

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

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

на тему: **«ПРОГНОЗУВАННЯ ЙМОВІРНИХ ШЛЯХІВ МЕТАБОЛІЗМУ  
2-МЕТИЛ-3-[(4-МЕТОКСИАНІЛІНО)МЕТИЛ]-1Н-ХІНОЛІН-4-ОНУ –  
ПОТЕНЦІЙНОГО АФІ СЕДАТИВНОЇ ДІЇ»**

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

**Олексій СТЕФАНКІВ**

**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 ймовірних шляхів метаболізму потенційного АФІ седативної та ноотропної дії 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону. Доведено, що молекула досліджуваної речовини може інтенсивно метаболізуватись за участю ферментних систем цитохрому Р450. Найбільш імовірними шляхами біотрансформації є ароматичне гідроксилування за участю атомів карбону гетероциклічної системи хінолону, О-деметилювання метоксильної групи, N-деалкілювання амінометильного фрагменту. Прогнозований напрямок аліфатичного гідроксилування за метильною групою в положенні 2 гетероциклу до похідних кінуренової кислоти свідчить, що доведені фармакодинамічні ефекти можуть частково забезпечуватись саме цими фармакологічно активними метаболітами.

*Ключові слова:* 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-он, метаболізм, біотрасформація, комп'ютерне прогнозування, онлайн системи, фармакологічна активність.

## ANNOTATION

The computer prediction of the possible pathways of metabolism of a potential API with sedative and nootropic effects, 2-methyl-3-[(4-methoxyanilino)methyl]-1H-quinoline-4-one, was performed. It was proved, that the molecule of the test substance can be intensively metabolized by cytochrome P450 enzyme systems. The most probable pathways of biotransformation are aromatic hydroxylation involving carbon atoms of the quinolone heterocyclic system, O-demethylation of the methoxyl group, N-dealkylation of the amino methyl fragment. The predicted direction of aliphatic hydroxylation at the methyl group at position 2 of the heterocycle to kynurenic acid derivatives indicates that the proven pharmacodynamic effects may be partially provided by these pharmacologically active metabolites.

*Key words:* 2-methyl-3-[(4-methoxyanilino)methyl]-1H-quinolin-4-one, metabolism, biotransformation, computer prediction, online systems, pharmacological activity.

## ЗМІСТ

	Стор.
<b>ВСТУП</b>	<b>5</b>
<b>РОЗДІЛ 1. <i>IN VITRO</i> ТА <i>IN SILICO</i> ПІДХОДИ ДО ВИВЧЕННЯ ЦИТОХРОМ Р450-ОПОСЕРЕДКОВАНИХ ВЗАЄМОДІЙ (Огляд літератури)</b>	<b>7</b>
1.1. Підходи до дослідження метаболізму <i>in vitro</i>	<b>8</b>
1.2. Підходи <i>in silico</i> до дослідження та прогнозування метаболізму	<b>14</b>
1.3. Перспективи розвитку методів <i>in vitro</i> та <i>in silico</i> для дослідження метаболізму та взаємодії	<b>19</b>
<i>Висновки до розділу 1</i>	<b>21</b>
<b>РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ</b>	<b>22</b>
2.1. Синтез 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону	<b>22</b>
2.2. Фармакологічні властивості 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону	<b>24</b>
2.3. Застосовані онлайн системи комп'ютерного прогнозування метаболізму	<b>28</b>
<i>Висновки до розділу 2</i>	<b>39</b>
<b>РОЗДІЛ 3. ПРОГНОЗУВАННЯ ЙМОВІРНИХ ШЛЯХІВ МЕТАБОЛІЗМУ 2-МЕТИЛ-3-[(4-МЕТОКСИАНІЛІНО)- МЕТИЛ]-1Н-ХІНОЛІН-4-ОНУ</b>	<b>40</b>
<i>Висновки до розділу 3</i>	<b>52</b>
<b>ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ</b>	<b>53</b>
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b>	<b>55</b>

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ADME/Tox	Параметри абсорбції, розподілу, метаболізму, виведення та токсичності
AUC	Площа під кривою "концентрація – час" у плазмі крові
CL	Кліренс лікарського засобу
CYP	Ферменти цитохрому P450
DDI	Взаємодія лікарських засобів (drug-drug interaction)
FDA	Food and Drug Administration, USA
IC <sub>50</sub>	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 <sub>i</sub>	Константа інгібування
K <sub>m</sub>	Константа Міхаеліса
MBI	Взаємодія, заснована на механізмі дії
MM	Методи молекулярної механіки
QM	Методи квантової механіки
QSAR	Моделі співвідношення структура-активність
UGT	Уридиндифосфат-глюкурононілтрансферази
АФІ	Активний фармацевтичний інгредієнт
АА	Антиамнестична активність
ВП	Відкрите поле
НГТГ	Нормобарична гіпоксична гіпоксія з гіперкапнією
ПХЛ	Піднесений хрестоподібний лабіринт
УРПУ	Умовна реакція пасивного уникнення

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Кваліфікаційна робота присвячена дослідженню можливих шляхів метаболізму 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону як перспективного кандидата в АФІ з седативними та ноотропними властивостями. Моделі метаболізму лікарських засобів *in vitro* та *in silico* регулярно використовуються в дослідженнях та розробці лікарських засобів як інструменти для оцінки фармакокінетичної варіабельності та ризику лікарської взаємодії. Використання прогностичних підходів *in vitro* та *in silico* має такі переваги, як раціональний дизайн клінічних досліджень взаємодії лікарських засобів, мінімізація ризику для людини при проведенні клінічних випробувань, а також економія коштів та часу завдяки меншому виснаженню в процесі розробки сполук. 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.

**Мета дослідження.** Прогнозування ймовірних шляхів метаболізму 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону як перспективного кандидата в АФІ з седативними та ноотропними властивостями.

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 – 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону (лабораторний шифр VAZ\_08) із застосуванням п'яти різних онлайн ресурсів, що знаходяться у вільному доступі.

3. На основі систематизації одержаних результатів визначити основні

можливі шляхи біотрансформації 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону. Узагальнити дані, одержані методами *in silico*, та визначити потенційне коло метаболітів для подальших досліджень *in vitro* та *in vivo*.

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

**Об'єкт дослідження.** Перспективний АФІ седативної та ноотропної дії 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-он.

**Предмет дослідження.** Імовірні шляхи метаболізму 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону 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 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону, речовини що є перспективним АФІ седативної та ноотропної дії. 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 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону як перспективного кандидата в АФІ з седативними та ноотропними властивостями.

**Структура та обсяг кваліфікаційної роботи.** Кваліфікаційна робота складається зі вступу, 3 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел (51 найменування). Загальний обсяг роботи – 54 сторінки. Робота містить 1 схему, 2 таблиці та 15 рисунків.

## РОЗДІЛ 1. *IN VITRO* ТА *IN SILICO* ПІДХОДИ ДО ВИВЧЕННЯ ЦИТОХРОМ P450-ОПОСЕРЕДКОВАНИХ ВЗАЄМОДІЙ (Огляд літератури)

Моделі метаболізму лікарських засобів *in vitro* та *in silico* регулярно використовуються в дослідженнях та розробці лікарських засобів як інструменти для оцінки фармакокінетичної варіабельності та ризику лікарської взаємодії. Використання прогностичних підходів *in vitro* та *in silico* має такі переваги, як раціональний дизайн клінічних досліджень взаємодії лікарських засобів, мінімізація ризику для людини при проведенні клінічних випробувань, а також економія коштів та часу завдяки меншому виснаженню в процесі розробки сполук. У статті наведено огляд деяких сучасних методів *in vitro* та *in silico*, що використовуються для характеристики метаболізму лікарських засобів, опосередкованого цитохромом P450 (CYP), для оцінки фармакокінетичної варіабельності та величини лікарських взаємодій. Описано приклади, що демонструють прогностичну застосовність специфічних підходів *in vitro* та *in silico*. Представлені фактори, що часто зустрічаються, а також джерела упередженості та помилок у цих підходах. З появою технологічного прогресу в області високопродуктивного скринінгу і комп'ютерних потужностей методи *in vitro* та *in silico* стають все більш ефективними і надійними і будуть продовжувати вносити свій внесок в процес відкриття, розробки і, в кінцевому рахунку, більш безпечної та ефективної фармакотерапії лікарських засобів.

Моделі метаболізму лікарських засобів *in vitro* та *in silico* регулярно використовуються в дослідженнях та розробці лікарських засобів як інструменти для оцінки фармакокінетичної варіабельності та ризику лікарської взаємодії. Використання прогностичних підходів *in vitro* та *in silico* має такі переваги, як раціональний дизайн клінічних досліджень взаємодії лікарських засобів, мінімізація ризику для людини при проведенні клінічних випробувань, а також економія коштів та часу завдяки меншому виснаженню

в процесі розробки сполук. У статті наведено огляд деяких сучасних методів *in vitro* та *in silico*, що використовуються для характеристики метаболізму лікарських засобів, опосередкованого цитохромом P450 (CYP), для оцінки фармакокінетичної варіабельності та величини лікарських взаємодій. Описано приклади, що демонструють прогностичну застосовність специфічних підходів *in vitro* та *in silico*. Представлені фактори, що часто зустрічаються, а також джерела упередженості та помилок у цих підходах. З появою технологічного прогресу в області високопродуктивного скринінгу і комп'ютерних потужностей методи *in vitro* та *in silico* стають все більш ефективними і надійними і будуть продовжувати вносити свій внесок в процес відкриття, розробки і, в кінцевому рахунку, більш безпечної та ефективної фармакотерапії лікарських засобів.

У цьому огляді літератури наведено огляд сучасних *in vitro* та *in silico* методів дослідження метаболізму лікарських засобів, опосередкованого CYP, для прогнозування фармакокінетичної варіабельності та ступеня лікарських взаємодій. Наведено приклади успішного застосування підходів *in vitro* та *in silico* для розмежування метаболізму та механізму взаємодії. Ці підходи дозволили отримати цінну інформацію та довели свою ключову роль у відкритті, розробці та клінічному застосуванні лікарських засобів.

### **1.1 Підходи до дослідження метаболізму *in vitro***

Характеристику CYP-опосередкованої активності *in vitro* можна проводити за допомогою простих і надійних біоаналітичних методів, включаючи високопродуктивні методи (на основі флуоресценції та люмінесценції), середньопродуктивні методи (високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) та рідинна хромато-мас-спектрометрія (РХ-МС)) та низькопродуктивні методи (радіометричні). Ці біоаналітичні методи, у поєднанні з ферментними аналізами *in vitro* після валідації, можуть бути використані для отримання достовірних даних для визначення кінетичних параметрів досліджуваних CYPs [3]. Вибір методу залежить від наявності



обладнання та технічної підтримки в кожній конкретній лабораторії, а також від обсягу вибірки. Біохімічні графіки, побудовані за допомогою біохімічні графіки, побудовані з використанням даних, отриманих за допомогою кожного методу, можуть бути використані для з'ясування кінетику ферментів у відповідному СYP-опосередкованому метаболізмі, показуючи або кінетику Міхаеліса-Ментен кінетику або атипову кінетику (наприклад, активацію субстрату та інгібування субстрату). Кінетичні моделі для лікарської взаємодії (drug-drug interaction, DDI) можуть бути отримані на основі спостережуваної зміни уявної константи ( $K_m$ ), яка визначається на основі нелінійної регресії та статистичних розрахунків. Кінетика інгібування, така як  $IC_{50}$  (концентрація інгібітору концентрація інгібітору, що викликає 50% зниження активності ферменту) та  $K_i$  (константа інгібування). активності ферменту) та  $K_i$  (константа інгібування) також можуть бути визначені, використовуючи дані, отримані в результаті аналізу *in vitro* СYP інгібування. Спосіб інгібування ферменту (конкурентний, неконкурентний або ферменту (конкурентне, неконкурентне, неконкурентне або змішане інгібування) з'ясовується за допомогою діаграми Лайнвівера-Берка, яка будується шляхом побудови графіка зворотної швидкості проти зворотної концентрації субстрату при різних концентраціях інгібітору [4, 5]. Значення  $K_i$  також може бути визначено з вторинного графіка, побудованого шляхом побудови нахилів (для кожної концентрації інгібітору) з діаграми Лайнвівера-Берка порівняно з субстратом [4]. Нелінійний регресійний аналіз на сьогоднішній день є найбільш поширеним способом оцінки кінетики та параметрів інгібування. Для цього можна використовувати багато комерційно доступних програмних пакетів, таких як GraphPad Prism, SigmaPlot (з модулем Enzyme Kinetics) та GraFit. Ці програми забезпечують правильний алгоритм регресії та дають надійні оцінки параметрів. Внутрішній кліренс лікарського засобу (CL) може бути розрахований за значенням  $V_{max}/K_m$ , якщо фермент демонструє типову кінетику Міхаеліса-Ментен. Виявлення механізму інгібування на основі механізму (mechanism-based inhibition, MBI) також можливе за допомогою

аналізу *in vitro* аналізів інгібування СYP з використанням ферментів СYP попередньо інкубованих з інгібіторами та без них [6]. Кількісними дескрипторами реакції MBI є KI та  $k_{inact}$ , які є загальнозживаними кінетичними параметри, що описують процес інактивації. KI – це концентрація інактиватора, що викликає 50% від максимальної інактивації; в той час як  $k_{inact}$  – це константа швидкості постійна для максимальної інактивації. Для отримання цих двох параметрів, графік інактивації, де час перебігу зниження активності ферменту при різних концентраціях інгібітора [I]. концентраціях інгібітора [I], спочатку будують і підганяють до серії кривих розпаду першого порядку. Оцінки константи швидкості константи швидкості інактивації ферменту ( $k_{obs}$ ) при різних концентраціях інактиватора можуть бути визначені. KI і  $k_{inact}$  можуть бути згодом отримані з графіка залежності  $1/k_{obs}$  від  $1/[I]$ .

Ряд досліджень встановив успішні теоретичні прогнози метаболічного DDI *in vivo* шляхом екстраполяції кількісних даних *in vitro* [3, 7-10]. Для того, щоб передбачити величину DDI, співвідношення площі під кривою "концентрація-час" у плазмі крові (AUC) препарату-мішені визначають за допомогою концентрації інгібітору *in vivo* та інгібіторної константи *in vitro* (співвідношення  $[I]/K_i$ ). Співвідношення  $AUC > 2$  вказує на потенційну можливість виникнення DDI *in vivo* [11]. Корисність  $[I]/K_i$  підходу для прогнозування змін співвідношення AUC має хороший успіх у прогнозуванні DDI, і з роками точність його прогнозування покращилася. роками точність його прогнозування покращилася завдяки ретельного підбору значень [I] та  $K_i$  задіяних препаратів [12]. задіяних препаратів [12]. Репрезентативний перелік звітів щодо прогнозування DDI на основі даних *in vitro* наведено в таблиці 1.

Як показано в таблиці, методи прогнозування адекватно прогнозували ступінь фармакокінетичних зміни фармакокінетики та ризик виникнення DDI, а також надали кількісну кількісну оцінку впливу СYP-опосередкованих лікарських взаємодій на експозицію лікарського субстрату.

Таблиця 1.1

Приклади досліджень *in vitro* для вивчення взаємодії або інгібування лікарських засобів, опосередкованих CYP

Ізоформа(и) CYP	Основні висновки дослідження	Посилання
CYP3A4	У цьому дослідженні була зроблена спроба використати дані метаболізму <i>in vitro</i> для прогнозування впливу препаратів з інгібуючим потенціалом CYP3A4 на експозицію такролімусу. Були розраховані значення IC50 досліджуваних препаратів щодо утворення M-I, основного метаболіту такролімусу, та оцінено вплив на пероральну експозицію (AUC <sub>р.о.</sub> ) такролімусу за допомогою статичних моделей (які вивчали зміни співвідношення AUC з урахуванням опублікованих фармакокінетичних параметрів, таких як доступність для стінки кишечника [F <sub>g</sub> ], незв'язана фракція в плазмі [F <sub>a</sub> ] та фракція такролімусу, що метаболізується за допомогою CYP3A4 [fm(CYP3A4)]). Більша частина прогнозованого збільшення співвідношення AUC <sub>р.о.</sub> потрапляли у 2-кратний діапазон спостережуваних значень, що свідчить про успішне використання моделей для прогнозування ризику розвитку DDI у пацієнтів, які застосовують такролімус. З усіх досліджених інгібіторів CYP3A4 відносно високий ризик взаємодії був правильно прогнозувався для теллапревіру, дилтіазему та ітраконазолу.	[13]
Кілька CYP ізоформ	Досліджували <i>in vitro</i> DDI потенціал SIPI5357, похідного арилалканол-піперазину що використовується як антидепресант, був досліджений у цьому дослідженні. Потужне інгібування CYP2D6, CYP3A4 та CYP2C8 з низькими значеннями IC50 (нижче 100 мкМ), але незначне інгібування CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2E1 або CYP3A4 (IC50 > 100 мкМ) спостерігалися для SIPI5357 у мікросомах печінки людини. Сполука демонструвала змішаний режим інгібування CYP2D6, ізоформи з найвищою чутливістю до інгібування, з K <sub>i</sub> 11,12 мкМ. Значення [I]/K <sub>i</sub> для інгібування SIPI5357 CYP2D6 є нижчим за встановлене Управлінням з контролю за якістю харчових продуктів і лікарських засобів США (FDA), що становить 0,1. Дані цього дослідження показали, що SIPI5357 не спричинятиме значного пригнічення CYP2D6, а також інших основних ізоформ CYP ізоформ.	[14]

Кілька CYP ізоформ	У цьому дослідженні сім домінуючих ізоформ CYP печінки людини (CYP1A2, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 та CYP3A4) були оцінені на предмет інгібуючий потенціал протималярійним артемізиніном та його структурними похідними, артесунату, артеметера та дигідроартемізиніну з використанням рекомбінантних ферментів та мікросом печінки людини. Нелінійний регресійний аналіз був проведений з метою визначення інгібуючої сили (IC50 та Ki) та механізмів інгібування сполук. Ризик виникнення DDI <i>in vivo</i> оцінювали шляхом екстраполяції з використанням співвідношення [I]/Ki. Інгібування було відзначено для всіх CYPs усіма досліджуваними сполуками, переважно через змішаний тип інгібування, при цьому порушення CYP1A2, CYP2B6, CYP2C19 та CYP3A4 зазнавали найбільшого впливу. Субстрати CYP1A2 або CYP2C19 прогнозовано демонструють високий ризик взаємодії <i>in vivo</i> за одночасного застосування артемізиніну, де співвідношення AUC > 4 відзначалося при максимальних незв'язаних концентраціях артемізиніну на вході в печінку ([I]max,inlet,u) були використані в екстраполяції.	[15]
Кілька CYP ізоформ	Це дослідження було зосереджено на інгібуванні CYP за участю діетилстильбестролу (DES), синтетичного естрогену, який використовується для лікування деяких випадків раку простати та молочної залози. Враховуючи, що DES може застосовуватися одночасно з протираковими препаратами, DES досліджували на предмет його інгібуючої дії на CYP <i>in vitro</i> , і результати показали, що DES здатний конкурентно інгібувати CYP3A4, CYP2C8, CYP2C9 та CYP2E1 зі значеннями Ki в однозначних мікромолярних концентраціях. На основі пікової концентрації DES у сироватці крові після краплинної інфузії 500 мг фосфестролу (DES дифосфату) у пацієнтів, були розраховані співвідношення [I]/Ki, які становили більше 2 для чотирьох ізоформ CYP, що вказує на потенційну здатність DES індукувати <i>in vivo</i> DDI через інгібування CYP.	[16]

Незважаючи на значні успіхи, досягнуті з використанням даних *in vitro*, існує кілька ускладнюючих факторів, пов'язаних з екстраполяцією параметрів *in vitro*, які можуть сприяти неточному прогнозуванню. У нещодавньому дослідженні Sane та співавторів [17], в якому вивчався потенціал DDI субстрату CYP3A4 мідазоламу та препарату-винуватця делеобувіру, було продемонстровано, що прогнозування DDI з використанням лише делеобувіру значно перебільшувало потенціал DDI для інгібування CYP3A4, при цьому співвідношення AUC становило 6,15, що значно перевищувало клінічно спостережуване співвідношення 1,23. Включення даних про метаболіти для двох основних метаболітів, CD 6168 та делеобувір-ацилглюкуроніду, у прогностичну модель наблизило прогнозований інгібуючий ефект (співвідношення AUC 0,97) до спостережуваного значення. Це дослідження показує, що метаболіти можуть суттєво впливати на DDI-відповідальність основної сполуки-винуватця, і це може додати невизначеності та складності методам *in vitro*. В іншому нещодавньому дослідженні, яке вивчало потенціал інгібування фалдапревіру, селективного інгібітора протеази NS3/4A вірусу гепатиту С, з основними ізоформами CYP [18], було виявлено, що прогнозування ризику DDI на основі співвідношення  $[I]/K_i$  переоцінює клінічні ефекти, в той час як модель чистого ефекту, яка інтегрувала інші механізми диспозиції препарату та DDI, такі як зв'язування з білками, кишкове та печінкове інгібування, забезпечила більш точне прогнозування.

Модель чистого ефекту передбачала відсутність взаємодії з фалдапревіром для CYP2B6 та CYP2C9 та помірне пригнічення для CYP3A4 (співвідношення AUC 1,01, 1,02 та 3,06 відповідно), що узгоджується з даними клінічних досліджень, які продемонстрували зміни співвідношення AUC на 1,16, 1,29 та 2,92 для трьох ізоформ CYP відповідно. З іншого боку, клінічні ефекти були явно переоцінені за допомогою значень  $[I]/K_i$  (2,41, 3,68 та 3,95 відповідно). Це вказує на те, що такі фактори, як зв'язування з білками, що впливає на "ферментно-доступні" концентрації інгібіторів, а також інгібування в різних органах, потенційно можуть ускладнити прогнозування

за допомогою моделей *in vitro*, і моделі, які враховують відповідні ускладнюючі фактори, повинні забезпечити краще прогнозування для масштабування *in vitro* – *in vivo* [19].

## 1.2 Підходи *in silico* до дослідження та прогнозування метаболізму

Використовуючи сучасні обчислювальні методи, можна віртуально передбачити орієнтацію зв'язування та взаємодії конкретного ліганду в активному центрі CYP з подальшим кількісним аналізом співвідношення "структура-активність" (QSAR). Зростаюча кількість добре вивчених кристалічних структур CYP людини сприяла розвитку молекулярного моделювання *in silico* та лігандного докінгу в останні роки [2, 20-23]. Докінг лігандів став можливим завдяки використанню різних алгоритмів докінгу з різною силою та функціями підрахунку, залежно від способу обробки ліганду [24]. Валідація процедур молекулярного докінгу важлива для підтримки надійної моделі докінгу для віртуального скринінгу [25]. На основі постульованих орієнтацій зв'язування та конформацій можна з'ясувати можливі взаємодії ліганду із залишками активного центру ферменту, які дають уявлення про специфічність зв'язування та механізм дії ферменту по відношенню до ліганду [26]. Крім того, моделі докінгу можуть надавати кількісну інформацію про ранжування потенціалів інгібування інгібіторів, використовуючи розраховану енергію взаємодії з кожної докованої позиції, що може доповнювати експериментальні дані. QSAR аналіз, з іншого боку, намагається пов'язати хімічні структури зі спостережуваною активністю в кількісному відношенні. "Дескриптори" - це терміни для різних розрахованих або вимірних властивостей, які можуть бути різних типів (наприклад, просторові, електронні, термодинамічні, конформаційні, топологічні та структурні). Ці дескриптори "пов'язуються" для створення рівнянь або формул для визначення структури-функції в досліджуваному(их) CYP(ax) [27-29].

Інший обчислювальний підхід передбачає використання фармакофорних моделей, які накладають структури лігандів або їх властивості

у тривимірному просторі з метою з'ясування просторових, фізичних та хімічних властивостей активних або зв'язуючих ділянок СYP. Отримані моделі є консенсусними структурами, що описують електростатичні властивості та розмір активних центрів, які піддаються дослідженню детальної взаємодії СYP-ліганд, а також структурної модифікації лігандів для зміни зв'язування СYP [30]. Молекулярно-динамічне моделювання (МД) з'явилося як метод *in silico*, який все частіше використовується в аналізі функцій структури СYP [31]. Важливою особливістю МД є те, що вона здатна моделювати гнучкий активний центр СYPs у часовому масштабі порядку наносекунд, що обумовлює гнучкість цього інструменту. Метод дозволяє досліджувати тепловий рух, конформації зв'язування та афінність зв'язування лігандів, а також рух, індуковане прилягання та конформаційні зміни каналу доступу до субстрату та активної кишені СYP [31-33]. Комбіноване застосування МД може ще більше посилити результат докінгу.

У таблиці 2 наведено нещодавні дослідження з використанням вищезазначених інструментів для вивчення взаємодії СYP-лігандів. Як видно з таблиці, різні *in silico* методи дозволили отримати цінну інформацію про структурно-молекулярні основи таких взаємодій, включаючи динамічні аспекти структури білка, структурну гнучкість і пластичність зв'язування лігандів і каталізу, визначення афінності зв'язування, а також взаємозв'язок між структурою і функцією взаємодій. Передбачається, що з подальшим розвитком техніки та збільшенням обчислювальних потужностей, методи *in silico*, доповнюючи експериментальні дослідження метаболізму лікарських засобів, можуть і будуть надалі надавати безцінну інформацію для поглиблення розуміння СYP-лігандних взаємодій.

Таблиця 1.2

Приклади підходів *in silico* для дослідження лігандних взаємодій ферментів СУР

<i>In silico</i> підхід	Ізоформа(и) СУР	Основні висновки дослідження	Поси- лання
Білок-лігандний докінг	СУР2А6 та СУР2А13	Проведено структурно-функціональне дослідження нафталіну, фенантрена, дифенілу та їх аналогів у взаємодії з СУР2А13 та СУР2А6 за допомогою спектроскопії зв'язування лігандів та молекулярного докінгу. Спектральні дослідження зв'язування показали, що СУР2А13 індукує спектри зв'язування І типу з досліджуваними хімічними речовинами з більшою легкістю порівняно з СУР2А6. Молекулярний докінг продемонстрував кореляцію між енергіями взаємодії лігандів (значеннями $U$ ) для хімічних речовин з СУР2А13 та СУР2А6 та спектральною ефективністю зв'язування (співвідношеннями $A_{max}/K_s$ ). Сполуки з більш високою спектральною ефективністю зв'язування (наприклад, 2-етинілнафталін, 3-етинілфенантрен та 2-нафталінпропаргіловий ефір) показали нижчі значення $U$ , тоді як сполуки з нижчою спектральною ефективністю зв'язування мали вищі значення $U$ . Дані цього дослідження підтверджують застосовність молекулярного докінг-аналізу для вивчення молекулярної взаємодії ксенобіотиків з активними центрами білків СУР.	[34]
	СУР3А4	У цьому дослідженні вивчали вплив метамфетаміну на спектральне зв'язування, лігандний докінг та метаболізм інгібіторів протеази (ІІ) з СУР3А4. Отримані дані свідчать про те, що метамфетамін не змінює спектральну зміну ( $A_{max}$ та $K_s$ ), інгібування СУР3А4 та субстратний докінг ІІ І типу (ІІ, які показали спектральну зміну І типу в спектральному аналізі зв'язування ліганду) з СУР3А4. Молекулярний докінг показав, що не було суттєвої різниці в середніх енергіях взаємодії лігандів І типу в присутності та за відсутності метамфетаміну. Крім того, не спостерігалось значних конформаційних змін в активному центрі СУР3А4 при зв'язуванні лігандів у присутності метамфетаміну. З іншого боку, метамфетамін змінював спектральне зв'язування ІІ ІІ типу, ритонавіру та індинавіру, при цьому $A_{max}$ знижувалася для ритонавіру, а $K_s$ знижувалися для обох ІІ. Крім того, інкубації <i>in vitro</i> з використанням мікросом печінки людини показали зниження гідроксилювання ритонавіру у присутності метамфетаміну. Подальший докінг СУР3А4 з цими ІІ показав, що метамфетамін змінює параметри докінгу, що узгоджується з даними спектрального зв'язування та метаболізму.	[35]



QSAR	CYP1A2	Для 21 природного флавоноїду було проведено QSAR дослідження з використанням 2D (топологічних, структурних та термодинамічних) та 3D (просторових) дескрипторів для визначення структурної основи потужного інгібування CYP1A2. Створені QSAR моделі мали статистичну значущість як внутрішню, так і зовнішню. Отримані рівняння QSAR дозволяють припустити, що подвійний зв'язок, присутній у 2, 3 положеннях, та відсутність гідроксильного замісника або глікозидного зв'язку в 3 положенні ядра 1,4-бензопірону є критичними для інгібування CYP1A2. Крім того, фенільне кільце, присутнє у 2-му положенні 1,4-бензопіранового кільця, не повинно бути заміщене гідроксильною групою. Крім того, гідроксильні групи, присутні в бензопірановому ядрі в 5 і 7 положеннях, не повинні бути глікозильованими для забезпечення належної інгібуючої активності CYP1A2.	[36]
	CYP2C9 та CYP2D6	У цьому дослідженні клінічні дані людини були використані як основа для побудови чотирьох QSAR моделей для розпізнавання та ідентифікації субстратів та інгібіторів для CYP2C9 та CYP2D6. Моделі були використані для скринінгу великого набору даних хімічних речовин навколишнього середовища і змогли ідентифікувати та розрізнити субстрати та інгібітори двох CYPs з високим ступенем узгодженості, специфічності та чутливості (66%–88%). Сполуки, що містять кислотні функції та ароматичні аміни, як правило, прогнозувалися як інгібітори CYP2C9 та CYP2D6 відповідно. Це в цілому підтвердило дані літератури. Крім того, серед прогнозованих CYP2C9 активних і позитивних за шкалою Еймса сполук спостерігалось слабе переважання поліароматичних вуглеводнів, а мутагенність була передбачена за допомогою QSAR-моделі, заснованої на даних тесту Еймса <i>in vitro</i> .	[37]
Фармакофорне моделювання	CYP2C19	Метою роботи було синтезувати та дослідити серію аналогів на основі омепразолу на інгібіторну активність щодо CYP2C19. Для серії побудовано фармакофорну модель інгібування CYP2C19, на основі якої синтезовано додаткові аналоги з інгібуючим потенціалом щодо CYP2C19. Після ідентифікації інгібіторів CYP2C19 було застосовано лігандний дизайн для розробки сполук з покращеною метаболічною стабільністю. Було ідентифіковано сполуку (сполука 30), яка є високопотужним та метаболічно стабільним інгібітором для цієї ізоформи.	[38]

	СУР3А4	Фармакофорна модель специфічного інгібітора СУР3А4 була побудована на основі структури ритонавіру, відомого фармакоенхансера та інактиватора СУР3А4. Це дослідження продемонструвало, що донорно-акцепторний фрагмент Н-зв'язку, гнучка основа та ароматичність бокової групи, аналогічної Phe-2 ритонавіру, є важливими для інгібування СУР3А4. Гідрофобні взаємодії на ділянках, прилеглих до кластеру гемму та фенілаланіну, також були ключовими у процесі зв'язування ліганду. Крім того, були ідентифіковані дві сполуки, які були менш складними, ніж ритонавір, але показали порівнянну інгібуючу силу.	[39]
Молекулярна динаміка	СУР1А2	Механізм інгібування СУР1А2 ороксиліном та вогоніном, двома біологічно активними флавоноїдами, що містяться в традиційній китайській фітотерапії, було досліджено за допомогою моделювання молекулярної динаміки разом з молекулярним докінгом. Моделювання <i>in silico</i> показало, що ван-дер-ваальсові, гідрофобні та водневі взаємодії відіграють важливу роль в інгібуючих механізмах ороксиліну. Зв'язування ороксиліну також індукувало більший і більш відкритий сайт зв'язування в комплексі СУР1А2-ороксилін порівняно з вогоніном та $\alpha$ -нафтофлавоном, потужним зондом-інгібітором СУР1А2. На відміну від ороксиліну, зв'язування вогоніну та $\alpha$ -нафтофлавоноу відбувається переважно за рахунок водневого зв'язку як домінуючої сили. Різна архітектура кишень зв'язування та режим зв'язування пояснюють відносно слабший інгібуючий ефект ороксиліну.	[40]
	СУР3А4	У цьому дослідженні було використано моделювання молекулярної динаміки разом з розрахунками вільної енергії для вивчення позитивної гомотропної кооперативності зв'язування кетоконазолу в СУР3А4. МД-моделювання продемонструвало, що зв'язування першої молекули кетоконазолу здатне підвищити афінність зв'язування другої молекули. Основною рушійною силою цього зв'язування була комплементарність форми через неполярні ван-дер-ваальсові взаємодії. Крім того, було виявлено, що розраховані вільні енергії зв'язування добре узгоджуються зі значеннями, передбаченими на основі простої кінетичної моделі 2-лігандного зв'язування. Крім того, розраховані значення були в цілому подібні до експериментально отриманих даних.	[41]

### 1.3 Перспективи розвитку методів *in vitro* та *in silico* для дослідження метаболізму та взаємодії

Наявні на сьогоднішній день методи *in vitro* та *in silico* для дослідження метаболізму та взаємодії, опосередкованих CYP, є важливими експериментальними підходами в дослідженнях лікарських засобів. Дані *in vitro* та *in silico* забезпечують важливий внесок у розробку клінічних досліджень взаємодії лікарських засобів, прогнозування результатів випробувань, а також впливають на корекцію дози в етикетках лікарських засобів та клінічній практиці. Очевидні переваги цих інструментів включають зниження ризику для людини завдяки раціональному плануванню клінічних досліджень, а у випадку нових хімічних сполук можна зменшити виснаження сполук під час розробки, що призводить до економії коштів і часу. Економія коштів і часу є особливо очевидною і привабливою. Завдяки швидкому розвитку систем скринінгу *in vitro*, а також комп'ютерної техніки і технологій, тисячі нових хімічних об'єктів можуть бути перевірені і протестовані за короткий проміжок часу.

Внаслідок високої пропускнуої здатності даних, помірних вимог до інструментарію та більш ефективних фактичних протоколів клінічних досліджень, загальна вартість розробки та підтримки програм *in vitro* та *in silico*, як правило, є низькою або помірною.

Незважаючи на різноманітні переваги, методи *in vitro* та *in silico* не позбавлені обмежень та недоліків. Недоліки в основному пов'язані зі складнощами та заплутаними факторами при екстраполяції даних *in vitro* та *in silico* на ситуації *in vivo*. Було продемонстровано ряд невизначеностей і джерел упередженості та помилок у методах *in vitro*, включаючи інгібітор, що існує у вигляді енантіомерів *in vivo*, метаболіти інгібітора, що також впливають на фармакокінетику препарату-мішені, невизначеності в оцінці ферментодоступних концентрацій інгібітора, кооперативність і алостерична регуляція CYPs, не-CYP детермінанти метаболічного кліренсу, а також

одночасна індукція та інгібування [12]. Для підходів *in silico* певні змішуючі фактори можуть ускладнити завдання розробки відповідних моделей.

Наприклад, CYP3A4, відомий своїм великим сайтом зв'язування і здатністю пристосовуватися до різних режимів зв'язування різноманітних хімічних структур, вимагає складних зусиль з моделювання і вимагає методів для деконволюції отриманого змішаного вмісту даних. Крім того, малі ліганди можуть не тільки взаємодіяти як субстрати або інгібітори, гетероактивація через унікальне місце зв'язування в кишені CYP3A4 може ще більше ускладнити завдання моделювання [27]. Крім того, загальна відсутність повної інформації про стереохімічні та конформаційні дані білка CYP та структурні характеристики ліганду, зокрема, структурної інформації про активні центри нещодавно ідентифікованих CYP, дещо обмежує застосування методів *in silico* [27]. У нещодавньому дослідженні, в якому QSAR-моделювання основних ізоформ CYP було використано для прогнозування ймовірності DDI для всіх можливих бінарних комбінацій лікарських засобів, що продаються на ринку [42], Захаров та його співробітники змогли продемонструвати хорошу точність прогнозування (збалансована точність перевищує 70% для більш ніж 600 000 комбінацій) за допомогою розроблених ними моделей, але вважали, що точність моделей може бути ще більше підвищена, якщо додаткові фактори, що лежать в основі механізмів DDI, такі як одночасне інгібування та індукція, не-CYP кліренс і транспортні механізми, а також внутрішні фармакокінетичні властивості лікарських засобів, можуть бути інтегровані в обчислювальні моделі.

Лонсдейл та його колеги нещодавно використали методи квантової механіки/молекулярної механіки (QM/MM) для вивчення механізму N-гідроксилювання (R)-мексилетину за участю CYP1A2. Вони продемонстрували, що розраховані бар'єри реакції, отримані за допомогою QM/MM, вказують на пряме N-окислення як на кращий механізм, ніж механізм абсорбції/відскоку. Вони також висловили думку, що надійність їх результатів може бути ще більше підвищена шляхом визначення профілів

реакційних бар'єрів для механізму і спінового стану більшої кількості вихідних геометрій мексилетину під час QM/MM моделювання. Однак це не було практично можливим через високу вартість обчислень, що вказує на те, що експлуатаційні витрати можуть дещо стримувати великі ітерації, необхідні для кращої точності прогнозування з використанням методів *in silico* [43]. Взяті разом, вищезазначені складнощі та заплутані фактори в різній мірі вплинули на застосовність та прогностичну ефективність сучасних моделей *in vitro* та *in silico*.

Завдання розробки найкращих можливих методологій *in vitro* та *in silico* залишатиметься актуальним у міру того, як про ферменти CYP буде дізнаватися все більше і більше даних про взаємодію лігандів з ферментами, а існуючі інструменти та методи потребуватимуть валідації, уточнення та створення додаткових інструментів. Ці інструменти значною мірою сприяли кращому розумінню природи метаболізму та взаємодії, опосередкованих CYP, і їх подальше розширення буде продовжувати сприяти процесу відкриття лікарських засобів, їх розробці та, в кінцевому рахунку, більш безпечній та ефективній фармакотерапії.

### **Висновки до розділу 1**

1. Проведено систематизацію та аналіз сучасної наукової літератури, що присвячена основним методам *in vitro* та *in silico*, 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 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-он (лабораторний шифр VAZ\_08), синтезований доцентом кафедри медичної хімії, д. фарм. н. Зубковим В. О (рис. 2.1).

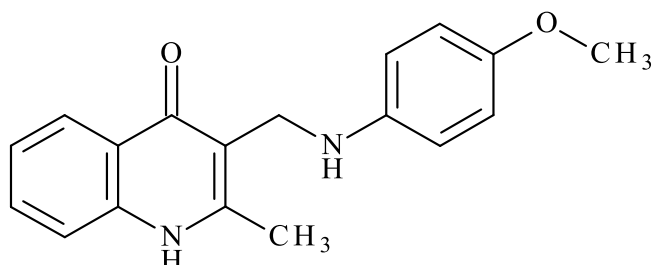


Рис. 2.1 Структурна формула 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону (VAZ\_08)

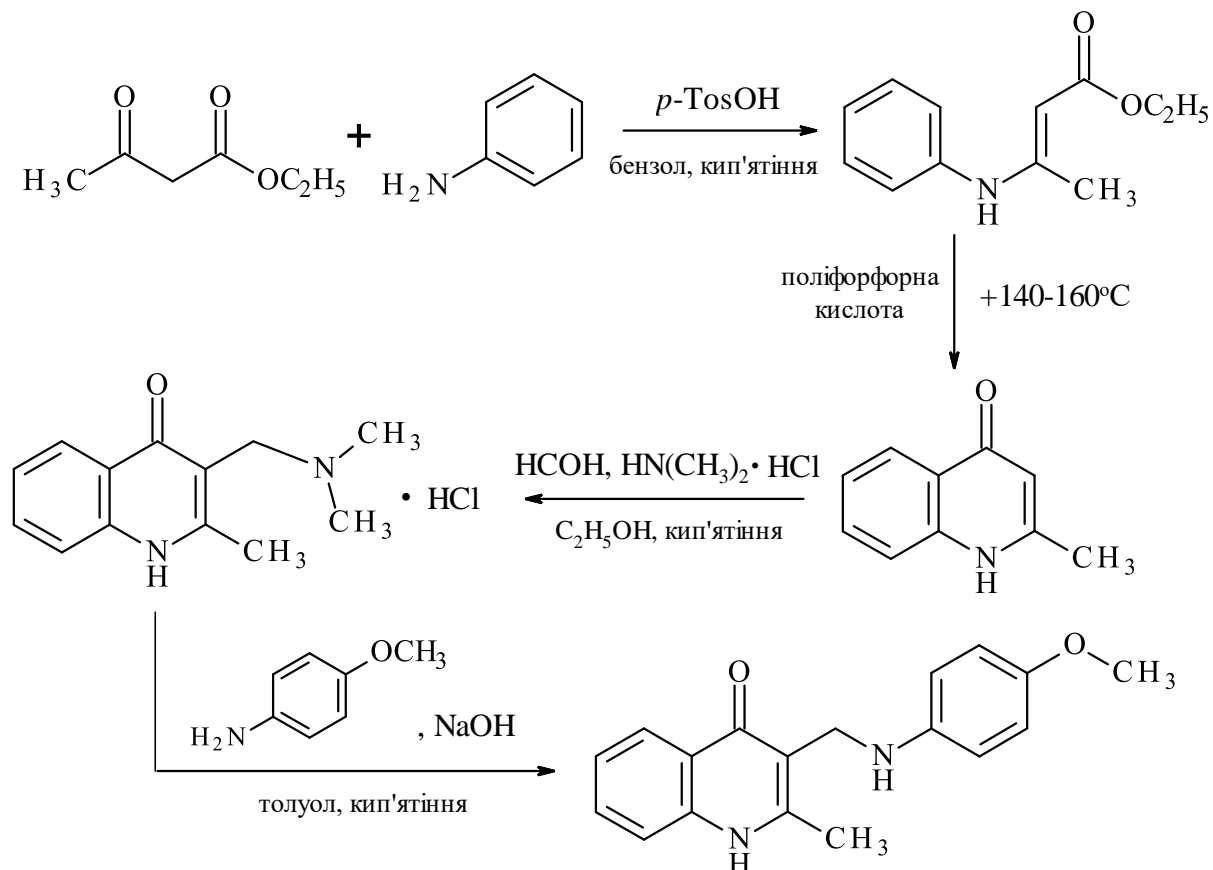
### 2.1 Синтез 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону

Як вихідну сполуку для синтезу 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-ону (ключовий інтермедіат) використано 2-метилхінолін-4-он, який амінометилували в умовах реакції Манніха [44], а одержана основа Манніха (3-диметиламінометил-2-метилхінолін-4-ону гідрохлорид) при переамінуванні *n*-анізином (4-метоксианіліном) утворює 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-он (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-1Н-хінолін-4-ону, а також подальший синтез на його основі 3-ариламінопохідних 2-метилхінолін-4-ону.

Схема 2.1



Гідрохлорид 3-диметиламінометил-2-метил-1Н-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 [44]. Отже, спосіб II є більш прийнятним для синтезу гідрохлориду. 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-1Н-хінолін-4-ону у воді та відповідно із втратами сполуки на стадії отримання вільної основи [44].

Структура та індивідуальність 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону підтверджені методами спектроскопії ЯМР  $^1\text{H}$  та тонкошарової хроматографії.

## **2.2 Фармакологічні властивості 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону**

Перспективним об'єктом для фармакологічного вивчення досліджувана молекула стала на основі результатів комплексного скринінгового дослідження його 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 відкритого поля, піднесеного хрестоподібного лабіринту, ротарод-тесту, іммобілізаційного тесту Порсолта та умовної реакції пасивного уникнення на тлі скополамін-індукованої амнезії. Наприкінці скринінгу досліджували вплив на тривалість життя мишей на моделі гострої нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією [45].

Результатами дослідження VAZ\_08 у тесті відкритого поля була виявлена психотропна неіндиферентність досліджуваної сполуки. У тварин, яким вводили 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-он в дозі 10 мг/кг спостерігалось трикратне зменшення кількості перетнутих квадратів ( $p < 0,01$ ) порівняно з інтактним контролем (рис. 2.2). Також спостерігалось



достовірно зменшення кількості дефекацій ( $p < 0,05$ ) і, як результат, двократне зменшення загальної суми всіх активностей ( $p < 0,01$ ) (рис. 2.3).

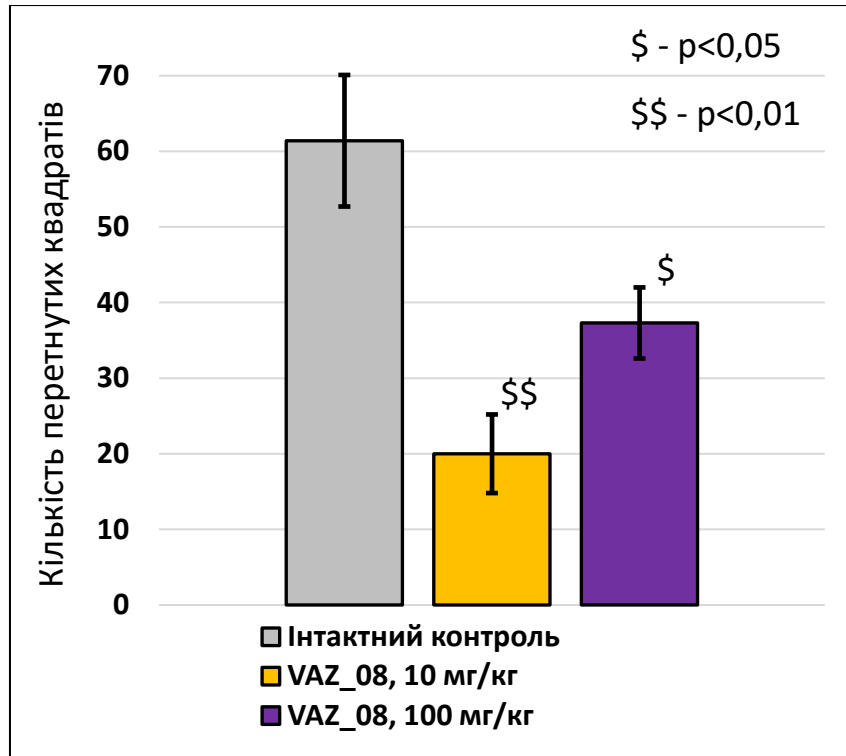


Рис. 2.2 Вплив VAZ\_08 на кількість перетнутих тваринами квадратів у тесті відкритого поля

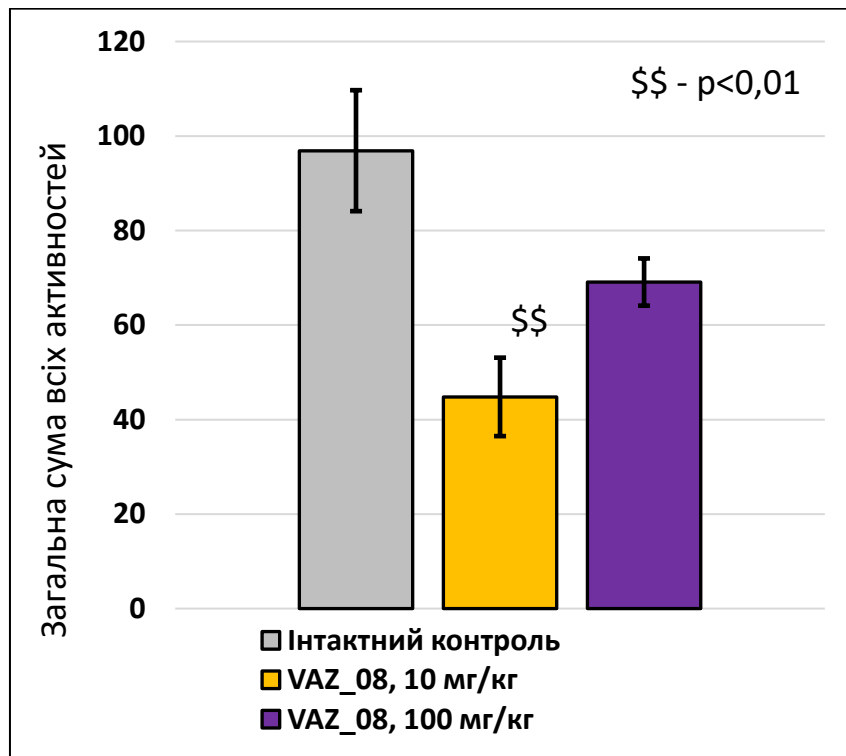


Рис. 2.3 Вплив VAZ\_08 на загальну суму всіх активностей тварин у тесті відкритого поля

Однак ці зміни локомоторної активності та емоційних реакцій не супроводжувалися порушенням дослідницької активності. Це віддзеркалює певну селективність седатції, що може бути позитивною особливістю цієї сполуки. У дозі 100 мг/кг вплив на поведінкові реакції був аналогічним, але менш виразним.

За результатами тесту умовної реакції пасивного уникнення на тлі скополамін-індукованої амнезії VAZ\_08 тільки в дозі 10 мг/кг достовірно виявив антиамнестичний ефект, а антиамнестична активність склала 87,9 % ( $p < 0,05$ ). В дозі 100 мг/кг досліджувана речовина також чинила захисну дію на тлі застосування М-холіноблокатора на рівні 78,7 %, проте різниця з показниками тварин групи контролю амнезії не сягала достовірного рівня (рис. 2.4).

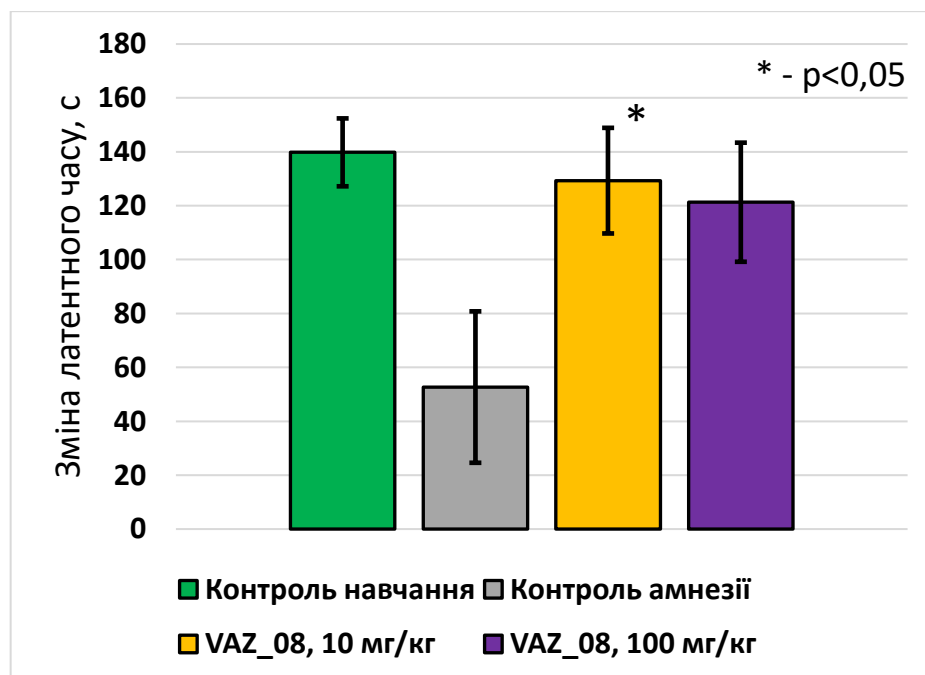


Рис. 2.4 Результати дослідження VAZ\_08 у тесті умовної реакції пасивного уникнення на тлі скополамін-індукованої амнезії

Анксиолітичні властивості VAZ\_08 були досліджені у тесті піднесеного хрестоподібного лабіринту (рис. 2.4). Проте достовірних відмінностей у поведінці тварин за показниками, що є маркерами тривожності, виявлено не було. Слід зауважити, що достовірне зниження показника кількості переходів

між рукавами лабіринту у тварин, яким вводили VAZ\_08 у дозі 10 мг/кг (рис. 2.5), свідчить більше на користь седативних властивостей, які також виявлено у тесті відкритого поля.

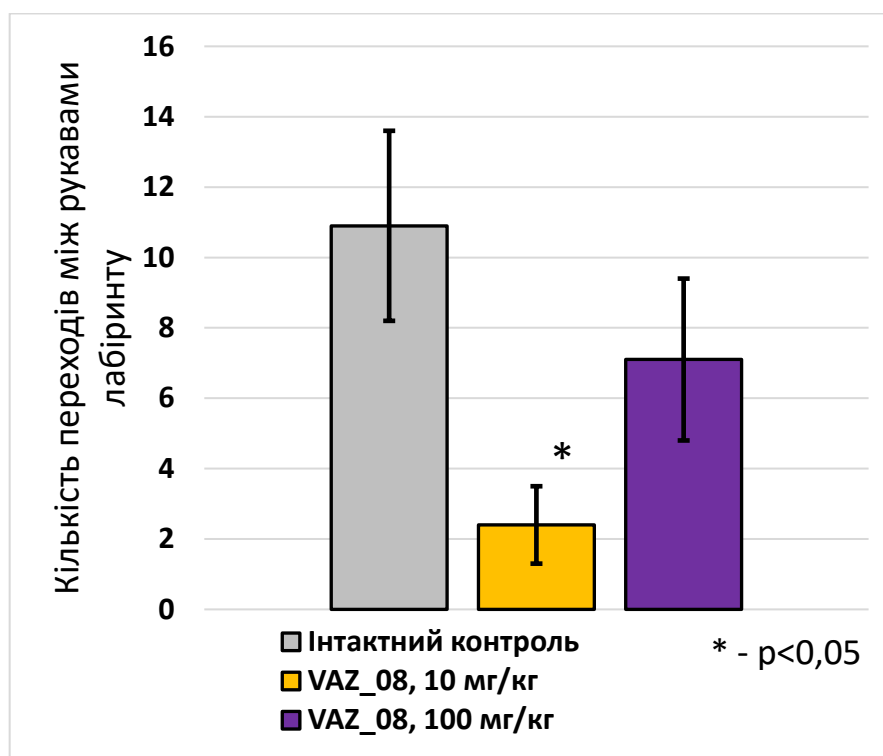


Рис. 2.5 Результати дослідження VAZ\_08 у тесті піднесеного хрестоподібного лабіринту

Тварини на тлі дози 10 мг/кг VAZ\_08 здійснили більш ніж в 4 рази ( $p < 0,05$ ) менше переходів між компартментами лабіринту порівняно з мишами групи інтактного контролю, що при зіставленні з практично незмінними показниками латентного часу першого заходу та загального часу перебування в освітлених рукавах свідчить про відсутність у досліджуваної сполуки впливу на тривожність тварин.

Таким чином, результати проведеного комплексного скринінгового дослідження [45] окреслили перспективність поглибленого дослідження VAZ\_08 у дозі 10 мг/кг як перспективного АФІ седативними та ноотропними властивостями.

## 2.3 Застосовані онлайн системи комп'ютерного прогнозування метаболізму

*Xenosite* (<https://xenosite.org>)

XenoSite – модель прогнозування СYP SOM, заснована на нейронних мережах, яка покращує RSP різними способами [46]. XenoSite використовує набори субстратів і дескрипторів, створені RSP, як вихідну точку і робить такі вдосконалення:

1. Розроблені нові дескриптори рівня молекули, які дозволяють методам машинного навчання внутрішньо визначати, які атомні дескриптори є найбільш релевантними для конкретного субстрату при прогнозуванні.

2. Для побудови моделей використовуються нейронні мережі, а не технологія SVM, що застосовувалась RSP. Однією з переваг нейронних мереж є те, що вони мають набагато швидший час виконання навчальних моделей, ніж SVM. Друга перевага полягає в тому, що їх вихідний коефіцієнт вірогідності окислення має кількісне вираження в числовому форматі, яке можна трактувати як ймовірність, на відміну від SVM RSP, які передбачають лише рангове упорядкування SOM, що містяться в тому самому субстраті. Оцінка SOM, отримана з нейронної мережі, суттєво корелює з ймовірністю окислення SOM, тоді як оцінка SOM, отримана з рангових упорядкувань RSP, ні. Отже, оцінки XenoSite служать віддзеркаленням як для достовірності прогнозування моделі, так і для точності прогнозування. Це означає, що споживачі можуть переглядати оцінки SOM для цілого субстрату та приймати зважені рішення щодо надійності прогнозування [46].

Xenosite використовує попередньо зібраний набір з 680 субстратів СYP, розподілених між дев'ятьма ферментами СYP: 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 СYP [46].

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 [46].

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 прогнозуються 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.

*SMARTCyp* ([https://smartcyp.sund.ku.dk/mol\\_to\\_som](https://smartcyp.sund.ku.dk/mol_to_som))

Більшість раніше опублікованих методів прогнозування метаболізму CYP 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 [47]. 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 СУР. 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 [47].

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 SMARTCup базується на Java із використанням бібліотеки Chemistry Development Kit (CDK), SMARTCup 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, 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 [47].

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,

гідроксилування альдегіду та деалкілування 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 [47].

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 SOM/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 [48]. 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 SOMP та RA [48] 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-деалкілування, які, згідно з базою даних Biovia Metabolite [17], 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 dealкілування алкільна група розглядається як фрагмент, який видаляється від реагуючого атома, представленого киснем або нітрогеном [48].

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. 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 каталізуються 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 [49].

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

- 1) трансформер на основі спрямованості ферменту;
- 2) трансформер CYP450 (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 CYP450 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 [49].

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-

глюкуроносилтрансферази (UGT) та сульфотрансферази (SULT) відповідають за метаболізм фази II більшості ксенобіотиків [49]. 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 [49]. 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 [50]. 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 [50].

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 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону (лабораторний шифр VAZ\_08).
2. Обґрунтовано перспективність поглибленого фармакологічного вивчення 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону як потенційного АФІ седативної та ноотропної дії.
3. Обґрунтовано вибір та проведено аналіз розрахункових алгоритмів застосованих в роботі онлайн систем комп'ютерного прогнозування можливих шляхів метаболізму в організмі людини.

### РОЗДІЛ 3. ПРОГНОЗУВАННЯ ЙМОВІРНИХ ШЛЯХІВ МЕТАБОЛІЗМУ 2-МЕТИЛ-3-[(4-МЕТОКСИАНИЛІНО)МЕТИЛ]-1Н- ХІНОЛІН-4-ОНУ

З метою прогнозування можливих шляхів біотрансформації перспективної сполуки – 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону (лабораторний шифр VAZ\_08), 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](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 VAZ\_08 за допомогою онлайн сервісу Xenosite найбільш імовірним напрямком є нестабільне окиснення, тобто О-деметилування з утворенням відповідного 4'-гідроксипохідного. Також можливим є окисне дезамінування амінометильного фрагменту в положенні 3 хінолонового кільця за класичним механізмом – утворення відповідного альдегіду та аміну. Також можливими напрямками біотрансформації молекули є стабільне окиснення, тобто ароматичне або аліфатичне гідроксилювання (рис. 3.1).

За результатами прогнозу метильна група в положенні 2 хінолонового циклу є найбільш реакційноздатною. За такого розвитку подій в результаті подальшого окиснення гідроксиметильної групи до карбоксильної, прогнозується утворення генерації метаболітів з новими фармакологічними властивостями – похідних кінуренової кислоти. Кінуренова кислота (4-гідроксихінолін-2-карбонова кислота) є метаболітом триптофану та утворюється з кінуреніну під дією кінуренін-амінотрансферази [51].



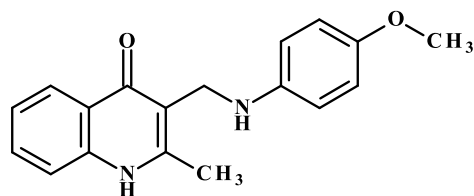
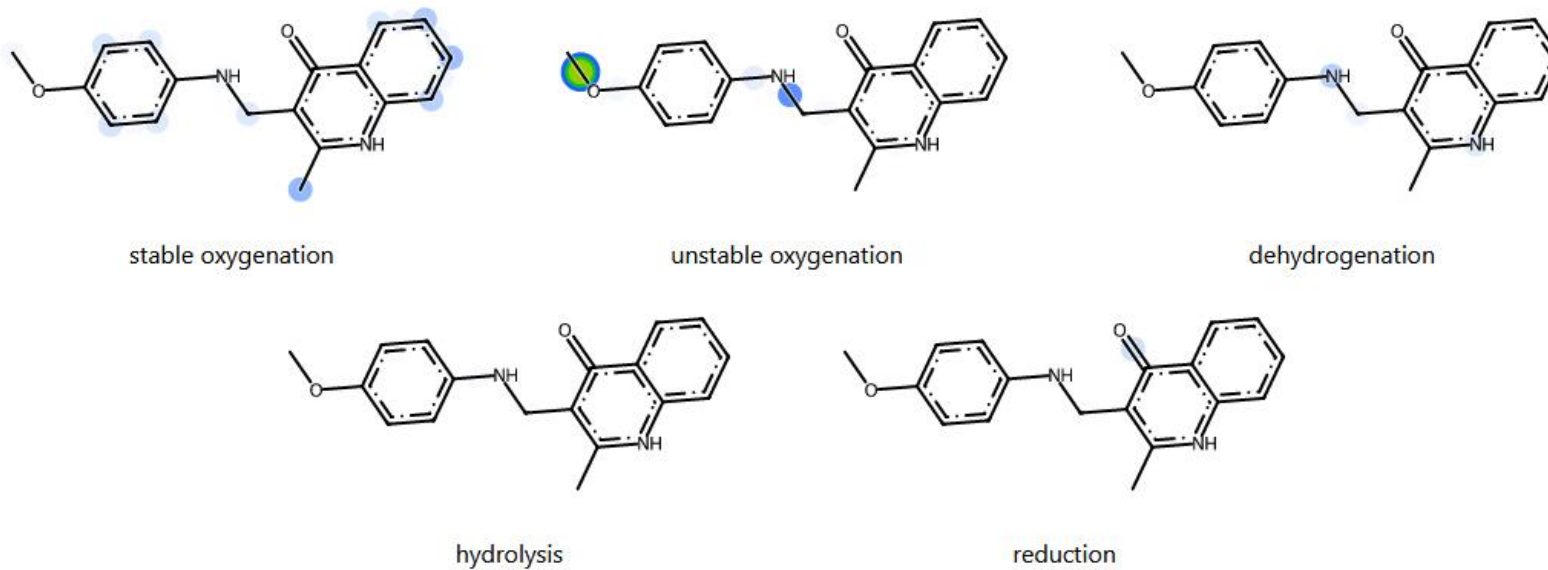

COc1ccc(NCC2=C(C)Nc3ccccc3C2=O)cc1


Рис. 3.1 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ\_08 за допомогою онлайн сервісу Xenosite

Кінуренова кислота в головному мозку виступає ендogenous 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 [51], тому зусилля дослідників зосередились на її хімічній модифікації з метою пошуку похідних кінуренової кислоти з фізико-хімічними властивостями, що здатні подолати це обмеження.

Отже, результати розрахунків свідчать, що частина ефектів фармакодинаміки VAZ\_08, зокрема її 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 VAZ\_08 має низькі показники ймовірності утворення хінонів або епоксидів (рис. 3.2).

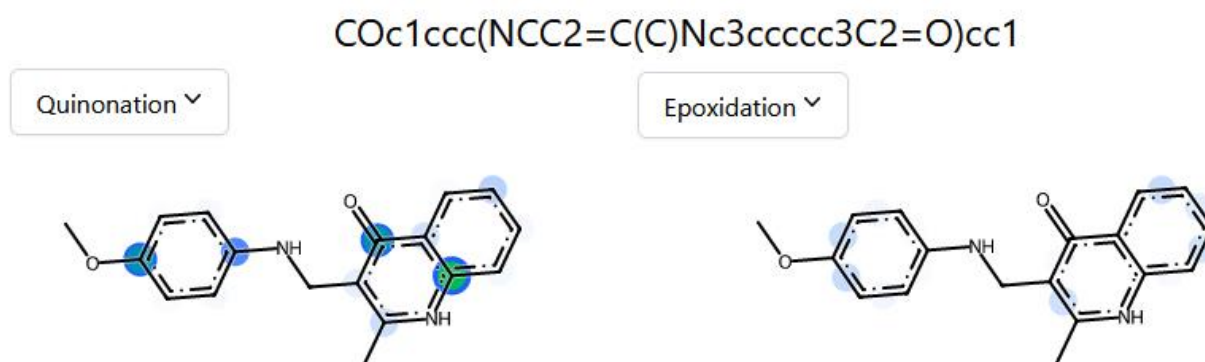
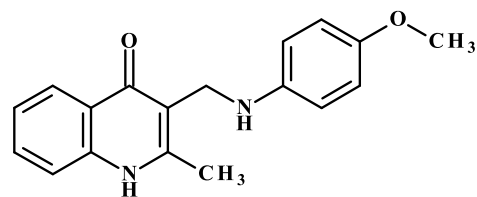
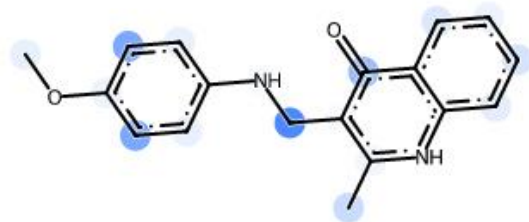


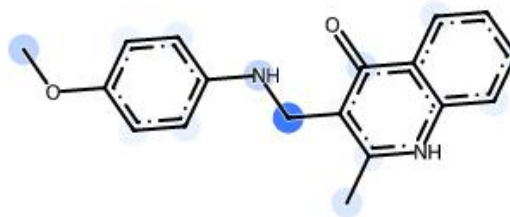
Рис. 3.2 Результати прогнозування можливості утворення високореактивних хінонів та епоксидів як метаболітів VAZ\_08 (онлайн сервіс Xenosite)



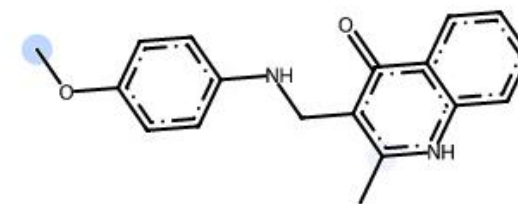
COc1ccc(NCC2=C(C)Nc3ccccc3C2=O)cc1



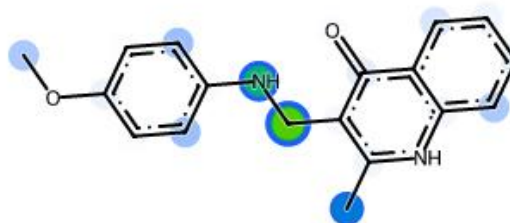
gsh



protein



cyanide



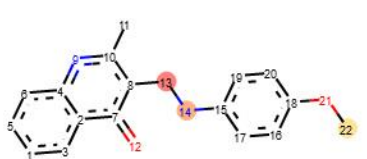
dna

Рис. 3.3 Результати прогнозування реактивності VAZ\_08 в організмі людини за допомогою онлайн сервісу Xenosite

На рис. 3.3 наведено результати прогнозування реактивності досліджуваної молекули, тобто потенційної взаємодії з певними структурами в організмі людини. Показано, що VAZ\_08 має низькі показники потенційної взаємодії з системою відновленого глутатіону, білками та низький потенціал до утворення ціанідів. Проте, існує певна ймовірність взаємодії з ДНК матеріалом, 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.

Аналіз результатів прогнозування за допомогою онлайн системи SMARTCyp показав, що різноманітні ізоформи CYP можуть каталізувати процеси окиснення, а саме O-деметилювання, окиснювального дезамінування та ароматичного гідроксилювання по різних положеннях (рис. 3.4, 3.5 та 3.6).

За участі ізоформи CYP3A4 найбільш імовірними напрямками біотрансформації VAZ\_08 є окиснювальне дезамінування амінометильного фрагменту в положенні 3 хінолонового кільця та O-деметилювання, ароматичне гідроксилювання *орто*-положення фенільного замісника і аліфатичне гідроксилювання метильної групи в положенні 2 циклу (рис. 3.4).



3A4 Ranking	3A4 Atom	3A4 Score	3A4 Energy	2DSASA	Span2end	Relative Span	Similarity
1	C.13	36.0	41.1	20.8	6	0.5	0.4
2	N.14	49.3	54.1	12.2	6	0.5	0.3
3	C.22	51.5	62.2	66.4	0	1.0	1.0
4	C.17	52.9	59.5	27.2	4	0.7	0.7
5	C.11	58.1	66.4	54.4	3	0.8	0.7
6	C.1	59.5	68.2	32.7	1	0.9	1.0
7	N.9	68.9	75.6	13.5	3	0.8	0.3
8	C.16	69.9	77.2	29.4	3	0.8	0.7
9	C.5	71.5	80.8	33.5	0	1.0	1.0
10	C.3	73.0	80.8	26.9	2	0.8	1.0
11	C.6	77.8	86.3	28.5	1	0.9	1.0

Рис. 3.4 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ\_08 за участі CYP3A4 (програмний комплекс SMARTCyp)

2C9 Ranking	Atom	2C9 Score	Energy	2DSASA	Span2end	COO- Dist	Similarity
1	C.22	59.5	62.2	66.4	0	0	1.0
2	C.13	63.9	41.1	20.8	6	0	0.4
3	C.1	72.8	68.2	32.7	1	0	1.0
4	N.14	77.3	54.1	12.2	6	0	0.3
5	C.5	79.5	80.8	33.5	0	0	1.0
6	C.11	81.9	66.4	54.4	3	0	0.7
7	C.17	82.1	59.5	27.2	4	0	0.7
8	C.6	91.1	86.3	28.5	1	0	1.0
9	C.3	91.5	80.8	26.9	2	0	1.0
10	N.9	92.8	75.6	13.5	3	0	0.3
11	C.16	93.7	77.2	29.4	3	0	0.7

Рис. 3.5 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ\_08 за участі CYP2C9 (програмний комплекс SMARTCyp)

2D6 Ranking	Atom	2D6 Score	Energy	2DSASA	Span2end	N+dist	Similarity
1	C.22	59.5	62.2	66.4	0	0	1.0
2	C.13	67.1	41.1	20.8	6	0	0.4
3	C.1	73.6	68.2	32.7	1	0	1.0
4	C.5	79.5	80.8	33.5	0	0	1.0
5	N.14	80.5	54.1	12.2	6	0	0.3
6	C.11	84.3	66.4	54.4	3	0	0.7
7	C.17	85.3	59.5	27.2	4	0	0.7
8	C.6	91.9	86.3	28.5	1	0	1.0
9	C.3	93.1	80.8	26.9	2	0	1.0
10	N.9	95.2	75.6	13.5	3	0	0.3
11	C.16	96.1	77.2	29.4	3	0	0.7

Рис. 3.6 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ\_08 за участі CYP2D6 (програмний комплекс SMARTCyp)

Якщо окиснювальне дезамінування прогностично призводить повної втрати початкової архітектури молекули, O-деметилування суттєво не впливає на профіль активності і може розглядатись як проміжний етап, ароматичне гідроксилування з точки зору фармакологічної активності метаболітів також навряд чи є цікавим, то аліфатичне гідроксилування метильної групи знову відкриває перспективу подальшого окиснення до біологічно активних похідних кінуренової кислоти.

Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ\_08 за участі CYP2C9 та CYP2D6 вказують переважно на такі само напрямки, що і за участі CYP3A4 (рис. 3.5 та 3.6).

Слід зауважити, що результати прогнозування напрямків біотрансформації VAZ\_08 за допомогою різних систем з різними алгоритмами значною мірою збігаються або добре корелюють між собою.

На рис. 3.7 наведено фрагмент протоколу прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ\_08 за допомогою онлайн системи Biotransformer. Загалом системою розрахована можливість утворення 11 різноманітних метаболітів, переважна більшість з яких є продуктами ароматичного гідроксилування по різних положеннях як гетероциклічної системи хінолону, так і фенільного замісника. Це цілком передбачувано з огляду на біохімічну природу процесів, які каталізують ферменти CYP. Одним з можливих напрямків також є O-деметилування метоксильного замісника в *para*-положенні фенільного замісника амінометильного фрагменту. Серед прогнозованих метаболітів є також 2-гідроксиметильне похідне, що є продуктом аліфатичного гідроксилування реакційноздатної метильної групи в положенні 2 хінолонового кільця. 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.

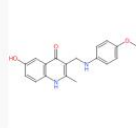
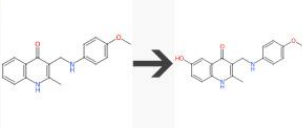
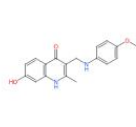
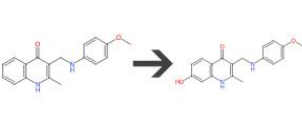
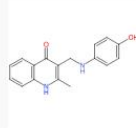
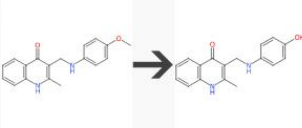
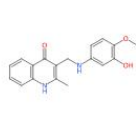
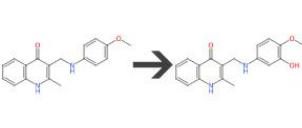
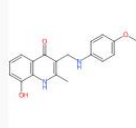
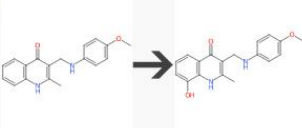
Result ID	Predicted Result	SMILES	Chemical Formula	Major Isotope Mass (Da)	Reaction Type	Reaction Info	Biotransformation Reaction
1		<chem>C=1(C=CC=2NC(C)=C(CNC=3C=CC(O)C)=CC3)C(=O)C2C1O</chem>	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	310.1317	Aromatic hydroxylation of fused benzene ring AndFromCyProduct	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	
2		<chem>C=1C(=CC=2NC(C)=C(CNC=3C=CC(O)C)=CC3)C(=O)C2C1O</chem>	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	310.1317	Aromatic hydroxylation of fused benzene ring AndFromCyProduct	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	
3		<chem>C=1C=CC=2NC(C)=C(CNC=3C=CC(O)=CC3)C(=O)C2C1</chem>	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	280.1211	O-Dealkylation AndFromCyProduct	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	
4		<chem>C=1C=CC=2NC(C)=C(CNC=3C=CC(O)C)=C(C3O)C(=O)C2C1</chem>	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	310.1317	2-Hydroxylation of 1,4-disubstituted benzene	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	
5		<chem>C=1C=C(C=2NC(C)=C(CNC=3C=CC(O)C)=CC3)C(=O)C2C1O</chem>	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	310.1317	Aromatic hydroxylation of fused benzene ring	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	

Рис. 3.7 Фрагмент протоколу прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ\_08 за допомогою онлайн системи Biotransformer

Аналіз прогнозованих метаболітів VAZ\_08 за допомогою онлайн системи GLORYx підтверджує, що основними шляхами метаболічних перетворень досліджуваної молекули є О-деметилування (яке за механізмом починається з гідроксилювання відповідної метоксильної групи), ароматичне гідроксилювання, окиснювальне дезамінування амінометильного фрагменту в положенні 3 та окиснення метильної групи в положенні 2 хінолонового кільця (рис. 3.8).

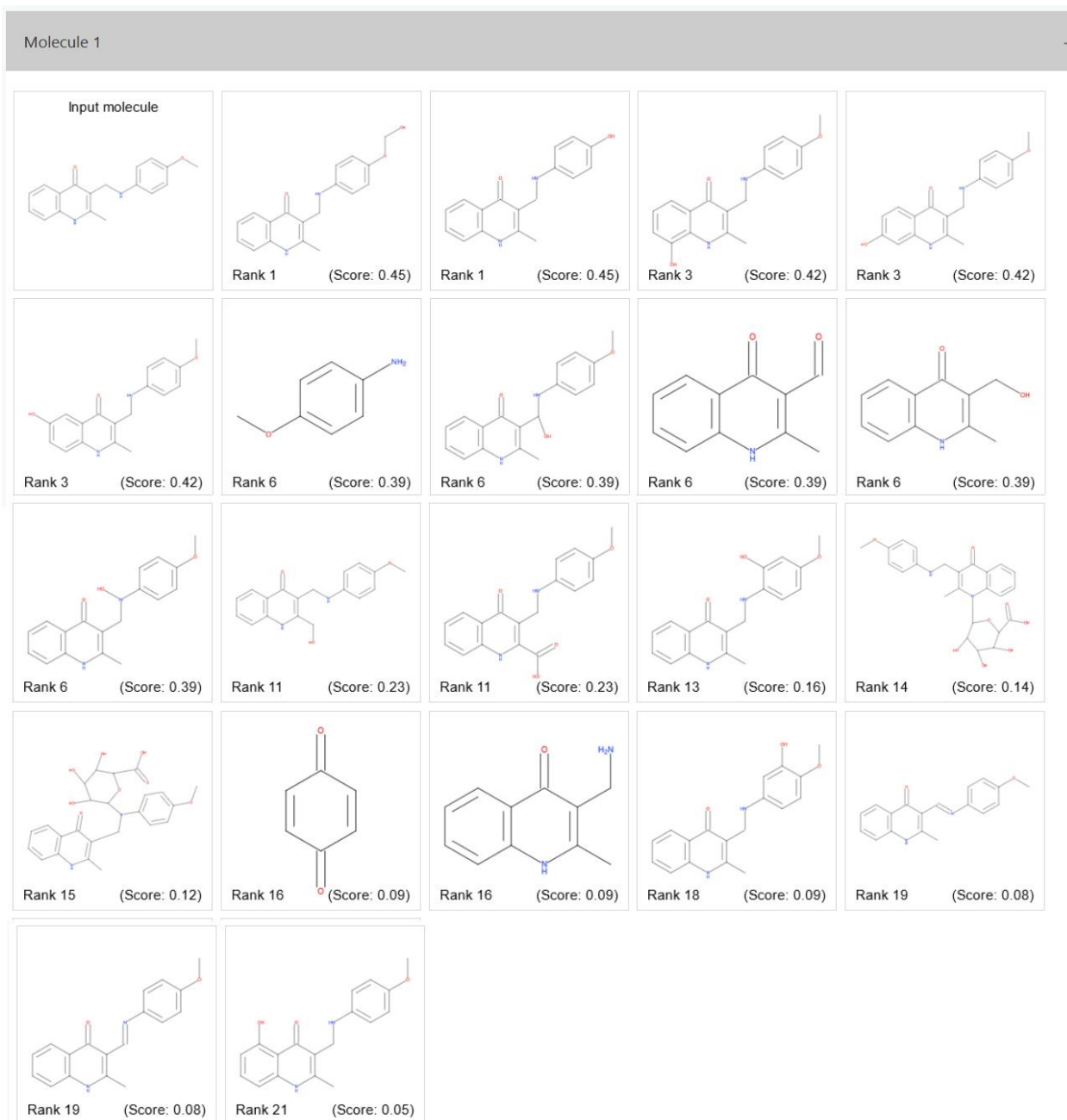


Рис. 3.8 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ\_08 за допомогою онлайн системи GLORYx



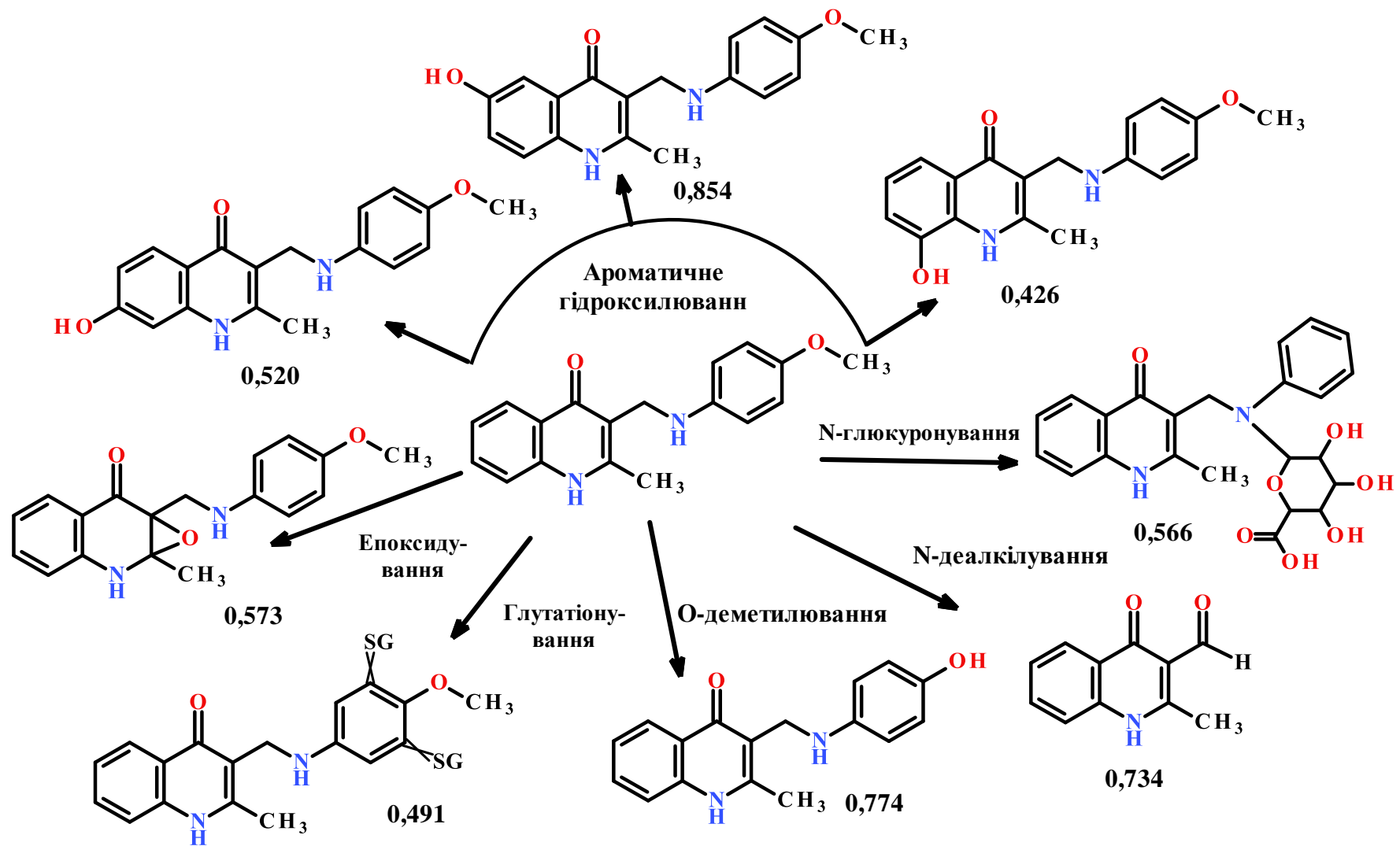


Рис. 3.9 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ\_08 за допомогою системи Way2Drug RA (наведено тільки напрямки, що мають найвищі показники DeltaP)

Одними з найбільш інформативних є результати прогнозування за допомогою онлайн сервісу Way2Drug RA, які графічно репрезентовані на рис. 3.9. 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.

Результати прогнозування наведено на рис. 3.9, а основними шляхами прогнозуються варіанти ароматичного гідроксилювання за участю атомів карбону в положеннях 6, 7 та 8 гетероциклічної системи хінолону. Особливо реакційноздатним в аспекті ароматичного гідроксилювання є положення 6 системи хінолін-4-ону (рис. 3.9). Слід зауважити, що за прогнозом програми Way2Drug RA високу ймовірність мають також напрямки O-деметилування та N-деалкілування. До того ж, окрім реакцій I фази метаболізму, зазначена система дозволяє припустити процеси синтетичної фази – кон'югація з глюкуроною кислотою за атомом нітрогену амінометильного фрагменту та з глутатіоном за участі *орто*-положень до метоксильної групи у фенільному заміснику.

Окремої уваги заслуговує модуль системи GLORYx, який дозволяє прогнозувати субстратну специфічність сполуки до певних ізоформ CYP (рис. 3.10).


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

Рис. 3.10 Субстратна специфічність VAZ\_08 до ізоформ цитохрому P450 за результатами онлайн системи GLORYx

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. 3.10, VAZ\_08 з високою ймовірністю метаболізується за участю цитохромів CYP1A2 та CYP2D6.

Отже, комплексний аналіз результатів прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ\_08 за допомогою п'ятих різних онлайн систем дозволяє зробити висновок, що молекула 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону може інтенсивно метаболізуватись за участю ферментних систем цитохрому P450. Основними напрямками можна вважати ароматичне гідроксилювання молекули досліджуваної речовини за участю атомів карбону гетероциклічної системи хінолону, О-деметилування метоксильної групи, N-деалкілювання амінометильного фрагменту. В даному випадку прогнозовані метаболіти навряд чи суттєво впливають на загальний профіль фармакологічної активності материнської молекули. Проте, можливі напрямки аліфатичного гідроксилювання за метильною групою в положенні 2 гетероциклу до похідних кінуренової кислоти свідчать на користь припущення, що доведені фармакодинамічні ефекти VAZ\_08, а саме ноотропний та седативний, можуть, принаймні частково, забезпечуватись саме цими фармакологічно активними метаболітами.

Загальні закономірності біотрансформаційних перетворень 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону 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 цілком пояснюється різницею в алгоритмах розрахунків, покладених в основу програмних продуктів.

### Висновки до розділу 3

1. Проведено комп'ютерне прогнозування можливих шляхів біотрансформації перспективної сполуки – 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону (лабораторний шифр VAZ\_08) із застосуванням п'яти різних онлайн ресурсів, що знаходяться у вільному доступі.

2. Одержані результати свідчать, що молекула 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону в організмі людини може інтенсивно метаболізуватись за участю ферментних систем цитохрому P450.

3. Найбільш імовірними шляхами метаболізму досліджуваної сполуки є ароматичне гідроксилювання молекули досліджуваної речовини за участю атомів карбону гетероциклічної системи хінолону, О-деметилування метоксильної групи, N-деалкілування амінометильного фрагменту.

4. Прогнозований напрямок аліфатичного гідроксилювання за метильною групою в положенні 2 гетероциклу до похідних кінуренової кислоти свідчить на користь припущення, що доведені фармакодинамічні ефекти VAZ\_08 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 CYP1A2 та CYP2D6.

6. За результатами програми Xenosite 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-он 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.

## ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Проведено систематизацію та аналіз сучасної наукової літератури, що присвячена основним методам *in vitro* та *in silico*, 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 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону (лабораторний шифр VAZ\_08). Обґрунтовано перспективність поглибленого фармакологічного вивчення VAZ\_08 як потенційного АФІ з седативними та 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 седативної та ноотропної дії – 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону (лабораторний шифр VAZ\_08) із застосуванням п'яти різних онлайн ресурсів, що знаходяться у вільному доступі.

4. Найбільш імовірними шляхами метаболізму досліджуваної сполуки є ароматичне гідроксилювання молекули досліджуваної речовини за участю атомів карбону гетероциклічної системи хінолону, О-деметилування метоксильної групи, N-деалкілування амінометильного фрагменту. Прогнозовані напрямки аліфатичного гідроксилювання за метильною групою в положенні 2 гетероциклу до похідних кінуренової кислоти свідчать на користь припущення, що доведені фармакодинамічні ефекти VAZ\_08 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 CYP1A2 та CYP2D6.

6. За результатами програми Xenosite 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-он 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.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Schroer K., Kittelmann I. M., Lütz . Recombinant human cytochrome P450 monooxygenases for drug metabolite synthesis. *Biotechnol Bioeng.* 2010. Vol. 106. P. 699–706. DOI:10.1002/bit.22775.
2. Czodrowski P., Kriegl J. M., Scheuerer S., Fox T. Computational approaches to predict drug metabolism. *Ex Opin Drug Metab Toxicol.* 2009. Vol. 5. P. 15–27. DOI:10.1517/17425250802568009.
3. Foti R. S., Wienkers L. C., Wahlstrom J. L. Application of cytochrome P450 drug interaction screening in drug discovery. *Comb Chem High T Scr.* 2010. Vol. 13. P. 145–158.
4. Tang J.-C., Yang H., Song X.-Y., Song X.-H., Yan S.-L., Shao J.-Q., Zhang T.-L., Zhang J.-N. Inhibition of cytochrome P450 enzymes by rhein in rat liver microsomes. *Phytother Res.* 2009. Vol. 23. P. 159–164. DOI:10.1002/ptr.2572.
5. Kimura Y., Ito H., Ohnishi R., Hatano T. Inhibitory effects of polyphenols on human cytochrome P450 3A4 and 2C9 activity. *Food Chem Toxicol.* 2010. Vol. 48. P. 429–435. DOI:10.1016/j.fct.2009.10.041.
6. Zhou S., Chan S. Y., Goh B. C., Chan E., Duan W., Huang M., McLeod H. L. Mechanism-based inhibition of cytochrome P450 3A4 by therapeutic drugs. *Clin Pharmacokinet.* 2005. Vol. 44. P. 279–304.
7. Yao C., Levy R. H. Inhibition-based metabolic drug-drug interactions: predictions from *in vitro* data. *J Pharm Sci.* 2002. Vol. 91. P. 1923–1935.
8. Wienkers L. C., Heath T. G. Predicting *in vivo* drug interactions from *in vitro* drug discovery data. *Nat Rev Drug Discov.* 2005. Vol. 4. P. 825–833.
9. McGinnity D. F., Waters N. J., Tucker J., Riley R. J. Integrated *in vitro* analysis for the *in vivo* prediction of cytochrome P450-mediated drug-drug interactions. *Drug Metab Dispos.* 2008. Vol. 36. P. 1126-1134. DOI:10.1124/dmd.108.020446.
10. Sekiguchi N., Higashida A., Kato M., Nabuchi Y., Mitsui T., Takanashi K., Aso Y., Ishigai M. Prediction of drug-drug interactions based on time-

dependent inhibition from high throughput screening of cytochrome P450 3A4 inhibition. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2009. Vol. 24. P. 500–510.

11. Obach R. S., Walsky R. L., Venkatakrisnan K., Gaman E. A., Houston J. B., Tremaine L. M. The utility of *in vitro* cytochrome P450 inhibition data in the prediction of drug-drug interactions. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006. Vol. 316. P. 336–348.

12. Obach R. S. Predicting clearance in humans from *in vitro* data. *Curr Top Med Chem.* 2011. Vol. 11. P. 334–339.

13. Oda K., Yamano K., Otsuka Y. *In vitro–in vivo* extrapolations to evaluate the effect of concomitant drugs on tacrolimus (FK506) exposure. *Biopharm Drug Dispos.* 2015. Vol. 35. P. 265–274. DOI:10.1002/bdd.1938.

14. Fan G., Cao Y., Yang J. *In vitro* inhibition and induction of human cytochrome P450 enzymes by SIPI5357, a potential antidepressant. *Biopharm Drug Dispos.* 2015. Vol. 36. P. 364–372. DOI:10.1002/bdd.1947.

15. Ericsson T., Sundell J., Torkelsson A., Hoffmann K. J., Ashton M. Effects of artemisinin antimalarials on cytochrome P450 enzymes *in vitro* using recombinant enzymes and human liver microsomes: potential implications for combination therapies. *Xenobiotica.* 2014; 44: 615-626. DOI:10.3109/00498254.2013.878815.

16. Qu Y. Q., Fang Z. Z., Yang L., Gao Z. M., Liang R., Zhu L. L., Dong P. P., Zhang Y. Y., Ge G. B., Wang L. M. Reversible inhibition of four important human liver cytochrome P450 enzymes by diethylstilbestrol. *Pharmazie.* 2011. Vol. 66. P. 216–221.

17. Sane R. S., Ramsden D., Sabo J. P., Cooper C., Rowland L., Ting N., Whitcher-Johnstone A., Tweedie D. J. Contribution of major metabolites toward complex drug-drug interactions of deleobuvir: *In vitro* predictions and *in vivo* outcomes. *Drug Metab Dispos.* 2016. Vol. 44. P. 466–475. DOI:10.1124/dmd.115.066985.

18. Sabo J. P., Kort J., Ballow C., Kashuba A. D., Haschke M., Battegay M., Girlich B. Interactions of the hepatitis C virus protease inhibitor



faldaprevir with cytochrome P450 enzymes: *in vitro* and *in vivo* correlation. *J Clin Pharmacol*. 2015. Vol. 55. P. 467–477. DOI: 10.1002/jcph.436.

19. Evaluation of various static *in vitro-in vivo* extrapolation models for risk assessment of the CYP3A inhibition potential of an investigational drug / M. L. Vieira et al. *Clin Pharmacol Ther*. 2014. Vol. 95. P. 189–198. DOI:10.1038/clpt.2013.187.

20. Dai Y., Wang Q., Zhang X., Jia S., Zheng H., Feng D., Yu P. Molecular docking and QSAR study on steroidal compounds as aromatase inhibitors. *Eur J Med Chem*. 2010. Vol. 45. P. 5612–5620. DOI:10.1016/j.ejmech.2010.09.011.

21. Cojocaru V., Balali-Mood K., Sansom M. S., Wade R. C. Structure and dynamics of the membrane-bound cytochrome P450 2C9. *PLoS Comp Biol*. 2011. Vol. 7. Art. № e1002152. DOI:10.1371/journal.pcbi.

22. Denisov I., Shih A., Sligar S. Structural differences between soluble and membrane bound cytochrome P450s. *J Inorg Biochem*. 2012. Vol. 108. P. 150–158. DOI:10.1016/j.jinorgbio.2011.11.026.

23. Mo S.-L., Liu W.-F., Chen Y., Luo H.-B., Sun L.-B., Chen X.-W., Zhou Z.-W. Ligand- and protein-based modeling studies of the inhibitors of human cytochrome P450 2D6 and a virtual screening for potential inhibitors from the Chinese herbal medicine, *Scutellaria baicalensis* (Huangqin, Baikal Skullcap). *Comb Chem High T Scr*. 2020. Vol. 15. P. 36–80.

24. Kroemer R. T. Structure-based drug design: docking and scoring. *Curr Protein Pept Sci*. 2021. Vol. 8. P. 312–328.

25. Hevener K. E., Zhao W., Bali D. M., Babaoglu K., Qi J., White S. W., Lee R. E. Validation of molecular docking programs for virtual screening against dihydropteroate synthase. *J Chem Inf Model*. 2019. Vol. 49. P. 444–460. DOI:10.1021/ci800293n.

26. Dhers L., Pietrancosta N., Ducassou L., Ramassamy B., Dairou J., Jaouen M., André F., Mansuy D., Boucher J. L. Spectral and 3D model studies of the interaction of orphan human cytochrome P450 2U1 with substrates and ligands.

*Biochim Biophys Acta*. 2017. Vol. 1861, iss. 1 (Pt A). P. 3144–3153. DOI:10.1016/j.bbagen.2016.07.018.

27. Zhang T., Chen Q., Li L., Angela Liu L., Wie D.-Q. *In silico* prediction of cytochrome P450-mediated drug metabolism. *Comb Chem High T Scr*. 2021. Vol. 14. P. 388–395.

28. Raunio H., Juvonen R. O., Poso A., Lahtela-Kakkonen M., Rahnasto-Rilla M. Common and distinct interactions of chemical inhibitors with cytochrome P450 CYP1A2, CYP2A6 and CYP2B6 enzymes. *Drug Metab Lett*. 2016. Vol. 10. P. 56–64.

29. Nembri S., Grisoni F., Consonni V., Todeschini R. *In Silico* prediction of cytochrome P450-drug interaction: QSARs for CYP3A4 and CYP2C9. *Int J Mol Sci*. 2016. Vol. 17. P. 914. DOI:10.3390/ijms17060914.

30. Vermeulen N. P. E. Alternate prediction of drug metabolism: the case of cytochrome P450 2D6. *Curr Top Med Chem*. 2022. Vol. 3. P. 1227–1239.

31. Nair P. C., McKinnon R. A., Miners J. O. Cytochrome P450 structure–function: insights from molecular dynamics simulations. *Drug Metab Rev*. 2016. Vol. 48. P. 434–452. DOI:10.1080/03602532.2016.1178771.

32. Dodani S. C., Kiss G., Cahn J. K. B., Su Y., Pande V. S., Arnold F. H. Discovery of a regioselectivity switch in nitrating P450s guided by molecular dynamics simulations and Markov models. *Nat Chem*. 2016. Vol. 8. P. 419–425. DOI:10.1038/NCHEM.2474.

33. Kesharwani S. S., Nandekar P. P., Pragyan P., Rathod V., Sangamwar A. T. Characterization of differences in substrate specificity among CYP1A1, CYP1A2 and CYP1B1: an integrated approach employing molecular docking and molecular dynamics simulations. *J Mol Recognit*. 2016. Vol. 29. P. 370–390. DOI:10.1002/jmr.2537.

34. Shimada T., Takenaka S., Kakimoto K., Murayama N., Lim Y. R., Kim D., Foroozesh M. K., Yamazaki H., Guengerich F. P., Komori M. Structure–function studies of naphthalene, phenanthrene, biphenyl, and their derivatives in

interaction with and oxidation by cytochromes P450 2A13 and 2A6. *Chem Res Toxicol.* 2016. Vol. 29. P. 1029–1040. DOI:10.1021/acs.chemrestox.6b00083.

35. Nookala A. R., Li J., Ande A., Wang L., Vaidya N. K., Li W., Kumar S., Kumar A. Effect of methamphetamine on spectral binding, ligand docking and metabolism of anti-HIV drugs with CYP3A4. *PLoS ONE.* 2016. Vol. 11. Art. № e0146529. DOI:10.1371/journal.pone.0146529

36. Roy K., Roy P. P. Comparative QSAR studies of CYP1A2 inhibitor flavonoids using 2D and 3D descriptors. *Chem Biol Drug Des.* 2019. Vol. 72. P. 370–382. DOI:10.1111/j.1747-0285.2008.00717.x.

37. Jónsdóttir S. Ó., Ringsted T., Nikolov N. G., Dybdahl M., Wedebye E. B., Niemelä J. R. Identification of cytochrome P450 2D6 and 2C9 substrates and inhibitors by QSAR analysis. *Bioorg Med Chem.* 2012. Vol. 20. P. 2042–2053. DOI:10.1016/j.bmc.2012.01.049.

38. Foti R. S., Rock D. A., Han X., Flowers R. A., Wienkers L. C., Wahlstrom J. L. Ligand-based design of a potent and selective inhibitor of cytochrome P450 2C19. *J Med Chem.* 2021. Vol. 55. P. 1205–1214. DOI:10.1021/jm201346g.

39. Kaur P., Chamberlin A. R., Poulos T. L., Sevrioukova I. F. Structure-based inhibitor design for evaluation of a CYP3A4 pharmacophore model. *J Med Chem.* 2016. Vol. 59. P. 4210–4220. DOI:10.1021/acs.jmedchem.5b01146.

40. Shao Y. X., Zhao P., Li Z., Liu M., Liu P., Huang M., Luo H. B. The molecular basis for the inhibition of human cytochrome P450 1A2 by oroxylin and wogonin. *Eur Biophys J.* 2019. Vol. 41. P. 297–306. DOI:10.1007/s00249-011-0785-1.

41. Bren U., Oostenbrink C. Cytochrome P450 3A4 inhibition by ketoconazole: tackling the problem of ligand cooperativity using molecular dynamics simulations and free-energy calculations. *J Chem Inf Model.* 2021. Vol. 52. P. 1573–1582. DOI:10.1021/ci300118x.

42. Zakharov A. V., Varlamova E. V., Lagunin A. A., Dmitriev A. V., Poroikov V. V. QSAR modeling and prediction of drug-drug interactions. *Mol Pharm.* 2016. Vol. 13. P. 545–556. DOI:10.1021/acs.molpharmaceut.5b00762.

43. Lonsdale R., Fort R. M., Rydberg P., Harvey J. N., Mulholland A. J. Quantum mechanics/molecular mechanics modeling of drug metabolism: mexiletine N-hydroxylation by cytochrome P450 1A2. *Chem Res Toxicol.* 2020. Vol. 29. P. 963–971. DOI:10.1021/acs.chemrestox.5b00514.

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

45. 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.

46. 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.

47. 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.

48. 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. Art. № E68.

49. 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. Art. № E02.

50. 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.

51. 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.

**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**

**Олексія СТЕФАНКІВА**

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Прогнозування ймовірних шляхів метаболізму 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону – потенційного АФІ седативної дії», 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 седативними 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 – 2; рисунків – 15; схем – 1.

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.	<b>виконано</b>
2	Ознайомлення, аналіз алгоритмів комп'ютерних онлайн систем прогнозування метаболізму ксенобіотиків. Вибір програмних продуктів та аналіз особливостей роботи з ними	жовтень 2022 р.	<b>виконано</b>
3	Прогнозування ймовірних шляхів метаболізму 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону – потенційного АФІ седативної дії	жовтень-листопад 2022 р.	<b>виконано</b>
4	Аналіз отриманих результатів	листопад 2022 р.	<b>виконано</b>
5	Оформлення кваліфікаційної роботи	грудень 2022 р.	<b>виконано</b>

Здобувач вищої освіти

\_\_\_\_\_

Олексій СТЕФАНКІВ

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
<b>Кафедра медичної хімії</b>				
Стефанків Олексій Ігорович	Прогнозування ймовірних шляхів метаболізму 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону - потенційного АФІ седативної дії	Prediction of the probable metabolic pathways of 2-methyl-3-[(4-methoxyanilino)methyl]-1H-quinolin-4-one - a potential API with sedative action	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**

№ 111140 від «11» січня 2023 р.

Проаналізувавши випускню кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти заочної форми навчання Стефанківа Олексія Ігоровича, 2 курсу, \_\_\_\_\_ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Прогнозування ймовірних шляхів метаболізму 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону - потенційного АФІ седативної дії / Prediction of the probable metabolic pathways of 2-methyl-3-[(4-methoxyanilino)methyl]-1H-quinolin-4-one - a potential API with sedative action», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (компіляції).

**Голова комісії,  
професор**



**Інна ВЛАДИМИРОВА**

**2%**

**22%**

## ВІДГУК

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

**Олексія СТЕФАНКІВА**

на тему: «Прогнозування ймовірних шляхів метаболізму 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону – потенційного АФІ седативної дії».

**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 Р450. 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 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону, речовини що є перспективним АФІ з седативними 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 Олексія СТЕФАНКІВА 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

Олексія СТЕФАНКІВА

на тему: «Прогнозування ймовірних шляхів метаболізму 2-метил3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону – потенційного АФІ седативної дії».

**Актуальність теми.** Подана на рецензування робота Олексія СТЕФАНКІВА присвячена комп'ютерному прогнозування можливих шляхів біотрансформації потенційного активного фармацевтичного інгредієнта з седативними та ноотропними властивостями 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону. 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 Р450. Особливе значення такі дослідження мають саме на ранніх етапах вивчення властивостей кандидата в АФІ з метою зменшення ризиків відкликання сполук-кандидатів у ліки на стадії клінічних випробувань внаслідок метаболічних характеристик молекул. 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 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону може інтенсивно метаболізуватись за участю ферментних систем цитохрому Р450. Найбільш імовірними шляхами метаболізму досліджуваної сполуки є ароматичне гідроксилювання за участю атомів карбону як гетероциклічної системи хінолону, так і фенільного та бензамідного фрагментів. Прогнозовані напрямки аліфатичного гідроксилювання за метильною групою в положенні 2 гетероциклу до похідних кінуренової кислоти та дебензоїлювання з утворенням 2-метил-3-(феніламінометил)-1Н-хінолін-4-ону (атристаміну) свідчать на користь припущення, що доведені фармакодинамічні ефекти N-[(2-метил-4-оксо-1Н-хінолін-3-іл)метил]-N-фенілбензаміду можуть частково забезпечуватись саме цими фармакологічно активними метаболітами.

**Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість.** Одержані результати дослідження розширюють знання щодо можливих шляхів метаболізму 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону, речовини що є перспективною сполукою з седативними 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 Олексія СТЕФАНКІВА за обсягом та змістом відповідає вимогам, що висуваються 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(1.63)-01а групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Олексія СТЕФАНКІВА на тему: «Прогнозування ймовірних шляхів метаболізму 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону – потенційного АФІ седативної дії».

**СЛУХАЛИ:** доповідь здобувача вищої освіти факультету фармацевтичних технологій та менеджменту, ФМ21(1.63)-01а групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Олексія СТЕФАНКІВА на тему: «Прогнозування ймовірних шляхів метаболізму 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону – потенційного АФІ седативної дії», керівник – доцент ЗВО кафедри медичної хімії, д.фарм.н. Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ.

**УХВАЛИЛИ:** рекомендувати кваліфікаційну роботу Олексія СТЕФАНКІВА 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 Олексій СТЕФАНКІВ до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «Прогнозування ймовірних шляхів метаболізму 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону – потенційного АФІ седативної дії»

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету \_\_\_\_\_ / Наталія ЖИВОРА /

**Висновок керівника кваліфікаційної роботи**

Здобувач вищої освіти Олексій СТЕФАНКІВ обґрунтував актуальність дослідження з прогнозування можливих шляхів біотрансформації потенційного АФІ седативної та ноотропної дії 2-метил-3-[(4-метоксианіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону, 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 Олексій СТЕФАНКІВ 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 /