в положенні 2 хінолонового кільця.

5. Прогнозовані напрямки аліфатичного гідроксилування за метильною групою в положенні 2 гетероциклу до похідних кінуренової кислоти та дебензоїлювання з утворенням 2-метил-3-(феніламінометил)-1H-хінолін-4-

ону (атристаміну) свідчать на користь припущення, що доведені фармакодинамічні ефекти VAZ16_p10 можуть частково забезпечуватись саме цими фармакологічно активними метаболітами.

6. За результатами модулю системи GLORYx, який дозволяє прогнозувати субстратну специфічність сполуки до певних ізоформ CYP, досліджувана сполука з високою ймовірністю метаболізується за участю цитохромів CYP3A4 та CYP2C8.

7. За результатами програми Xenosite N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензамід має низькі показники потенційної взаємодії з системою відновленого глутатіону, білками та низький потенціал до утворення ціанідів, хінонів або епоксидів. Проте, існує певна ймовірність взаємодії з ДНК клітин за рахунок реакційноздатної метиленової групи амінометильного фрагменту.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Lazar M. A., Birnbaum M. J. Physiology. De-meaning of metabolism. *Science*. 2012. Vol. 336. P. 1651–1652. doi:10.1126/science.1221834
2. Kang Y. P., Ward N. P., DeNicola G. M. Recent advances in cancer metabolism: a technological perspective. *Exp. Mol. Med.* 2018. Vol. 50, № 4. Art. № 31. doi:10.1038/s12276-018-0027-z
3. Mackenzie P. I., Somogyi A. A., Miners J. O. Advances in drug metabolism and pharmacogenetics research in Australia. *Pharmacol Res.* 2017. Vol. 116. P. 7–19. doi:10.1016/j.phrs.2016.12.008
4. Bernardini S., Tiezzi A., Laghezza Masci V., Ovidi E. Natural products for human health: an historical overview of the drug discovery approaches. *Nat Prod Res.* 2018. Vol. 32, № 16. P. 1926–1950. doi: 10.1080/14786419.2017.1356838
5. Stanley L. A., Chapter 27 – drug metabolism A2 – badal, simone, in: R. Delgoda (Ed.), *Pharmacognosy*, Academic Press, Boston. 2017. P. 527–545.
6. Stefano G. B., Ptáček R., Kuželová H., Kream R. M. Endogenous morphine: up-to-date review 2011. *Folia Biol (Praha)*. 2012. Vol. 58, № 2. P. 49–56.
7. Shadid M., Liu Y., Veizaj E., Huang J., Johnson J., Kamel A. Evaluation of rat brain subcellular fractions for the prediction of *in vivo* drug metabolism in brain. *Drug Metab. Pharmacol.* 2018. Vol. 33. Art. № S79.
8. Diao X., Carlier J., Zhu M., Pang S., Kronstrand R., Scheidweiler K. B., Huestis M. A. *In vitro* and *in vivo* human metabolism of a new synthetic cannabinoid NM-2201 (CBL-2201). *Forensic Toxicol.* 2017. Vol. 35. P. 20–32.
9. DiMasi J. A., Grabowski H. G., Hansen R. W. Innovation in the pharmaceutical industry: new estimates of R&D costs. *J. Health Econ.* 2016. Vol. 47. P. 20–33.
10. Alqahtani S. *In silico* ADME-Tox modeling: progress and prospects. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2017. Vol. 13. P. 1147–1158.

11. Andrade C. H., Silva D. C., Braga R. C. *In silico* prediction of drug metabolism by P450. *Curr. Drug Metab.* 2014. Vol. 15. P. 514–525.
12. Tan B. H., Pan Y., Dong A. N., Ong C. E. *In vitro* and *in silico* Approaches to Study Cytochrome P450-Mediated Interactions. *J Pharm Pharm Sci.* 2017. Vol. 20, № 1. P. 319–328. doi: 10.18433/J3434R
13. Schuster D., Steindl T. M., Langer T. Predicting drug metabolism induction *in silico*. *Curr. Top. Med. Chem.* 2006. Vol. 6. P. 1627–1640.
14. Fox T., Kriegl J. M. Machine learning techniques for *in silico* modeling of drug metabolism. *Curr. Top. Med. Chem.* 2006. Vol. 6. P. 1579–1591.
15. Lu Tan J. K. Software for metabolism prediction, in: J. Kirchmair (Ed.). *Drug Metabolism Prediction*, 2014.
16. Hansch C., Fujita T. ρ - σ - π analysis. A method for the correlation of biological activity and chemical structure. *J. Am. Chem. Soc.* 1964. Vol. 86. P. 1616–1626.
17. Free S. M. Jr, Wilson J. W. A mathematical contribution to structure-activity studies. *J. Med. Chem.* 1964. Vol. 7. P. 395–399.
18. Gertrudes J C., Maltarollo V. G., Silva R. A., Oliveira P. R., Honório K. M., da Silva A. B. Machine learning techniques and drug design. *Curr Med Chem.* 2012. Vol. 19, № 25. P. 4289–4297. doi: 10.2174/092986712802884259
19. Brown A. C., Fraser T. R. On the connection between chemical constitution and physiological action; with special reference to the physiological action of the salts of the ammonium bases derived from strychnia, brucia, thebaia, codeia, morphia, and nicotia. *J. Anat. Physiol.* 1868. Vol. 2. P. 224–242.
20. Kausar S., Falcao A. O. An automated framework for QSAR model building. *J. Cheminform.* 2018. Vol. 10, № 1. Art. № 1. doi:10.1186/s13321-017-0256-5
21. Domenico G., Giuseppe Felice M., Marco C., Angelo C., Orazio N. Applicability domain for QSAR models: where theory meets reality. *International*

journal of quantitative structure-property relationships (IJQSPR). 2016. Vol. 1. P. 45–63.

22. Roy K., Kar S., Das R. N. Chapter 2 – Chemical Information and Descriptors, Understanding the Basics of QSAR for Applications in Pharmaceutical Sciences and Risk Assessment. Academic Press, Boston. 2015, P. 47–80.

23. Gramatica P. A Short History of QSAR Evolution. 2011. Access: https://www.researchgate.net/publication/252172555_A_SHORT_HISTORY_OF_QSAR_EVOLUTION (Дата доступу: 28.09.2022)

24. Stjernschantz E., Vermeulen N. P. E., Oostenbrink C. Computational prediction of drug binding and rationalisation of selectivity towards cytochromes P450. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2008. Vol. 4. P. 513–527.

25. Kurup A. C-QSAR: a database of 18,000 QSARs and associated biological and physical data. *J. Comput. Aided Mol. Des.* 2003. Vol. 17. P. 187–196.

26. Ruusmann V., Sild S., Maran U. QSAR databank repository: open and linked qualitative and quantitative structure-activity relationship models. *J. Cheminform.* 2015. Vol. 7. Art. № 32. doi: 10.1186/s13321-015-0082-6

27. Lo Y. C., Rensi S. E., Torng W., Altman R. B. Machine learning in chemoinformatics and drug discovery. *Drug Discov Today.* 2018. Vol. 23, № 8. P. 1538-1546. doi: 10.1016/j.drudis.2018.05.010

28. Ramsay R. R., Popovic-Nikolic M. R., Nikolic K., Uliassi E., Bolognesi M. L. A perspective on multi-target drug discovery and design for complex diseases. *Clin Transl Med.* 2018. Vol. 7, № 1. Art. № 3. doi: 10.1186/s40169-017-0181-2

29. Jordan M. I., Mitchell T. M. Machine learning: trends, perspectives, and prospects. *Science.* 2015. Vol. 349. P. 255–260.

30. Ivanciuc O. Machine learning quantitative structure-activity relationships (QSAR) for peptides binding to the human amphiphysin-1 SH3 domain. *Curr. Proteomics.* 2009. Vol. 6. P. 289–302.

31. Fleming N. How artificial intelligence is changing drug discovery. *Nature.* 2018. Vol. 557. P. S55–S57.

32. Mitchell J. B. O. Machine learning methods in chemoinformatics. *Wiley Interdiscip. Rev.: Comput. Mol. Sci.* 2014. Vol. 4. P. 468–481.
33. Singh N., Shah P., Dwivedi H., Mishra S., Tripathi R., Sahasrabuddhe A. A., Siddiqi M. I. Integrated machine learning, molecular docking and 3D-QSAR based approach for identification of potential inhibitors of trypanosomal N-myristoyltransferase. *Mol Biosyst.* 2016. Vol. 12, № 12. P. 3711–3723. doi: 10.1039/c6mb00574h
34. Lo Y. C., Rensi S. E., Torng W., Altman R. B. Machine learning in chemoinformatics and drug discovery. *Drug Discov Today.* 2018. Vol. 23, № 8. P. 1538-1546. doi: 10.1016/j.drudis.2018.05.010
35. Maltarollo V. G., Gertrudes J. C., Oliveira P. R., Honorio K. M. Applying machine learning techniques for ADME-Tox prediction: a review. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2015. Vol. 11, № 2. P. 259–271. doi: 10.1517/17425255.2015.980814
36. Ekins S. The next era: deep learning in pharmaceutical research. *Pharm. Res. (N. Y.).* 2016. Vol. 33. P. 2594–2603.
37. Min S., Lee B., Yoon S. Deep learning in bioinformatics. *Briefings Bioinf.* 2017. Vol. 18. P. 851–869.
38. Gupta A., Müller A. T, Huisman B. J. H., Fuchs J. A., Schneider P., Schneider G. Generative Recurrent Networks for *De Novo* Drug Design. *Mol Inform.* 2018. Vol. 37, № 1-2. Art. № 1700111. doi: 10.1002/minf.201700111
39. Xu Y., Mo T., Feng Q., Zhong P., Lai M., Chang E. I. C. Deep learning of feature representation with multiple instance learning for medical image analysis. *IEEE Trans. Acoust. Speech Signal Process.* 2014. P. 1626–1630.
40. Yap C. W., Li Z. R., Chen Y. Z. Quantitative structure-pharmacokinetic relationships for drug clearance by using statistical learning methods. *J Mol Graph Model.* 2006. Vol. 24, № 5. P. 383–395. doi: 10.1016/j.jmkgm.2005.10.004
41. Spencer M., Eickholt J., Jianlin C. A deep learning network approach to *ab initio* protein secondary structure prediction. *IEEE/ACM Trans. Comput. Biol. Bioinform.* 2015. Vol. 12. P. 103–112.

42. Baskin I. I., Winkler D., Tetko I. V. A renaissance of neural networks in drug discovery. *Expert Opin Drug Discov.* 2016. Vol. 11, № 8. P. 785–795. doi: 10.1080/17460441.2016.1201262
43. Zhang L., Zhang H., Ai H., Hu H., Li S., Zhao J., Liu H. Applications of Machine Learning Methods in Drug Toxicity Prediction. *Curr Top Med Chem.* 2018. Vol. 18, № 12. P. 987–997. doi: 10.2174/1568026618666180727152557
44. Lavecchia A. Machine-learning approaches in drug discovery: methods and applications. *Drug Discov, Today Off.* 2015. Vol. 20. P. 318–331.
45. Venkatapathy R., Wang N. C. Developmental toxicity prediction. *Methods Mol. Biol.* 2013. Vol. 930. P. 305–340.
46. Jorgensen W.L. The many roles of computation in drug discovery. *Science.* 2004. Vol. 303. P. 1813–1818.
47. Zheng M., Luo X., Shen Q., Wang Y., Du Y., Zhu W., Jiang H. Site of metabolism prediction for six biotransformations mediated by cytochromes P450. *Bioinformatics.* 2009. Vol. 25, № 10. P. 1251–1258. doi: 10.1093/bioinformatics/btp140
48. Ganesan A., Coote M. L., Barakat K. Molecular dynamics-driven drug discovery: leaping forward with confidence. *Drug Discov Today.* 2017. Vol. 22, № 2. P. 249–269. doi: 10.1016/j.drudis.2016.11.001
49. Alonso H., Bliznyuk A. A., Gready J. E. Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design. *Med Res Rev.* 2006. Vol. 26, № 5. P. 531–568. doi: 10.1002/med.20067
50. Melo-Filho C. C., Braga R. C., Andrade C. H. Advances in methods for predicting phase I metabolism of polyphenols. *Curr Drug Metab.* 2014. Vol. 15, № 1. P. 120–126. doi: 10.2174/1389200215666140130125339
51. Koshland D. E. The key-lock theory and the induced fit theory. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1994. Vol. 33. P. 2375–2378.
52. Shetty R. P., De Bakker P. I., DePristo M. A., Blundell T. L. Advantages of fine-grained side chain conformer libraries. *Protein Eng.* 2003. Vol. 16, № 12. P. 963–969. doi: 10.1093/protein/gzg143

53. Moitessier N., Englebienne P., Lee D., Lawandi J., Corbeil C. R. Towards the development of universal, fast and highly accurate docking/scoring methods: a long way to go. *Br J Pharmacol*. 2008. Vol. 153, Suppl. 1. P. S7–26. doi: 10.1038/sj.bjp.0707515

54. B-Rao C., Subramanian J., Sharma S. D. Managing protein flexibility in docking and its applications. *Drug Discov Today*. 2009. Vol. 14, № 7-8. P. 394–400. doi: 10.1016/j.drudis.2009.01.003

55. Yao Z., Lin Z., Wang T., Tian D., Zou X., Gao Y., Yin D. Using molecular docking-based binding energy to predict toxicity of binary mixture with different binding sites. *Chemosphere*. 2013. Vol. 92, № 9. P. 1169–1176. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.01.081

56. Ji Z. L., Wang Y., Yu L., Han L. Y., Zheng C. J., Chen Y. Z. *In silico* search of putative adverse drug reaction related proteins as a potential tool for facilitating drug adverse effect prediction. *Toxicol Lett*. 2006. Vol. 164, № 2. P. 104–112. doi: 10.1016/j.toxlet.2005.11.017

57. Ma C., Kang H., Liu Q., Zhu R., Cao Z. Insight into potential toxicity mechanisms of melamine: an *in silico* study. *Toxicology*. 2011. Vol. 283, № 2-3. P. 96–100. doi: 10.1016/j.tox.2011.02.009

58. Rautio J., Meanwell N. A., Di L., Hageman M. J. The expanding role of prodrugs in contemporary drug design and development. *Nat. Rev. Drug Discovery*. 2018. Vol. 17. P. 559–587.

59. Wilkinson G. R. Drug therapy – drug metabolism and variability among patients in drug response. *N. Engl. J. Med*. 2005. Vol. 352. P. 2211–2221.

60. Pilgrim J. L., Gerostamoulos D., Drummer O. H. Review: Pharmacogenetic aspects of the effect of cytochrome P450 polymorphisms on serotonergic drug metabolism, response, interactions, and adverse effects. *Forensic Sci Med Pathol*. 2011. Vol. 7, № 2. P. 162–184. doi: 10.1007/s12024-010-9188-3

61. Lin J. H., Yamazaki M. Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics: clinical implications. *Clin. Pharmacokinet*. 2003. Vol. 42. P. 59–98.

62. Akabane T., Gerst N., Naritomi Y., Masters J. N., Tamura K. A practical and direct comparison of intrinsic metabolic clearance of several non-CYP enzyme substrates in freshly isolated and cryopreserved hepatocytes. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2012. Vol. 27, № 2. P. 181–191. doi: 10.2133/dmpk.dmpk-11-rg-097
63. Cai Y., Yang H., Li W., Liu G., Lee P. W., Tang Y. Multiclassification Prediction of Enzymatic Reactions for Oxidoreductases and Hydrolases Using Reaction Fingerprints and Machine Learning Methods. *J Chem Inf Model.* 2018. Vol. 58, № 6. P. 1169–1181. doi: 10.1021/acs.jcim.7b00656
64. Niu B., Huang G., Zheng L., Wang X., Chen F., Zhang Y., Huang T. Prediction of substrate-enzyme-product interaction based on molecular descriptors and physicochemical properties. *Biomed Res Int.* 2013. Vol. 2013. Art. № 674215. doi: 10.1155/2013/674215
65. Schomburg I., Chang A., Ebeling C., Gremse M., Heldt C., Huhn G., Schomburg D. BRENDA, the enzyme database: updates and major new developments. *Nucleic Acids Res.* 2004. Vol. 32 (Database issue). P. D431–433. doi: 10.1093/nar/gkh081
66. HMDB: a knowledgebase for the human metabolome / D. S. Wishart et al. *Nucleic Acids Res.* 2009. Vol. 37 (Database issue). P. D603–610. doi: 10.1093/nar/gkn810
67. Yu M. S., Lee H. M., Park A., Park C., Ceong H., Rhee K. H., Na D. *In silico* prediction of potential chemical reactions mediated by human enzymes. *BMC Bioinformatics.* 2018. Vol. 19 (Suppl 8). Art. № 207. doi: 10.1186/s12859-018-2194-2
68. Yamanishi Y., Araki M., Gutteridge A., Honda W., Kanehisa M. Prediction of drug-target interaction networks from the integration of chemical and genomic spaces. *Bioinformatics.* 2008. Vol. 24, № 13. P. i232–240. doi: 10.1093/bioinformatics/btn162

69. Zhao L., Wang W., Sedykh A., Zhu H. Experimental Errors in QSAR Modeling Sets: What We Can Do and What We Cannot Do. *ACS Omega*. 2017. Vol. 2, № 6. P. 2805–2812. doi: 10.1021/acsomega.7b00274

70. Raies A. B., Bajic V. B. *In silico* toxicology: computational methods for the prediction of chemical toxicity. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* 2016. Vol. 6. P. 147–172.

71. Nendza M., Aldenberg T., Benfenati E., Benigni R., Cronin M., Escher S., Fernandez A. Data quality assessment for *in silico* methods: A survey of approaches and needs. in M Cronin & J Madden (eds), *In Silico Toxicology: Principles and applications*. Issues of toxicology, no. 7, Cambridge, UK, 2010. P. 59–117. <https://doi.org/10.1039/9781849732093-00059>

72. Rudik A., Dmitriev A., Lagunin A., Filimonov D., Poroikov V. SOMP: web server for *in silico* prediction of sites of metabolism for drug-like compounds. *Bioinformatics*. 2015. Vol. 31. P. 2046–2048.

73. Зубков В. А., Гриценко И. С., Таран С. Г., Подольский И. Н., Каменецкая О. Л. 3-Диметиламинометил-2-метил-1H-хинолин-4-он – эффективный реагент в синтезе 3-аминометилзамещенных хинолонов. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2005. Т. 3, № 2(10). С. 23–27.

74. Podolsky I. M., Shtrygol' S. Yu., Zubkov V. O. The psycho- and neurotropic profiling of novel 3-(N-R,R'-aminomethyl)-2-methyl-1H-quinolin-4-ones *in vivo*. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2018. Vol. 26. P. 107–114.

75. Matlock M. K., Hughes T. B., Swamidass S. J. XenoSite server: a web-available site of metabolism prediction tool. *Bioinformatics*. 2015. Vol. 31, № 7. P. 1136–1137.

76. Olsen L., Montefiori M., Tran K. P., Jørgensen F. S. SMARTCyp 3.0: enhanced cytochrome P450 site-of-metabolism prediction server. *Bioinformatics*. 2019. Vol. 35, № 17. P. 3174–3175.

77. Rudik A. V., Dmitriev A. V., Lagunin A. A., Filimonov D. A., Poroikov V. V. Prediction of reacting atoms for the major biotransformation reactions of organic xenobiotics. *J. Cheminform.* 2016. № 8. E68.

78. Djoumbou-Feunang Y., Fiamoncini J., Gil-de-la-Fuente A., Greiner R. BioTransformer: a comprehensive computational tool for small molecule metabolism prediction and metabolite identification. *J. Cheminform.* 2019. Vol. 11, № 1. E02.

79. de Bruyn Kops C., Šícho M., Mazzolari A., Kirchmair J. GLORYx: Prediction of the Metabolites Resulting from Phase 1 and Phase 2 Biotransformations of Xenobiotics. *Chem. Res. Toxicol.* 2021. Vol. 34, № 2. P. 286–299.

80. Recent evidence for an expanded role of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism in neurological diseases / M. D. Lovelace et al. *Neuropharmacology.* 2017. Vol. 112, part B. P. 373–388.

81. Подольський І. М., Штриголь С. Ю. *In silico* дослідження можливих шляхів метаболізму атристаміну в організмі людини. *Медична та клінічна хімія.* 2019. Т. 21, № 3. С. 44–52.

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
проф. Ліна ПЕРЕХОДА

«22» серпня 2022 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ

Антон ЧЕРНЕЦЬКОГО

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Прогнозування напрямків біотрансформації потенційного анксиолітика $N-[(2\text{-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил}]-N\text{-феніл-2-хлорбензаміду}$ », керівник кваліфікаційної роботи: Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, д.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: біотрансформація лікарських засобів в організмі людини, перспективна біологічно активна речовина, фармакологічна активність, комп'ютерні онлайн системи прогнозування метаболізму ксенобіотиків, реакції I фази метаболізму, реакції II фази метаболізму, окиснення, ароматичне гідроксилювання, аліфатичне гідроксилювання, деалкілювання, сайт метаболізму, біологічно активні метаболіти.

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): обґрунтування необхідності дослідження можливих шляхів біотрансформації потенційного АФІ з анксиолітичними та ноотропними властивостями; аналіз та відбір систем комп'ютерного прогнозування; характеристика матеріалів і методів дослідження, використаних в експерименті; проведення комп'ютерного прогнозування; обробка одержаних результатів.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): таблиць – 3; рисунків – 16; схем – 2.

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії	23.08.2022	23.08.2022
2	Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії	29.09.2022	29.09.2022
3	Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії	27.10.2022	27.10.2022

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

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Підбір та вивчення інформаційних джерел для написання кваліфікаційної роботи, складання бібліографічного списку джерел інформації	серпень-вересень 2022 р.	виконано
2	Ознайомлення, аналіз алгоритмів комп'ютерних онлайн систем прогнозування метаболізму ксенобіотиків. Вибір програмних продуктів та аналіз особливостей роботи з ними	жовтень 2022 р.	виконано
3	Прогнозування ймовірних шляхів метаболізму N-[(2-метил-4-оксо-1Н-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду – потенційного АФІ анксиолітичної та ноотропної дії	жовтень-листопад 2022 р.	виконано
4	Аналіз отриманих результатів	листопад 2022 р.	виконано
5	Оформлення кваліфікаційної роботи	грудень 2022 р.	виконано

Здобувач вищої освіти

_____ Антон ЧЕРНЕЦЬКИЙ

Керівник кваліфікаційної роботи

_____ Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ

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 **2 курсу**, спеціальність – **226 Фармація, промислова фармація**, освітня програма – **Фармація**, ступінь вищої освіти – **магістр**, термін навчання – **1 р. 6 міс.**, **заочна** форми.

Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
Кафедра медичної хімії				
Чернецький Антон Леонідович	Прогнозування напрямків біотрансформації потенційного анксиолітика N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду	Prediction of biotransformation directions of potential anxiolytic N-[(2-methyl-4-oxo-1H-quinolin-3-yl)methyl]-N-phenyl-2-chlorobenzamide	д.фарм.н., доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії Подольський І.М.	д.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**

№ 111182 від «16» січня 2023 р.

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти заочної форми навчання Чернецького Антона Леонідовича, 2 курсу, _____ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Прогнозування напрямків біотрансформації потенційного анксиолітика N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду / Prediction of biotransformation directions of potential anxiolytic N-[(2-methyl-4-oxo-1H-quinolin-3-yl)methyl]-N-phenyl-2-chlorobenzamide», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копіляції).

**Голова комісії,
професор**



Інна ВЛАДИМИРОВА

11%

20%

ВІДГУК

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

Антон ЧЕРНЕЦЬКОГО

на тему: «Прогнозування напрямків біотрансформації потенційного
анксіолітика N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлор-
бензаміду».

Актуальність теми. З метою зменшення ризиків відкликання сполук-кандидатів у ліки на стадії клінічних випробувань внаслідок несприятливих метаболічних характеристик молекул необхідні ефективні та надійні способи прогнозування метаболізму молекули біологічно активної сполуки *in silico*, *in vitro* та *in vivo*. Експериментальні дослідження можливих шляхів біотрансформації нових молекул *in vitro* та *in vivo* завжди є нетривіальними та ресурсозатратними задачами. Саме тому застосування комп'ютерного прогнозування можливих шляхів метаболізму потенційного кандидата у ліки на початкових етапах є цілком виправданим та ефективним підходом, який дозволяє ідентифікувати сайти метаболізму, прогнозувати структури метаболітів, що утворюються, інтенсивність метаболізму та специфічність субстратів до ензимів цитохрому P450. Обрана тематика кваліфікаційної роботи спрямована на вирішення цих питань, що визначає її актуальність.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість.

Одержані результати дослідження розширюють знання щодо можливих шляхів метаболізму N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду, речовини що є перспективним АФІ з анксіолітичними та ноотропними властивостями. Одержані результати можуть значно розширити та поглибити розуміння як фармакодинамічних, так і фармакокінетичних особливостей перспективного кандидата в АФІ за умов подальшого поглибленого фармакологічного дослідження та впровадження сполуки в медичну практику.

Оцінка роботи. Кваліфікаційна робота має класичну структуру: вступна частина, 3 розділи (огляд літератури і 2 розділи експериментальних досліджень), висновки та список використаних літературних джерел. В роботі докладно обґрунтована актуальність теми, детально описані матеріали та методи досліджень, послідовно репрезентовані результати комп'ютерного

прогнозування, проведено ґрунтовний аналіз одержаних результатів та логічно сформульовані висновки. Дослідження виконані на сучасному та високому рівні, а сформульовані висновки не викликаються сумнівів.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту. Кваліфікаційна робота Антона ЧЕРНЕЦЬКОГО виконана на високому рівні з науковою новизною та практичною значимістю отриманих результатів. За актуальністю, рівнем виконання та обґрунтованістю висновків робота відповідає вимогам, які висуваються до кваліфікаційних робіт ступеня вищої освіти магістр і може бути представлена до захисту в Екзаменаційній комісії.

Науковий керівник

Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ

«07» грудня 2022 р.

РЕЦЕНЗІЯ

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

Антон ЧЕРНЕЦЬКОГО

на тему: «Прогнозування напрямків біотрансформації потенційного анксиолітика N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду».

Актуальність теми. Подана на рецензування робота Антона ЧЕРНЕЦЬКОГО присвячена комп'ютерному прогнозування можливих шляхів біотрансформації потенційного активного фармацевтичного інгредієнта з анксиолітичними та ноотропними властивостями N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду. Під час метаболічних перетворень біологічно активних молекул в організмі людини можуть виникати метаболіти з фізико-хімічними та фармакологічними властивостями, які суттєво відрізняються від таких у "материнських" сполук, що має важливе значення як з огляду на ефективність, так і в аспекті безпечності лікарських засобів. Експериментальні дослідження можливих шляхів біотрансформації нових молекул *in vitro* та *in vivo* завжди є нетривіальними та ресурсозатратними задачами. Саме тому застосування комп'ютерного прогнозування можливих шляхів метаболізму потенційного кандидата у ліки на початкових етапах є цілком виправданим та ефективним підходом, який дозволяє ідентифікувати сайти метаболізму, прогнозувати структури метаболітів, що утворюються, інтенсивність метаболізму та специфічність субстратів до ензимів цитохрому P450. Підходи *in silico* все частіше використовуються для прогнозування метаболічного перетворення лікарських засобів і вважаються найкращою стратегією «відмовитися рано і відмовитися дешево», що дозволяє знизити витрати, заощадити час і, таким чином, зменшити рівень «провалів» на пізніх стадіях відкриття лікарських засобів. Обрана тематика кваліфікаційної роботи спрямована на вирішення саме таких питань, що визначає її актуальність.

Теоретичний рівень роботи. Кваліфікаційна робота виконана на високому теоретичному рівні, оскільки її результати окрім практичної значущості, має значний методологічний потенціал. Розроблений під час виконання роботи методичний підхід до прогнозування можливих шляхів метаболізму ксенобіотиків в організмі людини із застосуванням різних алгоритмів доцільно рекомендувати використовувати науковцям у своїх прикладних дослідженнях.

Пропозиції автора по темі дослідження. Одержані автором результати свідчать, що молекула N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду може інтенсивно метаболізуватись за участю ферментних систем цитохрому P450. Найбільш імовірними шляхами метаболізму досліджуваної сполуки є ароматичне гідроксилювання молекули досліджуваної речовини за участю атомів карбону гетероциклічної системи хінолону, фенільного замісника та бензамідного фрагменту, гідроліз бензамідного фрагменту, окиснювальне дезамінування амінометильного фрагменту в положенні 3 та окиснення метильної групи в положенні 2 хінолонового кільця. Прогнозовані напрямки аліфатичного гідроксилювання за метильною групою в положенні 2 гетероциклу до похідних кінуренової кислоти та дебензоїлювання з утворенням 2-метил-3-(феніламінометил)-1H-хінолін-4-ону (атристаміну) свідчать на користь припущення, що доведені фармакодинамічні ефекти VAZ16_p10 можуть частково забезпечуватись саме цими фармакологічно активними метаболітами.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість.

Одержані результати дослідження розширюють знання щодо можливих шляхів метаболізму N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду, речовини що є перспективною сполукою з анксиолітичними та ноотропними властивостями. Одержані результати можуть значно розширити та поглибити розуміння як фармакодинамічних, так і фармакокінетичних особливостей перспективного кандидата в АФІ за умов подальшого поглибленого фармакологічного дослідження та впровадження сполуки в медичну практику. Висновки логічно сформульовані на основі одержаних даних і не викликають сумнівів.

Недоліки роботи. В роботі зустрічаються граматичні помилки, русизми та окремі недоліки в оформленні літературних посилань, проте вони є незначними і не знижують загальну цінність роботи.

Загальний висновок і оцінка роботи. Подана на рецензування робота Антона ЧЕРНЕЦЬКОГО за обсягом та змістом відповідає вимогам, що висувуються до кваліфікаційних робіт ступеня вищої освіти магістр і може бути представлена до захисту в Екзаменаційній комісії.

Рецензент _____

доц. Ганна СЕВЕРІНА

«15» грудня 2022 р.

ВИТЯГ

з протоколу засідання кафедри медичної хімії

№ 5 від 23 грудня 2022 р.

ПРИСУТНІ:

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

ПОРЯДОК ДЕННИЙ:

Звіт про стан виконання кваліфікаційної роботи здобувача вищої освіти факультету фармацевтичних технологій та менеджменту, Фм21(1.6з)-01а групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Антона ЧЕРНЕЦЬКОГО на тему: «Прогнозування напрямків біотрансформації потенційного анксиолітика N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду».

СЛУХАЛИ: доповідь здобувача вищої освіти факультету фармацевтичних технологій та менеджменту, Фм21(1.6з)-01а групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Антона ЧЕРНЕЦЬКОГО на тему: «Прогнозування напрямків біотрансформації потенційного анксиолітика N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду», керівник – доцент ЗВО кафедри медичної хімії, д.фарм.н. Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ.

УХВАЛИЛИ: рекомендувати кваліфікаційну роботу Антона ЧЕРНЕЦЬКОГО до офіційного захисту в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри медичної хімії,

професор

Ліна ПЕРЕХОДА

Секретар кафедри медичної хімії,

доцент

Марина РАХІМОВА

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

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

Направляється здобувач вищої освіти Антон ЧЕРНЕЦЬКИЙ до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «Прогнозування напрямків біотрансформації потенційного анксиолітика N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду»

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Наталія ЖИВОРА /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Антон ЧЕРНЕЦЬКИЙ обґрунтував актуальність дослідження з прогнозування можливих шляхів біотрансформації потенційного АФІ анксиолітичної та ноотропної дії N-[(2-метил-4-оксо-1H-хінолін-3-іл)метил]-N-феніл-2-хлорбензаміду, проаналізував доступні у вільному доступі онлайн системи прогнозування біотрансформації ксенобіотиків в організмі людини, набув практичних навичок роботи з обраними для роботи програмними продуктами та здійснив прогнозування можливих шляхів метаболізму досліджуваної сполуки, проаналізував та узагальнив результати досліджень. Під час виконання кваліфікаційної роботи виявив здібності до наукового пошуку, аналізу та систематизації даних. Отримані результати розширюють відомості щодо можливих шляхів біотрансформації перспективного кандидата в АФІ.

Керівник кваліфікаційної роботи

Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ

«07» грудня 2022 року

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Антон ЧЕРНЕЦЬКИЙ 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
«09» лютого 2023 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії,
доктор фармацевтичних наук, професор

_____ / Володимир ЯКОВЕНКО /