

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

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
на тему: **«ПРОГНОЗУВАННЯ НАПРЯМКІВ БІОТРАНСФОРМАЦІЇ**
2-МЕТИЛ-3-[(2-МЕТИЛАНІЛІНО)МЕТИЛ]-1Н-ХІНОЛІН-4-ОНУ –
ПОТЕНЦІЙНОГО АНТИГІПОКСАНТА З НООТРОПНИМИ
ВЛАСТИВОСТЯМИ»

Виконала: здобувачка вищої освіти групи Фм18(4,10д)-07
спеціальності 226 Фармація, промислова фармація
освітньої програми Фармація
Вероніка НАПХАНЕНКО

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 антигіпоксичної та ноотропної дії 2-метил-3-[(2-метиланіліно)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 гідроксилювання за участю атомів карбону як гетероциклічної системи хінолону, так і фенільного замісника, аліфатичне гідроксилювання метильних груп та N-деалкілювання амінометильного фрагменту. Прогнозований напрямок аліфатичного гідроксилювання 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-[(2-метиланіліно)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 antihypoxic and nootropic effects, 2-methyl-3-[(2-methylanilino)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 both the quinolone heterocyclic system and the phenyl substituent, aliphatic hydroxylation of methyl groups, and N-dealkylation of the aminomethyl 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-[(2-methylanilino)methyl]-1H-quinoline-4-one, metabolism, biotransformation, computer prediction, online systems, pharmacological activity.

ЗМІСТ

	Стор.
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ОБЧИСЛЮВАЛЬНІ ПІДХОДИ В ДОКЛІНІЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ РОЗРОБКИ ЛІКІВ (Огляд літератури)	7
1.1. Бази даних та їхнє застосування в розробці лікарських засобів	9
1.1.1. Бази даних, пов'язані з ADMET-параметрами	9
1.1.2. Допоміжні бази даних	12
1.2. Програмне забезпечення	13
1.3. Успішні приклади застосування методів <i>in silico</i>	19
1.3.1. Молекулярне моделювання	19
1.3.2. Методи QSAR	19
1.3.3 Моделювання PBPK	20
1.3.4 Оптимізація ADMET-параметрів	21
<i>Висновки до розділу 1</i>	22
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	23
2.1. Синтез 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону	23
2.2. Фармакологічні властивості 2-метил-3-[(2-метил-аніліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону	25
2.3. Застосовані онлайн системи комп'ютерного прогнозування метаболізму	28
<i>Висновки до розділу 2</i>	39
РОЗДІЛ 3. ПРОГНОЗУВАННЯ ЙМОВІРНИХ ШЛЯХІВ МЕТАБОЛІЗМУ 2-МЕТИЛ-3-[(2-МЕТИЛ- АНІЛІНО)МЕТИЛ]-1Н-ХІНОЛІН-4-ОНУ	40
<i>Висновки до розділу 3</i>	52
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	53
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	55
ДОДАТКИ	62

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 ₅₀	Середня інгібуюча концентрація
<i>in silico</i>	Методи дослідження із застосуванням математичних розрахункових методів
<i>in vitro</i>	Методи дослідження із застосуванням клітинних культур
<i>in vivo</i>	Методи дослідження в живому організмі
PBPK	Фізіологічно обґрунтована фармакокінетика
PD	Фармакодинаміка
PK	Фармакокінетика
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-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону як перспективного кандидата в АФІ з антигіпоксичними 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 Р450. Обрана тематика кваліфікаційної роботи спрямована на вирішення цих питань, що визначає її актуальність.

Мета дослідження. Прогнозування ймовірних шляхів метаболізму 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону як перспективного кандидата в АФІ з антигіпоксичними 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-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону (лабораторний шифр VAZ16_p07) 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-[(2-метиланіліно)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 антигіпоксичної та ноотропної дії 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-он.

Предмет дослідження. Імовірні шляхи метаболізму 2-метил-3-[(2-метиланіліно)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-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону, речовини що є перспективним АФІ антигіпоксичної 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-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону як перспективного кандидата в АФІ з антигіпоксичними та ноотропними властивостями.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи. Кваліфікаційна робота складається зі вступу, 3 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел (56 найменувань), додатків. Загальний обсяг роботи – 54 сторінки. Робота містить 1 схему та 13 рисунків.

РОЗДІЛ 1. ОБЧИСЛЮВАЛЬНІ ПІДХОДИ В ДОКЛІНІЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ РОЗРОБКИ ЛІКІВ (Огляд літератури)

Оскільки небажана фармакокінетика і токсичність є основними причинами невдач у розробці лікарських засобів на дорогих пізніх стадіях, широко визнано, що ADMET-властивості лікарських засобів слід враховувати якомога раніше, щоб знизити рівень невдач на клінічній стадії розробки лікарських засобів. Водночас, останніми роками почастішали випадки відкликання лікарських засобів, що спонукає фармацевтичні компанії приділяти більше уваги оцінці безпеки доклінічних препаратів. Наразі методи оцінки лікарських засобів *in vitro* та *in vivo* є більш досконалішими у доклінічному застосуванні, але ці технології є дорогими. В останні роки, зі стрімким розвитком комп'ютерних наук, технологія *in silico* широко використовується для оцінки відповідних властивостей лікарських засобів на доклінічній стадії і дозволила створити багато програм і моделей *in silico*, що ще більше сприяло вивченню ADMET *in vitro*.

Розробка ліків – це складний, ризикований і трудомісткий процес, який можна розділити на кілька етапів, включаючи геноміку, пов'язану із захворюванням, ідентифікацію та валідацію мішеней, пошук та оптимізацію сполук-лідерів, доклінічні дослідження та клінічні випробування [1]. Під час ранньої розробки лікарських засобів зазвичай оцінюють активність і специфіку препаратів-кандидатів на ранній стадії, а фармакокінетику і токсичність оцінюють на відносно пізній стадії [2]. Однак небажані показники ефективності та безпеки, головним чином спричинені абсорбцією, розподілом, метаболізмом, виведенням і токсичністю (ADMET), призвели до провалу багатьох препаратів-кандидатів на завершальній стадії [3]. Cook та ін. [4] всебічно проаналізували результати проектів компанії AstraZeneca з розробки низькомолекулярних препаратів AstraZeneca з 2005 по 2010 рік на основі лонгітюдного дослідження. Вони виявили, що неприйнятна безпека і

токсичність були найбільш важливими причинами провалу більш ніж половини всіх проектів, які були закриті закриття проектів. Як і при розробці відкриття лікарських засобів, було усвідомлено, що важливо фільтрувати та оптимізувати властивості ADMET для лікарських засобів на ранній стадії, що було прийнято і широко використовується для зниження рівня відсіву в дослідженнях і розробці лікарських засобів. розробці лікарських засобів. Стратегія "відмова на ранній стадії, відмова дешево" була застосована багатьма фармацевтичними компаніями багатьма фармацевтичними компаніями [5].

Оцінка фармакокінетики і токсичності доклінічних препаратів мають велике значення для зниження частоти невдач нових хімічних речовин (НХР) у клінічних випробуваннях [6, 7]. В останні роки широко використовуються методи прогнозування ADMET *in vitro* та *in vivo*, але проведення складних і дорогих експериментів ADMET-експерименти на великій кількості сполук є недоцільним [8]. Таким чином, стратегія *in silico* для прогнозування властивостей ADMET стала дуже привабливою як економічно вигідна і високопродуктивна альтернатива експериментальним методам вимірювання.

Зі стрімким розвитком комп'ютерних технологій, високопродуктивного скринінгу сполук, застосування комбінаторної хімії та можливості синтезу сполук різко зросли. Ранні вимоги до даних ADMET даних про сполуки-лідери також значно зросли, а поступово зростає кількість методів оцінки ADMET *in vitro*. Багато методів *in silico* були успішно застосовані для прогнозування ADMET *in vitro*, а моделі *in silico* також були також були розроблені моделі *in silico* для заміни моделей *in vivo* для прогнозування фармакокінетики фармакокінетики, токсичності та інших параметрів [9]. ADMET-прогнозування *in silico* прогресувало з безперервним розвитком хімічної інформатики і вступило в еру великих даних [7]. Дві категорії підходу *in silico* можуть бути для прогнозування ADMET: молекулярне моделювання та моделювання даних. Молекулярне моделювання базується на тривимірних структурах білків. Воно включає в себе кілька методів, таких як молекулярний

докінг, моделювання молекулярної динаміки (МД) та квантової механіки (КМ) [10]. Моделювання даних включає кількісне співвідношення структура-активність (QSAR) [11] та фізіологічно обґрунтоване фармакокінетичне (PBPK) моделювання [12]. У зв'язку зі збільшенням кількості властивостей, які необхідно прогнозувати, було розроблено низку програмних продуктів, здатних комплексного прогнозування ADMET-властивостей. Розвиток від підходів *in silico* до прогнозування властивостей ADMET пройшов довгий процес прогнозування параметрів властивостей від меншого до більшого в ранніх і пізніх часових точках.

1.1 Бази даних та їхнє застосування в розробці лікарських засобів

За останні 10 років, у зв'язку зі стрімким розвитком, з'явилася ціла низка споріднених баз даних, що зберігають фармакокінетичні параметри. Для баз даних, пов'язаних з ADMET, користувачі можуть подавати інформацію про сполуки, які вони хочуть знайти, через відповідні модулі. Потім буде проведено скринінг форми або фармакофорний скринінг для отримання додаткових мішеней або інформації про біологічну активність подібних лігандів, які відповідають молекулі, що запитується. З результату запиту також можна отримати властивості, пов'язані з ADMET. Допоміжні бази даних в основному зосереджені на наданні структурної інформації про сполуки. Хоча деяка інформація, пов'язана з ADMET, надається в результатах пошуку, вона не є повною, і не кожна сполука пов'язана з такою інформацією.

1.1.1 Бази даних, пов'язані з ADMET-параметрами

Наразі для прогнозування ADMET використовують багато моделей *in silico*, але для їх побудови потрібні величезні обсяги даних. Якість і кількість даних тісно пов'язані з точністю прогнозування моделі, тому надійні експериментальні дані є ключем до успішного прогнозування [9].

Наразі існує кілька баз даних, які можуть допомогти у прогнозуванні ADMET, наприклад, база даних ADME, SuperToxic, PKKB та DSSTox [13]. Використовуючи ці бази даних, користувачі можуть отримати корисні набори

даних для використання в зовнішніх алгоритмах для створення моделей прогнозування. Бази даних також можна використовувати безпосередньо для виконання прогнозування за допомогою пошукових функцій, таких як пошук подібності або прогнозування. Крім того, ці моделі можна оновлювати, коли до бази даних додаються нові експериментальні дані.

База даних ADME (<https://www.fujitsu.com/jp/group/kyushu/en/solutions/industry/lifescience/admedatabase/>), розроблена Загребським університетом та компанією Fujitsu у 2004 році, є комерційною базою даних, яка спеціалізується на інформації з фармакокінетики. Вона надає вичерпні дані про ферменти, що метаболізують ліки, і транспортери ліків, які є специфічними для людини. Ці дані широко використовуються в дослідженнях і розробках лікарських засобів, таких як прогнозування ADME і взаємодій між лікарськими засобами. Користувачі можуть шукати інформацію про класифікацію, метаболічні реакції та кінетику сполук за структурою або субструктурою. Однак наразі база даних обмежує масштабне завантаження даних користувачів, а також публічне розповсюдження деяких моделей [13].

SuperToxic збирає токсини з різних джерел (тваринні, рослинні, синтетичні тощо), компілює ~60 000 сполук з їхніми структурами та інтегрує деякі хімічні властивості та інформацію про комерційну доступність. Ці сполуки класифікуються на основі їхньої токсичності, яка визначається на основі понад 2 мільйонів вимірювань. Значення можуть бути використані для вивчення взаємозв'язку між хімічною структурою і функціями токсинів для оцінки ризику їх використання. Користувачі можуть легко запитувати інформацію про структуру і токсичність всіх сполук з відповідними властивостями за допомогою пошуку за структурою, назвою або властивістю. SuperToxic також дозволяє користувачам переглядати дані, вибираючи літерні символи або цифри, щоб представити всі записи, починаючи з вибраного. Доступні номери CASRN або NSC в базі даних також можуть бути записані. Інформація про токсичність, отримана з бази даних, включає дозування, тип тесту (вимірювання токсичності, наприклад, LD₅₀), а також клітинні лінії або

організми, які визначають токсичність. База даних також інтегрує програмні пакети, які широко використовуються при створенні сучасних композитних баз даних, такі як Marvin Sketch (малювання молекул), Jmol (візуальний контроль) і MyChem/OpenBabel (розрахунок властивостей). Крім того, SuperToxic було підключено до баз даних Protein Data Bank, UniProt та KEGG для виявлення потенційних мішеней у біохімічних шляхах пошуку сполук [13].

База даних EPA Distributed Structure-Searchable Toxicity (DSSTox), яка надає серію задокументованих, стандартизованих і повних файлів з анотованою інформацією про токсичність, може бути дуже корисною для розробки моделі SAR [14]. Щоб забезпечити ширше використання бази даних, DSSTox було розроблено з використанням структурного файлу даних (SDF) - загальнодоступного і стандартного для галузі формату файлів імпорту/експорту, що зберігає хімічні структури та інформацію про властивості, яку можна використовувати як вхідні дані для будь-якої програми хімічної реляційної бази даних (CRD) або перетворити в таблиці даних. Це один з найкраще керованих публічних наборів даних, доступних на сьогоднішній день, і дані, що зберігаються в ньому, вважаються стандартним джерелом для загальнодоступних даних про структурну токсичність на основі структурної токсичності.

Крім баз даних, представлених вище, слід також звернути увагу на деякі нещодавно створені бази даних, пов'язані з ADMEТ, наприклад, База даних порівняльної токсикогеноміки (CTD) [15], Довідкова база даних токсичності (ToxRefDB) [16] та База даних хімічних ефектів у біологічних системах (CEBS) [17]. CTD – це потужна загальнодоступна база даних, призначена для покращення розуміння того, як вплив навколишнього середовища впливає на здоров'я людини. Вона надає дані про взаємодію хімічних речовин з генами та білками, взаємозв'язки між хімічними речовинами та хворобами, а також між генами та хворобами, які в поєднанні з даними про шляхи та функції допомагають розробляти гіпотези про внутрішні механізми захворювань, на

які впливає навколишнє середовище [15]. ToxRefDB збирає дані з тестів на токсичність тварин *in vivo* і надає кінцеві точки токсичності для прогнозного моделювання. Приблизно 28 000 наборів даних з майже 400 кінцевих точок було сформовано та збережено. Нещодавнє оновлення ToxRefDB додало зв'язки з іншими ресурсами і значно підвищило корисність прогнозування токсичності [16]. CEBS пропонує токсикологічний ресурс, який збирає індивідуальні та стислі дані про тварин з 11 000 тестових статей та понад 8 000 досліджень, що охоплюють усі доступні дослідження канцерогенності, генетичної токсичності та короткострокової токсичності Національної програми з токсикології (NTP). Високоякісні дані в CEBS дуже корисні для побудови більш точної моделі для прогнозування токсичності [17]. З нещодавно створених баз даних можна зробити висновок, що кількість і якість даних визначають якість моделі і будуть в центрі нашої уваги в майбутньому.

1.1.2 Допоміжні бази даних

На додаток до баз даних, пов'язаних з ADMET, для прогнозування ADMET важливі бази даних біологічної активності, шляхів та побічних ефектів. Більшість з цих баз даних є безкоштовними і відкритими для відвідування, наприклад, DrugBank [18], PubChem [19] і ChEMBL [20]. Хоча вони рідко використовуються для безпосереднього прогнозування властивостей, пов'язаних з ADMET, вони можуть надавати структурну інформацію для побудови моделей або запитувати інформацію про сполуки. Користувачі також можуть завантажити передбачену структуру сполуки і використовувати її як вхідний файл для іншого програмного забезпечення.

DrugBank, всеосяжна база даних, інтегрувала тисячі добре вивчених лікарських засобів і мішеней з їхніми фізичними, хімічними, біологічними та фармацевтичними даними. Банк даних DrugBank 4.0 був розширений, щоб містити дані про ADMET та інші види інформації з QSAR. Остання версія DrugBank 5.0 ще більше оновила цю інформацію [18]. Користувачі можуть використовувати списки хімічних зсувів або відношення маси до заряду (m/z) для пошуку приблизних або точних збігів у спектральній бібліотеці DrugBank.

DrugBank також систематично класифікує сполуки на різні типи на основі структурних особливостей та структурної подібності і дозволяє користувачам робити запити за допомогою простого тексту [13].

Pubchem, загальнодоступна база даних малих молекул з їх біологічними властивостями, складається з трьох взаємопов'язаних частин: (1) Compound, що зберігає понад 102 мільйони унікальних хімічних структур, наданих різними депозитаріями; (2) Substance, що містить понад 251 мільйон записів, включаючи комплекси, екстракти, суміші та нехарактеристичні дані; і (3) BioAssay, що містить понад 1 067 000 біоаналізів, надаючи композитні суміжні структури, субструктури, подібні структури, дані про біологічну активність, а також інші пошукові функції [19].

ChEMBL – це відкрита база даних, що містить двовимірні структури, розраховані властивості (молекулярна маса, ліпофільність тощо) та абстрактну біологічну активність (фармакологічні та ADMET дані) для численних лікарськоподібних біологічно активних сполук [20]. Вона складається з трьох різних наборів даних, які спочатку були розроблені компанією Inpharmatica, включаючи StARlite, CandiStore і DrugStore. Дані в ChEMBL були отримані з наукової літератури і розроблені для задоволення потреб користувачів в інтелектуальній кластеризації релевантної інформації та інтеграції даних з різних терапевтичних досліджень і областей.

1.2 Програмне забезпечення

Сприятливі характеристики ADMET важливі як ранні вимоги до кандидатів на лікарські засоби, щоб зменшити пізні невдачі та витрати. Однак багато властивостей ADMET сильно залежать одна від одної, тому їх необхідно оптимізувати одночасно в доклінічних дослідженнях з пошуку та розробки лікарських засобів. Тим не менш, одночасна оптимізація багатопараметричних ADMET є найскладнішим і найменш привабливим етапом. Як наслідок, раннє прогнозування ADMET включало лише деякі прості властивості, такі як $\log P$, $\log D$ і $\log S$. Зі збільшенням

експериментальних даних було розроблено все більше моделей *in silico* для прогнозування більш складних параметрів ADMET, таких як швидкість всмоктування в кишечнику людини, пероральна біодоступність, швидкість проникнення через гематоенцефалічний бар'єр, проникність Caco-2, всмоктування в кишечнику людини, лікарські взаємодії, Р-глікопротеїн, швидкість зв'язування з білками плазми, метаболічні ферменти CYP та нирковий кліренс [21]. Спеціалісти також намагалися інтегрувати ці моделі для одночасного прогнозування параметрів ADMET, і в багатьох дослідженнях описано ці моделі *in silico* та їхні прогнозовані властивості [22]. Крім того, було розроблено програмне забезпечення, яке інтегрує ці моделі для одночасного прогнозування параметрів ADMET.

SwissADME – це гібридний веб-сервер, розроблений Швейцарським інститутом біоінформатики [23]. Він підтримує різні формати вхідних даних і може прогнозувати та аналізувати властивості ADME численних сполук у партіях, що надходять з усього світу. Це програмне забезпечення виводить різні типи фізико-хімічних властивостей лікарських засобів: розчинність у воді, ліпофільність, фізико-хімічні властивості, лікарську подібність, фармакокінетику та медичну хімію, які можна безпосередньо експортувати і зберігати у вигляді файлу даних у форматі CSV (значення, розділені комами) і читати такими програмами, як WordPad і Excel [23]. Крім того, він надає радіолокаційну карту біодоступності для швидкої та інтуїтивної оцінки лікарської подібності малих молекул, що полегшує його використання для неспеціалістів без професійних знань [23]. Сервер використовує різні правила для оцінки однієї і тієї ж властивості і надає критерії оцінки та основу для більшості прогнозованих даних. Однак при прогнозуванні того, чи є сполука субстратом або інгібітором ферменту CYP, виводиться лише схильність, а не ймовірність, як у admetSAR. SwissADME також надає посилання для надсилання запитуваних молекул на інші сервери швейцарської серії для подальшого аналізу в один клік [23].

Хоча токсикологія *in vivo* все ще залишається золотим стандартом для виявлення побічних ефектів ліків, зараз вважається, що цей метод не допоможе знизити високий рівень споживання на пізніх стадіях клінічних розробок [24]. Для прогнозування токсичності ліків було розроблено багато обчислювальних інструментів, які допомагають зменшити швидкість виснаження молекулярних сполук при відкритті ліків і скоротити час і витрати на розробку ліків. В останні роки прогностична здатність цих систем прогнозування токсичності значно покращилася, охоплюючи більш складні токсикологічні кінцеві точки, такі як гепатотоксичність, тератогенність, нефротоксичність і канцерогенність [6]. Наразі доступно багато комерційних та безкоштовних веб-прогнозаторів токсичності, таких як Lazar та Toxtree [13, 25].

Lazar, розроблений компанією *in silico* токсикології GMBH, – це інструмент на основі OpenTox (інтегрований інтерфейс для інтеоперабельної прогностичної токсикології) для прогнозування токсикологічних кінцевих точок, таких як канцерогенність, репродуктивна токсичність і довгострокова токсичність [26]. Він використовує алгоритми інтелектуального аналізу даних для прогнозування токсичності нових сполук на основі експериментальних навчальних даних. Набори даних з хімічною структурою та біологічною активністю можуть бути використані як навчальні дані. Таким чином, Lazar може слугувати універсальним алгоритмом прогнозування для будь-якої біологічної кінцевої точки за наявності достатньої кількості експериментальних даних, тому користувачам більше не потрібно враховувати хімічну, біологічну чи токсикологічну експертизу, а отримувати моделі *in silico* на основі статистичних стандартів [27]. Користувачам потрібно лише ввести структуру сполуки, а Lazar здійснить пошук в базі даних серії подібних сполук і відповідних експериментальних даних, які будуть використані для побудови локальної QSAR-моделі. Результати прогнозування за допомогою моделі відображатимуться в графічному інтерфейсі, який надає

структурні особливості та сполуки, подібні до сполук запиту, а також токсичні властивості для кожного фрагмента [27].

Toxtree – це вільно доступне програмне забезпечення, розроблене на замовлення Європейського хімічного агентства (ECB), спільного дослідницького центру Європейської комісії [28]. Спочатку вона була розроблена для ефективно розробки дерева рішень Крамера. Остання версія Toxtree включала додаткові проекти, такі як правила корозії, подразнення шкіри BfR/SICRET і схема Верхаара, загалом 14 функціональних модулів [28]. Він включає правила виключення за фізіохімічними ознаками та правила включення структурних попереджень, які використовуються для категоризації сполук [25]. На відміну від Lazar, він не має навчальної вибірки. Його передбачення ґрунтується на структурних фільтрах, тому немає області застосування. Він обробляє інформацію про молекулярну структуру, використовуючи модель дерева рішень для оцінки ризику [25]. Користувачі можуть отримати доступ до нього за адресою <http://toxtree.sourceforge.net/> для прогнозування токсичності структур, що їх цікавлять.

ADMETlab – це платформа для систематичної оцінки ADMET на основі всеосяжної колекції баз даних ADMET [21]. Платформа включає чотири функціональні модулі, які використовуються для оцінки подібності лікарських засобів (на основі правила п'яти Ліпінського та моделі Druglikeness), прогнозування кінцевих точок ADMET, оцінки системи та пошуку бази даних/подібності [21]. Серед них "Прогнозування ADMET" є основним використовуваним модулем; інші три є допоміжними модулями. Користувачі можуть запитувати одну або декілька сполук за допомогою платформи, використовуючи SMILES, завантажуючи файл у форматі SDF або малюючи хімічну структуру за допомогою вбудованого редактора JME. Після завантаження сполуки платформа використовує декілька фармакокінетичних моделей, побудованих на основі різних інтегрованих наборів даних, для детального прогнозування властивостей ADMET. Результати прогнозування моделі виводяться в інтерактивній таблиці даних, що містить прогнозовані

значення і структури. Програмне забезпечення дозволяє прогнозувати партії, а користувачі можуть застосовувати модуль "оцінка схожості з лікарськими молекулами" для фільтрації сполук, які навряд чи є сполуками свинцю або наркотиками, досягаючи мети попереднього скринінгу [21]. Користувачі повинні вибрати одну модель для отримання результатів для однієї або декількох молекул, що підходить для скринінгу сполук у конкретних кінцевих точках, а результати нададуть обґрунтовані рекомендації ADMET для кожної кінцевої точки. Таким чином, користувачі можуть проводити швидкий скринінг властивостей ADMET на основі цих незалежних специфічних моделей прогнозування і навіть далі цілеспрямовано оптимізувати хімічні структури сполук, підвищуючи ймовірність того, що вони стануть лікарськими засобами [21]. Враховуючи дуже велику кількість зібраних даних і численні побудовані QSPR-моделі, ADMETlab наразі є однією з найповніших платформ, що використовуються для прогнозування ADMET.

AdmetSAR – це безкоштовний і комплексний інструмент для прогнозування властивостей ADMET [29]. Дані про властивості ADMET, що зберігаються в AdmetSAR, були зібрані з опублікованої літератури. AdmetSAR також включає інструмент з можливістю пошуку під назвою ADMET-Simulator, який поєднує прогнози та кращі QSAR-моделі в інструментарії, заснованому на хімічній інформатиці, і може прогнозувати ~50 кінцевих точок ADMET. AdmetSAR дозволяє користувачам легко шукати властивості ADMET за CASRN, загальною назвою або структурою [30]. Нова версія admetSAR (версія 2.0) в основному зосереджена на прогнозуванні хімічних властивостей ADMET *in silico* [30]. В admetSAR було реалізовано понад 40 прогнозних моделей, навчених за допомогою найсучасніших методів машинного навчання. Було розроблено чотири функції: (1) настроювані фільтри ризику ADMET, (2) прогнозування властивостей ADMET на основі QSAR, (3) прогнозування токсичності хімічних речовин у навколишньому середовищі та (4) оцінка екологічної небезпеки. ADMETopt [31] – це новий

модуль, доданий у версії 2.0 для оптимізації сполук свинцю відповідно до прогнозованих властивостей ADMET.

За винятком програмного забезпечення ADMET, все більше програмних продуктів РВРК розробляється для систематизації процесів, що відбуваються з лікарськими засобами в організмі людини. Розвиток програмного забезпечення РВРК сприяло подальшому використанню методів моделювання РВРК [13].

Програмне забезпечення РВРК було використано для побудови та використання моделей РВРК, які можуть бути корисними для оцінки фармакокінетичних параметрів у процесі розробки лікарських засобів. На сьогоднішній день програмне забезпечення РВРК можна умовно розділити на дві категорії: програмне забезпечення, що налаштовується користувачем, і дружнє до користувача програмне забезпечення. Спочатку воно використовувалося в інженерному та математичному програмному забезпеченні, оскільки суть РВРК-моделювання полягає в математичному моделюванні [32]. Отже, застосування цих програм у моделюванні РВРК є природною трансформацією. Кастомізоване програмне забезпечення вимагає від користувачів написання власних програм для побудови моделі ПЗ на початковому етапі розробки. Ця процедура вимагає від користувачів досконалих навичок програмування, а також досвіду в цій галузі. Нещодавно до деяких з цих програм були додані спеціальні модулі РК або РВРК і бібліотеки рівнянь, а також візуальні графічні інтерфейси [32].

Використовуючи ці програми, користувачі можуть швидко генерувати стандартні моделі РВРК, дотримуючись існуючих шаблонів, які вже містять стандартні коди та рівняння, що значно полегшує роботу користувача. Зручний для користувача тип, адаптований для моделювання РВРК, має графічний інтерфейс. Він не потребує мови моделювання та програмування, тому є відносно простим в експлуатації. Спочатку деякі з таких програм були спеціально змодельовані для прогнозування певної властивості процесу ADME, наприклад, абсорбції (GastroPlus, [33]) або метаболізму (SimCYP,

[34]). Ці програми поступово еволюціонували в комплексні інструменти моделювання ПБК для всього організму. Останнім часом функції оновлених версій стають дедалі складнішими. Тепер вони не тільки моделюють окремі ділянки, але й імітують фармакокінетичні процеси всього організму, тобто всмоктування, метаболізм, виведення тощо [35, 36]. Ці програми можуть виконувати різні завдання, такі як моделювання, оцінка параметрів та аналіз чутливості, просто вводячи конкретні параметри лікарського засобу та обираючи певні параметри моделі [32].

1.3 Успішні приклади застосування методів *in silico*

За допомогою пошуку в PubMed було зібрано дані про застосування *in silico* для прогнозування профілів ADMET у 2016-2018 роках.

1.3.1 Молекулярне моделювання

Більшість застосувань молекулярного моделювання зосереджені на прогнозуванні сили взаємодії між молекулою та метаболічним ферментом або транспортером.

Наприклад, *Niu* та ін. [37] провели докінгові дослідження флавокаваїну А (FKA) та його мішені CYP450. FKA демонструє очевидне інгібування різних ізоформ CYP, а подальші експерименти з інгібування показали, що основною ізоформою, яка сприяє метаболізму FKA, є CYP3A2. *Gong* та ін. [38] провели експеримент з молекулярного докінгу для вивчення способу зв'язування між саухіноном та ізоформами цитохрому. Результати показали взаємодію саухінону з активним центром CYP2B6, 2C19, 2E1 та 3A4.

1.3.2 Методи QSAR

Прогнозування фармакокінетичних властивостей сполук за допомогою QSAR в основному спирається на традиційні моделі або програмне забезпечення, розроблене на основі побудованих наборів даних.

Наприклад, *Khan* та ін. [39] використовували QSAR-модель в ACD/I-lab для визначення декількох властивостей ADMET (таких як logS, logP, logD, BBB) для 6 сполук, спрямованих на білок теплового шоку 90 (Hsp90). Потім

шість сполук було сконструйовано відповідно до BBB та антиангіогенних властивостей. Одна молекула (сполука 6) інгібувала Hsp90 з прогнозованою ефективністю проникнення BBB 0,55 ккал/моль порівняно з експериментальним значенням 0,625 ккал/моль. *Aja Kumar* та ін. [40] провели 3DQSAR дослідження для фільтрації сполук на основі властивостей ADME за допомогою Шредінгера. П'ятдесят сполук, націлених на трансформуючий фактор росту- β (TGF- β) типу I, були відфільтровані на основі прогнозованих властивостей ADME (таких як BBB, logS та правило п'яти Ліпінського). Сім молекул були відібрані як провідні сполуки для подальших досліджень.

1.3.3 Моделювання PBPK

Моделювання PBPK було послідовно виконано для прогнозування фармакокінетики за допомогою деяких широко використовуваних програм. WinNonlin є однією з найбільш широко використовуваних програм для прогнозування фармакокінетики.

Наприклад, *Gestrich* та ін. [41] використовували WinNonlin (v6.4) для аналізу компартментних і некомпартментних концентрацій гентаміцину в плазмі в залежності від часу. Порівнювали пікові концентрації препарату та AUC у молодих дорослих і старших альпак, і обидва показники були значно нижчими у молодих дорослих, ніж у старших альпак. Підвищена експозиція препарату та знижений кліренс у геріатричних альпак створювали більший ризик виникнення небажаних ефектів та/або терапевтичної невдачі. Інше програмне забезпечення, NONMEM, також широко використовується для прогнозування впливу ліків на цільову популяцію. Це "золотий стандарт" програмного забезпечення для аналізу популяційних даних щодо PK/PD. Наприклад, *Polepally* та ін. [42] використовували нелінійне моделювання змішаних ефектів у NONMEM (версія 7.3) для аналізу даних "концентрація-час", щоб оцінити вплив віку на фармакокінетичні параметри ламотриджину (LTG). Порівнюючи фармакокінетичні характеристики у молодих дорослих і літніх пацієнтів з епілепсією, було зроблено висновок, що біодоступність LTG не залежить від віку [42]. Однак CL LTG у людей похилого віку був на 27,2 %

нижчим, ніж у молодих пацієнтів з епілепсією. Ці дані є дуже корисними для клініцистів, щоб запропонувати оптимальне лікування епілепсії та підтримку пацієнтам похилого віку, які починають лікування низькими дозами [42].

GastroPlus та SimCYP є основними програмами для емуляції РВРК. В останні роки спостерігається зростаюча тенденція використання цих програм разом із вдосконаленням їхніх функцій.

Наприклад, Ye та ін. [43] побудували модель абсорбції за допомогою GastroPlus для прогнозування потенційного впливу різних рівнів рН шлунка на фармакокінетику ланабестату і виявили, що зміни рН шлунка мають мінімальний вплив на клінічну експозицію ланабестату. Вони також порівнювали біодоступність двох препаратів у формі таблеток та перорального розчину. Результати показали, що 90% довірчі інтервали для середньоеометричних співвідношень знаходяться в межах стандартних меж біоеквівалентності для всіх інших фармакокінетичних параметрів, що свідчить про те, що обидві лікарські форми таблеток знаходяться в межах прийнятих критеріїв біоеквівалентності порівняно з пероральним розчином [43]. Boland та ін. [44] використовували SimCYP для створення моделі "доза-концентрація", використовуючи дані пацієнтів різної статі, віку та пероральних форм морфіну. Потім модель було перевірено на основі даних клінічної фармакокінетики та використано для розрахунку зв'язку між дозою морфіну та його концентрацією в плазмі крові. Зрештою, аналіз показав, що старший вік, жіноча стать, препарати з модифікованим вивільненням і нижча функція нирок пов'язані з вищими концентраціями в плазмі [44]. Цей результат може допомогти лікарям приймати персоналізовані рішення щодо призначення.

1.3.4 Оптимізація ADMET-параметрів

Petrescu та ін. [45] використовували обчислювальну програму AdmetSAR для вивчення цитотоксичності 15 фенольних сполук. Результати показали, що ці сполуки набагато менш токсичні для водних організмів, ніж синтетичні пестициди. Roman та ін. [46] використовували SwissADME,

FAFDrugs4 та admetSAR для прогнозування профілів ADMET та фармакокінетики 31 анаболічного та андрогенного стероїду в організмі людини. Результати показали, що досліджувані стероїди показали високу шлунково-кишкову абсорбцію і хорошу пероральну біодоступність, що може бути корисним при інгібуванні цитохромів людини, пов'язаних з метаболізмом ксенобіотиків. Крім того, були спрогнозовані побічні ефекти досліджуваних стероїдів у людини. *Silva* та ін. [47] спрогнозували теоретичну токсичність флуконазолу (FNZ), використовуючи Lazar для вивчення профілю токсичності FNZ щодо мононуклеарних клітин периферичної крові людини (PBMCs), культивованих *in vitro*. Результати показали, що FNZ має потенційні мутагенні, пухлинні, стимулюючі та канцерогенні ефекти [47]. *Zhuang J.* та ін. [48] використовували Toxtree (версія 2.6.13) для оцінки токсичності екстрактивних речовин з багат шарових коекструзійних мішків, а результати їх прогнозування виявили типи екстрактивних речовин, а також фактор біоаккумуляції та мутагенність.

Таким чином, у майбутньому ми очікуємо не лише зменшення кількості помилок при розробці ліків та відкликань препаратів, але й скорочення часу від R&D до виходу на ринок, а також зниження витрат на пізніх стадіях розробки.

Висновки до розділу 1

1. Проведено систематизацію та аналіз сучасної наукової літератури, що присвячена основним методам *in silico*, які застосовуються в тому числі й 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-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-он (лабораторний шифр VAZ16_p07), синтезований доцентом кафедри медичної хімії, д. фарм. н. Зубковим В. О (рис. 2.1).

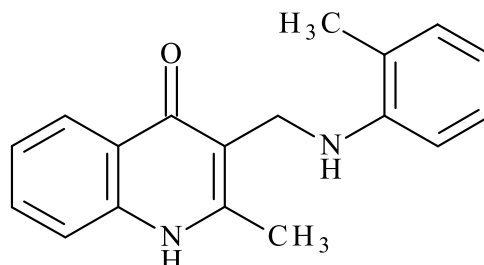


Рис. 2.1 Структурна формула 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону (VAZ16_p07)

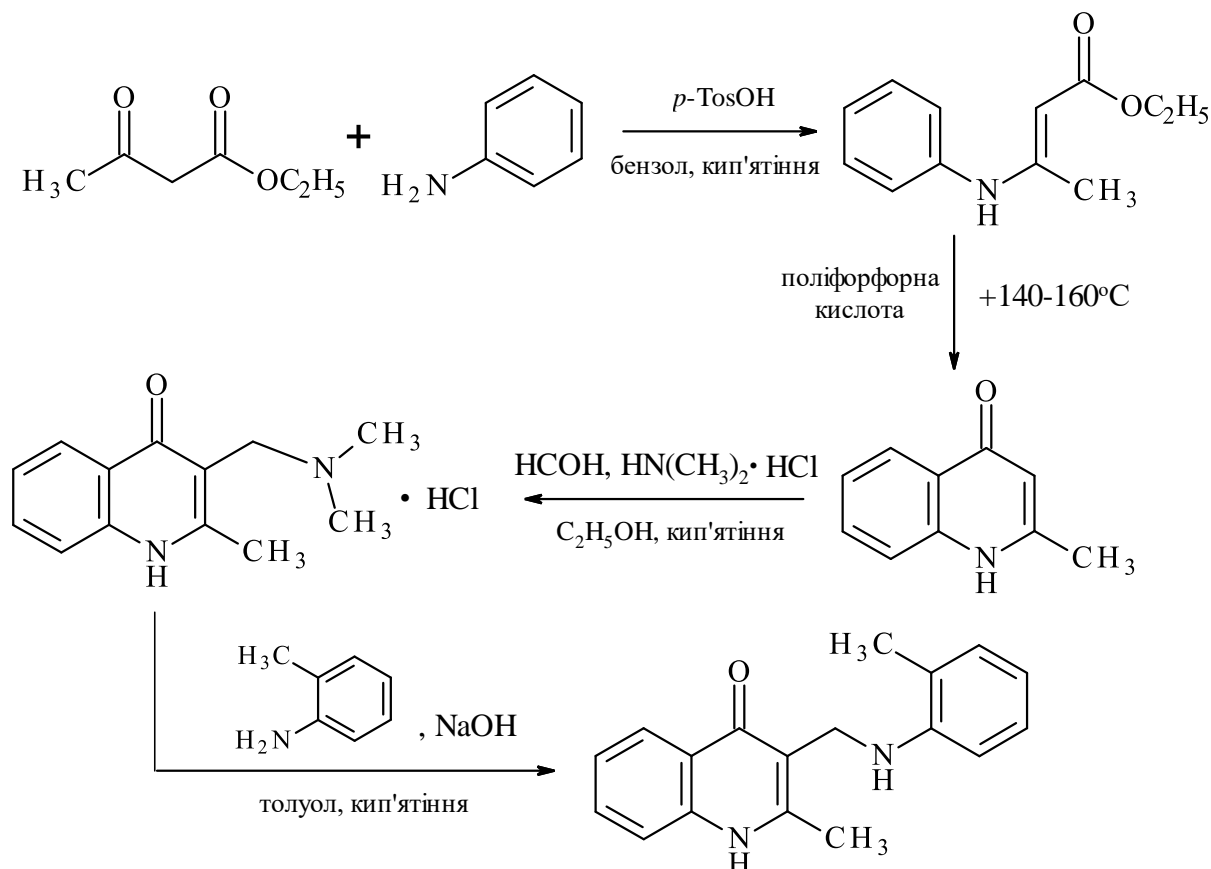
2.1 Синтез 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону

Як вихідну сполуку для синтезу 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-он використано 2-метилхінолін-4-он, який амінометилували в умовах реакції Манніха [49]. Одержана основа Манніха (3-диметиламінометил-2-метилхінолін-4-ону гідрохлорид) при переамінуванні *o*-толуїдином (2-метиланіліном) утворює 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-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 [49]. 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 [49].

Структура та індивідуальність 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону підтверджені методами спектроскопії ЯМР ^1H та тонкошарової хроматографії.

2.2 Фармакологічні властивості 2-метил-3-[(2-метиланіліно)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 [50].

Результатами дослідження VAZ16_p07 у тесті відкритого поля була виявлена психотропна неіндиферентність досліджуваної сполуки. Але результати тварин, що одержували досліджувану речовину достовірно не відрізнялись від таких у групи контролю внаслідок великої дисперсії результатів.

За результатами тесту умовної реакції пасивного уникнення на тлі скополамін-індукованої амнезії VAZ16_p07 тільки в дозі 10 мг/кг достовірно виявив антиамнестичний ефект, а антиамнестична активність склала 106,4 % ($p<0,05$). В дозі 100 мг/кг досліджувана речовина також чинила захисну дію на тлі застосування М-холіноблокатора на рівні 98,3 % (рис. 2.2).

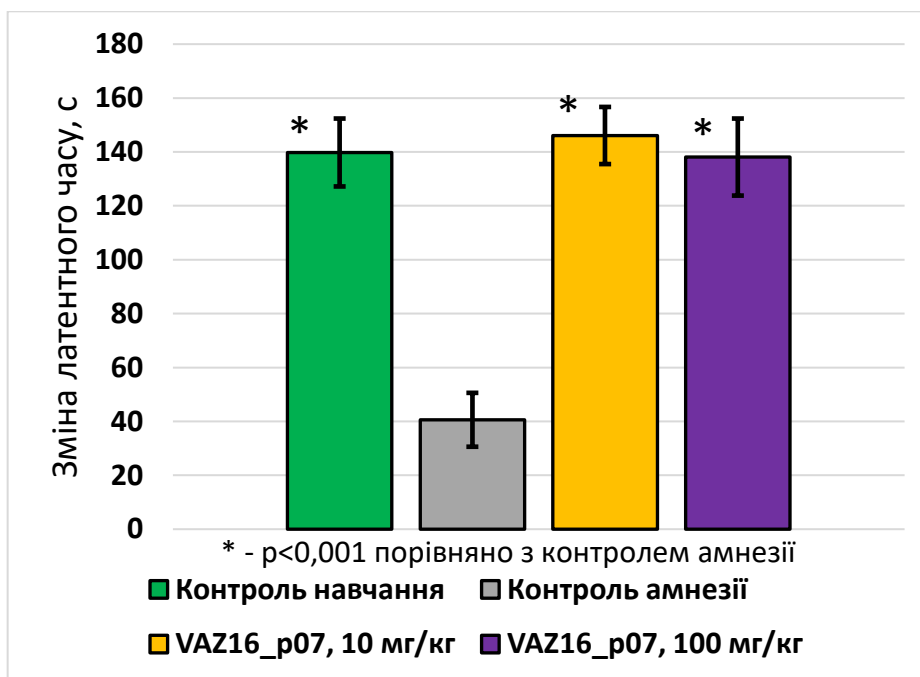


Рис. 2.2 Результати дослідження VAZ16_p07 у тесті умовної реакції пасивного уникнення на тлі скополамін-індукованої амнезії

Анксиолітичні властивості VAZ16_p07 були досліджені у тесті піднесеного хрестоподібного лабіринту. Проте достовірних відмінностей у поведінці тварин за показниками, що є маркерами тривожності, виявлено не було.

Найбільшу увагу привертають результати дослідження сполуки VAZ16_p07 на моделі гострої нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією (рис. 2.3).

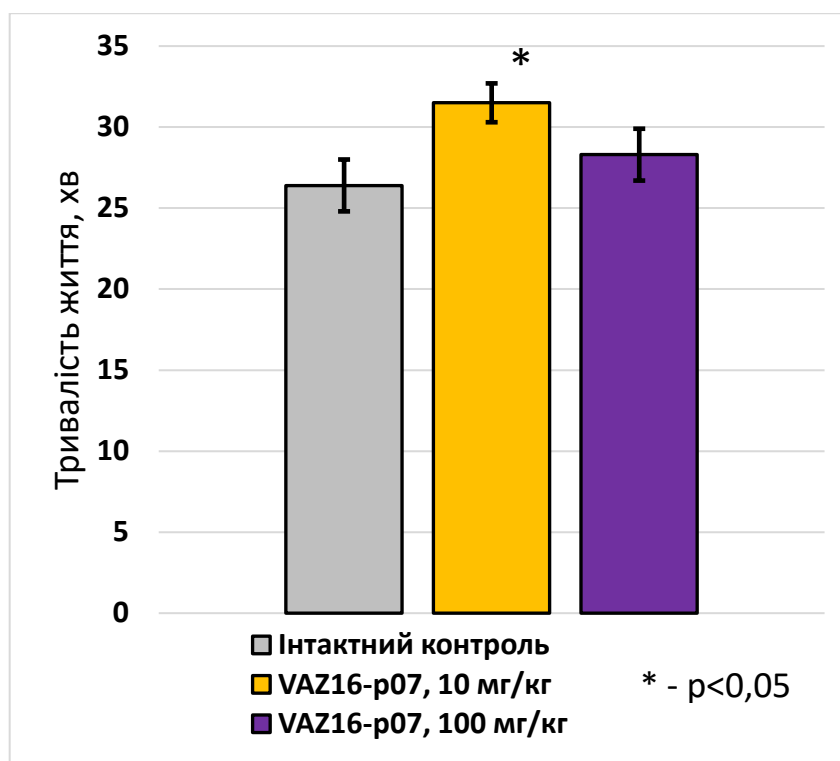


Рис. 2.3 Результати дослідження антигіпоксичної активності VAZ16_p07 на моделі гострої нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією

Загальна тривалість життя в умовах гострої гіпоксії тварин, що одержували дозу VAZ16_p07 у дозі 100 мг/кг, достовірно не відрізнялась від такої у тварин інтактного контролю. В той же час, на тлі дози речовини 10 мг/кг тривалість життя тварин достовірно подовжувалась на 19,4 % ($p < 0,05$), що свідчить на користь потужних антигіпоксичних властивостей досліджуваної сполуки.

Таким чином, результати проведеного комплексного скринінгового дослідження [50] окреслили перспективність поглибленого дослідження VAZ16_p07 у дозі 10 мг/кг як перспективного АФІ з антигіпоксичними та ноотропними властивостями.

2.3 Застосовані онлайн системи комп'ютерного прогнозування метаболізму

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

XenoSite – модель прогнозування CYP SOM, заснована на нейронних мережах, яка покращує RSP різними способами [51]. 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 [51].

Xenosite використовує попередньо зібраний набір з 680 субстратів CYP, розподілених між дев'ятьма ферментами CYP: 1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 та 3A4. Крім того, аналізується набір мікросом печінки людини (HLM), при цьому враховуються всі 680 субстратів та всі спостережувані метаболіти, незалежно від метаболізуючої ізоформи. Цей набір HLM не представляє всіх метаболічних функцій мікросом печінки, але віддзеркалює сукупність відомого метаболізму CYP [51].

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 [51].

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)

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 [52]. Ідея SMARTCyp полягає в тому, що енергії активації CYP, що реагують з фрагментами лігандів, розраховані квантово-хімічними методами, є найкращим можливим посиленням 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 СҮР. 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 [52].

Розробка правил SMARTS базується на наборі даних, що складається із 475 субстратів цитохрому P450 з літератури. Процедури визначення енергій активації у межах теорії функціональної щільності (DFT), різниці енергій між перехідним станом та комплексом реагенту вже описані. Тоді як оригінальна програма SMARTCyp базується на Java із використанням бібліотеки Chemistry Development Kit (CDK), SMARTCyp 3.0 базується на Python за допомогою бібліотеки RDKit. CDK та RDKit сприймають ароматичність у структурі молекули по-різному, і, відповідно, є різниця в тому, в яких саме атомах збігаються моделі SMARTS, наприклад внаслідок різного набору атомів. Для забезпечення зворотної сумісності відмінності в правилах SMARTS, виявлені CDK та RDKit для всіх сайтів для тестового набору з 475 субстратів 3A4, 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 [52].

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 [52].

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 SOMP/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-деалкілювання. Це припущення базується на механізмі абстракції атома гідрогену, але не враховує інших можливих одноелектронних механізмів переносу реакції N-деалкілювання [53]. Ми розглядаємо нітроген як «реагуючий атом» у разі реакції N-деалкілювання. 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 змодельовати або імітувати гіпотетичний процес утворення проміжних сполук, що реалізується P450. Використовується лише відома інформація про структури субстрату та метаболіту реакцій для створення тренувальних наборів для прогнозування реагуючих атомів дев'яти класів реакцій. У підході Way2Drug SOMP та RA розглядаються класи реакцій аліфатичного та ароматичного гідроксилювання, N-, S- та C-окислення, N- та O-деалкілювання, які, згідно з базою даних Biovia Metabolite, охоплюють приблизно 70% усіх реакцій, каталізованих п'ятьма основними ізоферментами P450 (CYP1A2, CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19). Крім того, розглядаються реакції N- та O-глюкуронування, які охоплюють майже всі реакції, що каталізуються сімейством УДФ-глюкуронілтрансфераз.

Використання терміну «реагуючий атом» і розгляд його як ділянки молекули субстрату, до якого додається (або з якого він видаляється) конкретний структурний фрагмент, дозволяє ідентифікувати структури метаболітів за прогнозом реагуючого атома. Структурні фрагменти, що додаються до реакційноздатних атомів, включають гідроксильну (реакції гідроксилювання), карбонільну або карбоксильну (реакції окислення C), гідроксильну або оксогрупу (N- та S-реакції окислення) та глюкуронільні

(реакції глюкуронування) групи. У разі реакцій деалкілювання алкільна група розглядається як фрагмент, який видаляється від реагуючого атома, представленого киснем або нітрогеном [53].

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 C розглядається утворення карбонільних або карбоксильних груп. N- та O-глюкуронування каталізується УДФ-глюкуроносилтрансферазами.

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

BioTransformer – програмний засіб з відкритим доступом та веб-сервіс із вільним доступом для точного та всебічного прогнозування метаболізму *in silico* та ідентифікації метаболітів [54].

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 BMPT 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 BMPT для ідентифікації конкретних метаболітів за допомогою даних мас-спектрометрії (MS), а саме точної інформації про масу або хімічну формулу [54].

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 [54]. 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, заcodedані 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 BMPT 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 [54]. 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 [55]. 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 “Yci”) 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 написане 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 [55].

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-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону (лабораторний шифр VAZ16_p07).
2. Обґрунтовано перспективність поглибленого фармакологічного вивчення 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону як потенційного антигіпоксанта з ноотропними властивостями.
3. Обґрунтовано вибір та проведено аналіз розрахункових алгоритмів застосованих в роботі онлайн систем комп'ютерного прогнозування можливих шляхів метаболізму в організмі людини.

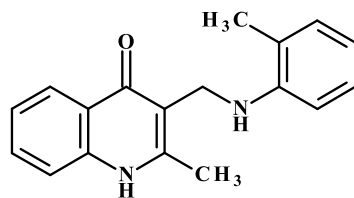
РОЗДІЛ 3. ПРОГНОЗУВАННЯ ЙМОВІРНИХ ШЛЯХІВ МЕТАБОЛІЗМУ 2-МЕТИЛ-3-[(2-МЕТИЛАНІЛІНО)МЕТИЛ]-1Н- ХІНОЛІН-4-ОНУ

З метою прогнозування можливих шляхів біотрансформації перспективної сполуки – 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону (лабораторний шифр VAZ16_p07), застосовано п'ять різних онлайн ресурсів, що знаходяться у вільному доступі, а саме:

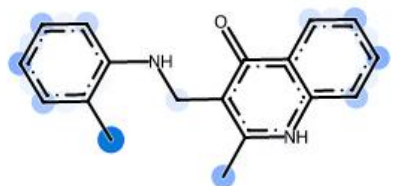
- 1) Xenosite (<https://xenosite.org/>);
- 2) SMARTCyp (https://smartcyp.sund.ku.dk/mol_to_som);
- 3) Way2Drug RA (<http://www.way2drug.com/RA>);
- 4) Biotransformer 3.0 (<http://biotransformer.ca>);
- 5) GLORYx (<https://nerdd.zbh.uni-hamburg.de>).

За результатами прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p07 за допомогою онлайн сервісу Xenosite найбільш імовірним напрямком є стабільне окиснення, тобто ароматичне гідроксилювання за участю атомів карбону як гетероциклічної системи, так і фенільного замісника, або аліфатичне гідроксилювання метильних груп (рис. 3.1). Також можливим є окисне дезамінування амінометильного фрагменту в положенні 3 хінолонового кільця за класичним механізмом – утворення відповідного альдегіду та аміну.

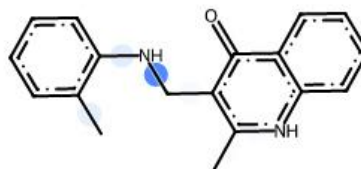
За результатами прогнозу метильна група в положенні 2 хінолонового циклу є найбільш реакційноздатною. За такого розвитку подій в результаті подальшого окиснення гідроксиметильної групи до карбоксильної, прогнозується утворення генерації метаболітів з новими фармакологічними властивостями – похідних кінуренової кислоти. Кінуренова кислота (4-гідроксихінолін-2-карбонова кислота) є метаболітом триптофану та утворюється з кінуреніну під дією кінуренін-амінотрансфери [56].



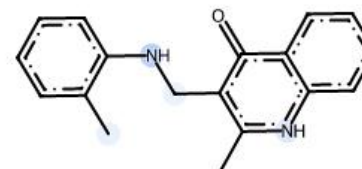
CC1=C(CNc2ccccc2C)C(=O)c3ccccc3N1



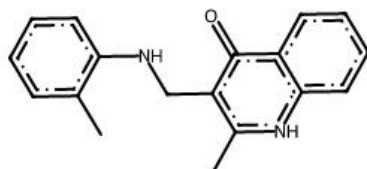
stable oxygenation



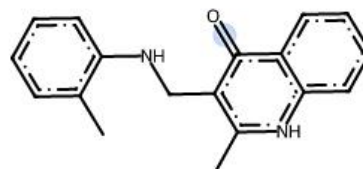
unstable oxygenation



dehydrogenation



hydrolysis



reduction

Рис. 3.1 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p07 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 [56], 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 VAZ16_p07, 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 VAZ16_p07 має низькі показники ймовірності утворення хінонів або епоксидів (рис. 3.2).

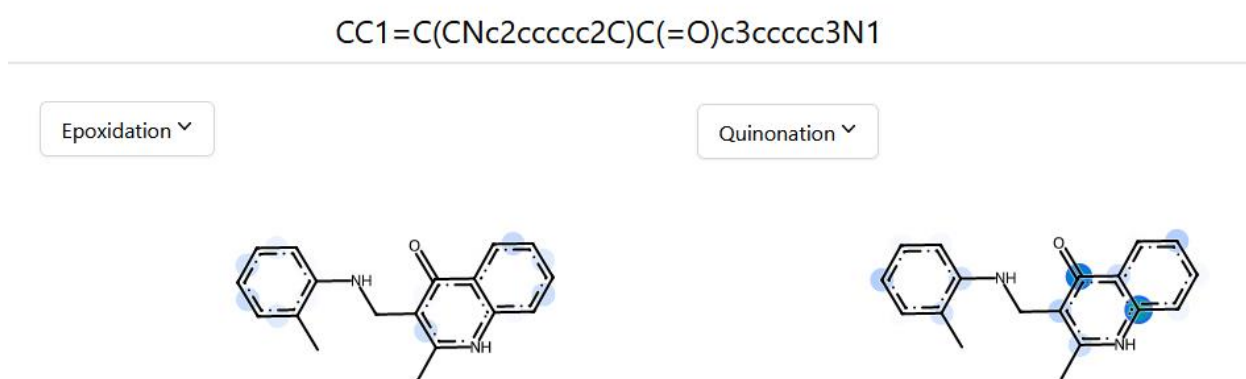
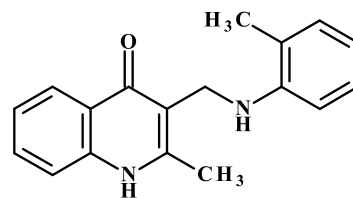
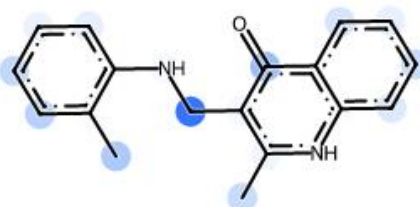


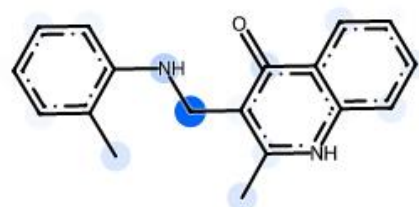
Рис. 3.2 Результати прогнозування можливості утворення високореактивних хінонів та епоксидів як метаболітів VAZ16_p07 (онлайн сервіс Xenosite)



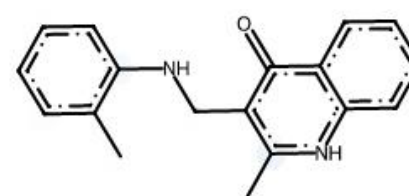
CC1=C(CNc2ccccc2C)C(=O)c3ccccc3N1



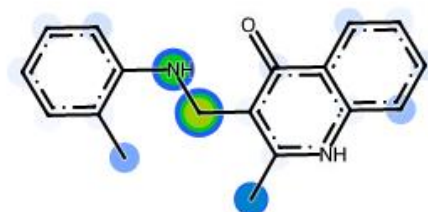
gsh



protein



cyanide



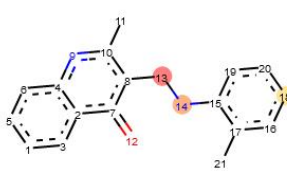
dna

Рис. 3.3 Результати прогнозування реактивності VAZ16_p07 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 VAZ16_p07 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 окиснювальне дезамінування, ароматичного гідроксилювання по різних положеннях та аліфатичного гідроксилювання метильних груп (рис. 3.4, 3.5 та 3.6).

За участі ізоформи CYP3A4 найбільш імовірними напрямками біотрансформації VAZ16_p07 є окиснювальне дезамінування амінометильного фрагменту в положенні 3 хінолонового кільця, ароматичне гідроксилювання різних положень гетероциклу та фенільного замісника, а також аліфатичне гідроксилювання метильних груп (рис. 3.4).



	3A4 Ranking	Atom	3A4 Score	Energy	2DSASA	Span2end	Relative Span	Similarity
1	1	C.13	35.9	41.1	20.0	5	0.5	0.4
2	2	N.14	48.6	54.1	10.3	4	0.6	0.3
3	3	C.18	50.1	59.5	34.3	0	1.0	1.0
4	4	C.19	51.8	59.5	28.0	2	0.8	0.7
5	5	C.21	56.7	66.4	59.4	1	0.9	0.7
6	6	C.11	58.4	66.4	54.4	3	0.7	0.7
7	7	C.1	59.6	68.2	32.7	1	0.9	1.0
8	8	N.9	69.2	75.6	13.5	3	0.7	0.3
9	9	C.5	71.5	80.8	33.5	0	1.0	1.0
10	10	C.3	73.2	80.8	26.9	2	0.8	1.0
11	11	C.20	77.7	86.3	33.5	1	0.9	1.0
12	12	C.16	77.8	86.3	30.2	1	0.9	0.7
13	13	C.6	77.9	86.3	28.5	1	0.9	1.0

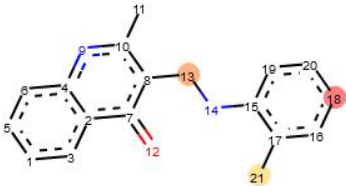
Рис. 3.4 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p07 за участі CYP3A4 (програмний комплекс SMARTCyp)

3A4

2D6

2C9

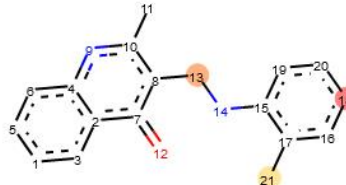
1



2C9 Ranking	Atom	2C9 Score	Energy	2DSASA	Span2end	COO-Dist	Similarity
1	C.18	58.1	59.5	34.3	0	0	1.0
2	C.13	64.0	41.1	20.0	5	0	0.4
3	C.21	69.9	66.4	59.4	1	0	0.7
4	C.19	70.2	59.5	28.0	2	0	0.7
5	C.1	72.8	68.2	32.7	1	0	1.0
6	N.14	77.3	54.1	10.3	4	0	0.3
7	C.5	79.5	80.8	33.5	0	0	1.0
8	C.11	81.9	66.4	54.4	3	0	0.7
9	C.20	90.9	86.3	33.5	1	0	1.0
10	C.16	91.0	86.3	30.2	1	0	0.7
11	C.6	91.1	86.3	28.5	1	0	1.0
12	C.3	91.5	80.8	26.9	2	0	1.0
13	N.9	92.8	75.6	13.5	3	0	0.3

Рис. 3.5 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p07 за участі CYP2C9 (програмний комплекс SMARTCyp)

1



2D6 Ranking	Atom	2D6 Score	Energy	2DSASA	Span2end	N+dist	Similarity
1	C.18	58.1	59.5	34.3	0	0	1.0
2	C.13	67.2	41.1	20.0	5	0	0.4
3	C.21	70.7	66.4	59.4	1	0	0.7
4	C.19	71.8	59.5	28.0	2	0	0.7
5	C.1	73.6	68.2	32.7	1	0	1.0
6	C.5	79.5	80.8	33.5	0	0	1.0
7	N.14	80.5	54.1	10.3	4	0	0.3
8	C.11	84.3	66.4	54.4	3	0	0.7
9	C.20	91.7	86.3	33.5	1	0	1.0
10	C.16	91.8	86.3	30.2	1	0	0.7
11	C.6	91.9	86.3	28.5	1	0	1.0
12	C.3	93.1	80.8	26.9	2	0	1.0
13	N.9	95.2	75.6	13.5	3	0	0.3

Рис. 3.6 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p07 за участі CYP2D6 (програмний комплекс SMARTCyp)

Якщо окиснювальне дезамінування прогностично призводить повної втрати початкової архітектури молекули, аліфатичне гідроксильовання метильної групи фенільного замісника суттєво не впливає на профіль активності і може розглядатись як проміжний етап подальшого окиснення та кон'югації, ароматичне гідроксильовання з точки зору фармакологічної активності метаболітів також навряд чи є цікавим, то гідроксильовання метильної групи в положенні 2 гетероциклу знову відкриває перспективу подальшого окиснення до біологічно активних похідних кінуренової кислоти.

Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p07 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 VAZ16_p07 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 VAZ16_p07 за допомогою онлайн системи Biotransformer. Загалом системою розрахована можливість утворення 11 різноманітних метаболітів, переважна більшість з яких є продуктами ароматичного гідроксильовання 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 N-деалкілювання амінометильного фрагменту. Серед прогнозованих метаболітів є також 2-гідроксиметильне похідне, що є продуктом аліфатичного гідроксильовання реакційноздатної метильної групи в положенні 2 хінолонового кільця. 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.

<div> <div>BioTransformer 3.0</div> <div>Metabolism Prediction</div> <div>About</div> <div>Download</div> <div>Contact</div> <div>Help</div> </div>							
Result ID	Predicted Result	SMILES	Chemical Formula	Major Isotope Mass (Da)	Reaction Type	Reaction Info	Biotransformation Reaction
1		<chem>C1(=CC=2C(=O)C(CNC=3C=CC=CC3C)=C(C)NC2C=C1)O</chem>	C ₁₈ H ₁₈ N ₂ O ₂	294.1368	Aromatic hydroxylation of fused benzene ring AndFromCyProduct	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	
2		<chem>C1=CC=2C(=O)C(CNC=3C=CC=CC3C)=C(C)NC2C=C1O</chem>	C ₁₈ H ₁₈ N ₂ O ₂	294.1368	Aromatic hydroxylation of fused benzene ring AndFromCyProduct	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	
3		<chem>C1=CC=2C(=O)C(CNC=3C=CC=CC3C)O=C(C)NC2C=C1</chem>	C ₁₈ H ₁₈ N ₂ O ₂	294.1368	Aliphatic hydroxylation of methyl carbon adjacent to aromatic ring AndFromCyProduct	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	
4		<chem>C1=CC=2C(=O)C(CNC=3C=CC=C(C3C)O)=C(C)NC2C=C1</chem>	C ₁₈ H ₁₈ N ₂ O ₂	294.1368	Hydroxylation of benzene on carbon ortho to electron donating group	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	
5		<chem>C1=CC=2C(=O)C(CNC=3C=C(C=CC3C)O)=C(C)NC2C=C1</chem>	C ₁₈ H ₁₈ N ₂ O ₂	294.1368	Hydroxylation of benzene on carbon para to electron donating group AndFromCyProduct	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	
6		<chem>C1=CC=2C(=O)C(CNC=3C=CC=CC3C)=C(C)NC2C(=C1)O</chem>	C ₁₈ H ₁₈ N ₂ O ₂	294.1368	Aromatic hydroxylation of fused benzene ring	Enzyme: Cytochrome P450 1A2 BioSystem: HUMAN	

Рис. 3.7 Фрагмент протоколу прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p07 за допомогою онлайн системи Biotransformer

Аналіз прогнозованих метаболітів VAZ16_p07 за допомогою онлайн системи GLORYx підтверджує, що можливими шляхами метаболічних перетворень досліджуваної молекули є ароматичне гідроксилювання, гідроксилювання або окиснення метильних груп, окиснювальне дезамінування амінометильного фрагменту в положенні 3, N-глюкуронування та N-гідроксилювання аміногрупи (рис. 3.8).

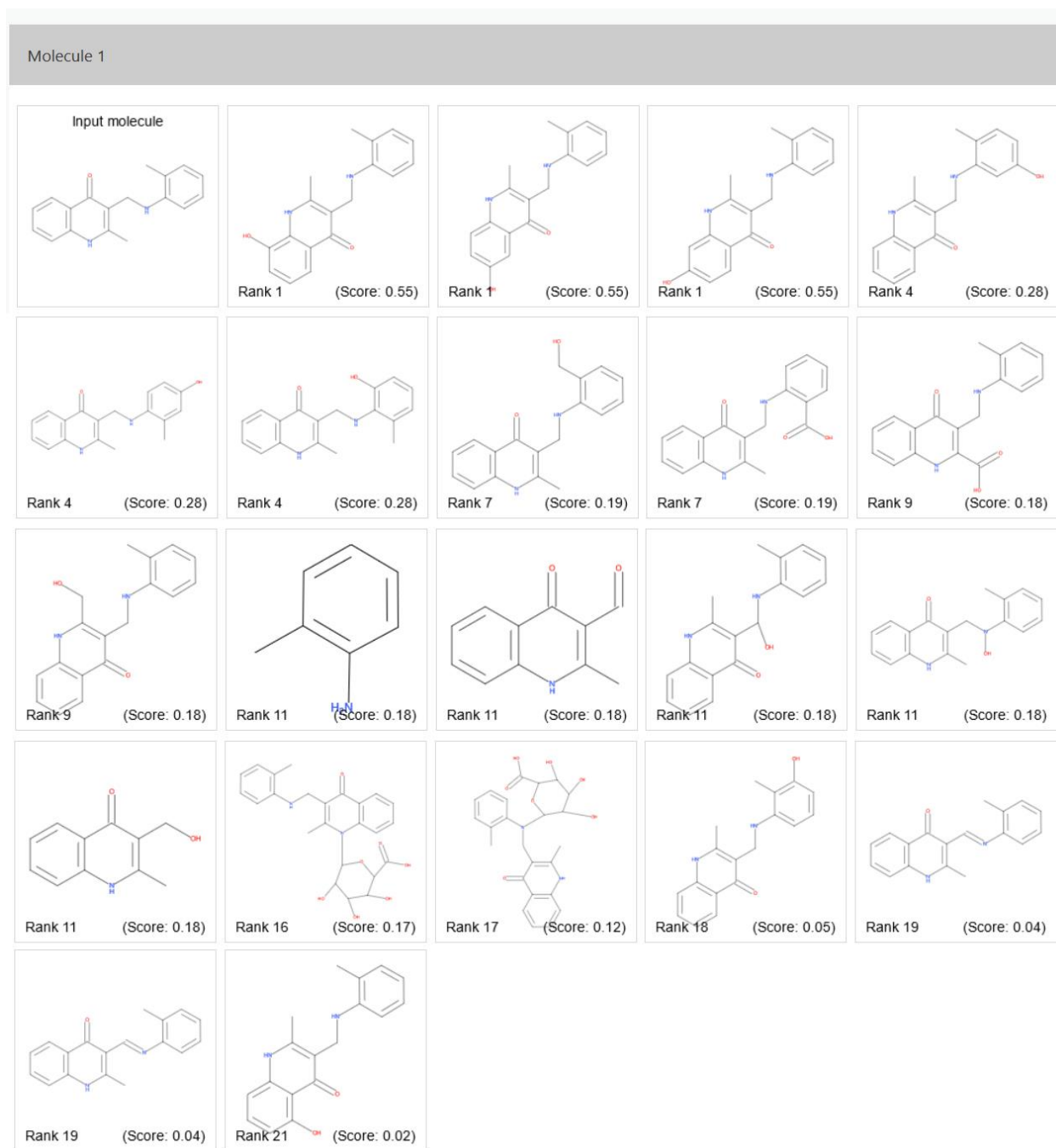


Рис. 3.8 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p07 за допомогою онлайн системи GLORYx

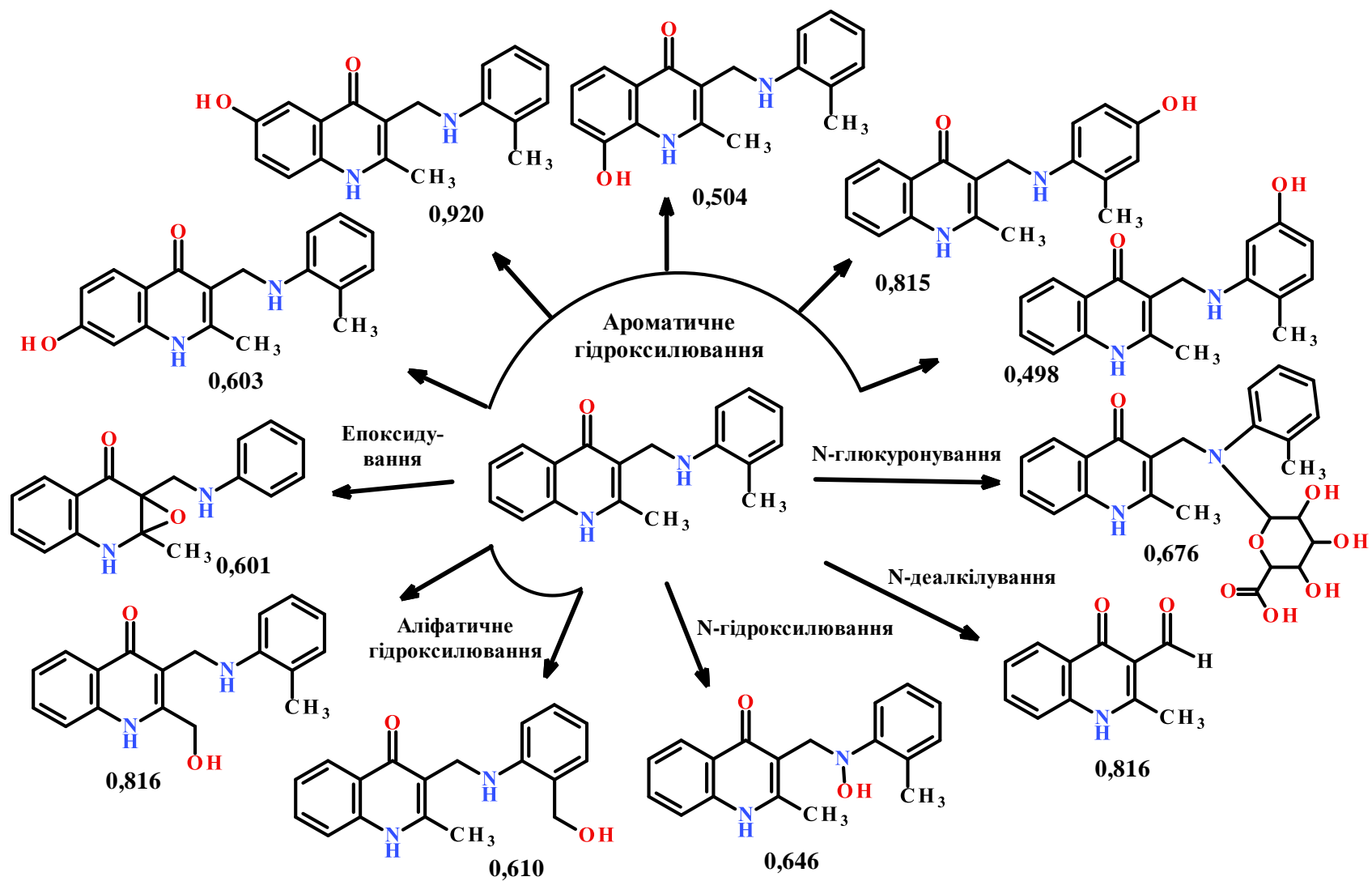


Рис. 3.9 Результати прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p07 за допомогою системи Way2Drug RA (наведено тільки напрямки, що мають найвищі показники DeltaP)

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, *пара*- та *мета*-положень фенільного замісника, а також аліфатичне гідроксилювання метильних груп. Особливо реакційноздатним в аспекті ароматичного гідроксилювання є положення 6 системи хінолін-4-ону (рис. 3.9). Аліфатичне гідроксилювання більш імовірно може відбуватись по метильній групі в положенні 2 хінолонового циклу. Слід зауважити, що за прогнозом програми Way2Drug RA високу ймовірність мають також напрямки N-деалкілювання та N-гідроксилювання за участю аміногрупи. 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.

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

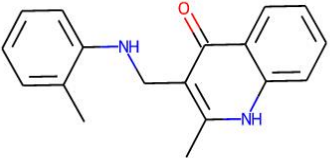
2D structure	CYP1A2	CYP2A6	CYP2B6	CYP2C8	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP2E1	CYP3A4
	Substrate	Non-substrate	No prediction	Non-substrate	No prediction	No prediction	No prediction	Non-substrate	No prediction

Рис. 3.10 Субстратна специфічність VAZ16_p07 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, VAZ16_p07 з високою ймовірністю метаболізується за участю цитохрому CYP1A2.

Отже, комплексний аналіз результатів прогнозування можливих шляхів метаболізму VAZ16_p07 за допомогою п'ятих різних онлайн систем дозволяє зробити висновок, що молекула 2-метил-3-[(2-метиланіліно)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 як гетероциклічної системи хінолону, так і фенільного замісника, аліфатичне гідроксилювання метильних груп, 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 VAZ16_p07, а саме антигіпоксичний та ноотропний, можуть, принаймні частково, забезпечуватись саме цими фармакологічно активними метаболітами.

Загальні закономірності біотрансформаційних перетворень 2-метил-3-[(2-метиланіліно)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-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону (лабораторний шифр VAZ16_p07) із застосуванням п'яти різних онлайн ресурсів, що знаходяться у вільному доступі.

2. Одержані результати свідчать, що молекула 2-метил-3-[(2-метиланіліно)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 за участю атомів карбону як гетероциклічної системи хінолону, так і фенільного замісника, аліфатичне гідроксилювання метильних груп, N-деалкілювання 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 VAZ16_p07 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 цитохрому CYP1A2.

6. За результатами програми Xenosite 2-метил-3-[(2-метиланіліно)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-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону (лабораторний шифр VAZ16_p07). Обґрунтовано перспективність поглибленого фармакологічного вивчення VAZ16_p07 як потенційного АФІ з антигіпоксичними 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 антигіпоксичної та ноотропної дії – 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону (лабораторний шифр VAZ16_p07) 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-деалкілювання 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 VAZ16_p07 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-[(2-метиланіліно)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. Tang Y., Zhu W., Chen K., Jiang H. New technologies in computer-aided drug design: toward target identification and new chemical entity discovery. *Drug Discov. Today Technol.* 2006. Vol. 3. P. 307–313. doi: 10.1016/j.ddtec.2006.09.004
2. Selick H. E., Beresford A. P., Tarbit M. H. The emerging importance of predictive ADME simulation in drug discovery. *Drug Discov. Today.* 2002. Vol. 7. P. 109–116. doi: 10.1016/S1359-6446(01)02100-6
3. Caldwell G. W., Yan Z., Tang W., Dasgupta M., Hasting B. ADME optimization and toxicity assessment in early- and late-phase drug discovery. *Curr. Top. Med. Chem.* 2009. Vol. 9. P. 965–980. doi: 10.2174/156802609789630929
4. Cook D., Brown D., Alexander R., March R., Morgan P., Satterthwaite G. Lessons learned from the fate of AstraZeneca's drug pipeline: a five-dimensional framework. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2014. Vol. 13. P. 419–431. doi: 10.1038/nrd4309
5. Yu H., Adedoyin A. ADME-Tox in drug discovery: integration of experimental and computational technologies. *Drug Discov. Today.* 2003. Vol. 8. P. 852–861. doi: 10.1016/S1359-6446(03)02828-9
6. Yang H., Sun L., Li W., Liu G., Tang Y. *In silico* prediction of chemical toxicity for drug design using machine learning methods and structural alerts. *Front. Chem.* 2018. Vol. 6. Art. № 30. doi: 10.3389/fchem.2018.00129
7. Ferreira L. L. G., Andricopulo A. D. ADMET modeling approaches in drug discovery. *Drug Discov. Today.* 2019. Vol. 24. P. 1157–1165. doi: 10.1016/j.drudis.2019.03.015
8. Patel C. N., Kumar S. P., Rawal R. M., Patel D. P., Gonzalez F. J., Pandya H. A. A multiparametric organ toxicity predictor for drug discovery. *Toxicol. Mech. Methods.* 2020. Vol. 30. P. 159–166. doi: 10.1080/15376516.2019.1681044
9. Alqahtani S. *In silico* ADME-Tox modeling: progress and prospects. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2017. Vol. 13. P. 1147–1158. doi: 10.1080/17425255.2017.1389897

10. Silva-Junior E. F., Aquino T. M., Araujo-Junior J. X. Quantum mechanical (QM) calculations applied to ADMET drug prediction: a review. *Curr. Drug Metab.* 2017. Vol. 18. P. 511–526. doi: 10.2174/1389200218666170316094514
11. Cumming J. G., Davis A. M., Muresan S., Haeberlein M., Chen H. Chemical predictive modelling to improve compound quality. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2013. Vol. 12. P. 948–962. doi: 10.1038/nrd4128
12. Fan J., de Lannoy I. A. Pharmacokinetics. *Biochem. Pharmacol.* 2014. Vol. 87. P. 93–120. doi: 10.1016/j.bcp.2013.09.007
13. Wu F., Zhou Y., Li L., Shen X., Chen G., Wang X., Liang X., Tan M., Huang Z. Computational Approaches in Preclinical Studies on Drug Discovery and Development. *Frontiers in Chemistry.* 2020. Vol. 8. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00726>
14. Williams A. J., Grulke C. M., Edwards J., McEachran A. D., Mansouri K., Baker N. C. The comptox chemistry dashboard: a community data resource for environmental chemistry. *J. Cheminform.* 2017. Vol. 9. Art. № 61. doi: 10.1186/s13321-017-0247-6
15. Davis A. P., Grondin C. J., Johnson R. J., Sciaky D., McMorran R., Wieggers J. The comparative toxicogenomics database: update 2019. *Nucleic Acids Res.* 2019. Vol. 47. D948–D954. doi: 10.1093/nar/gky868
16. Watford S., Ly Ly P., Wignall J., Shin R., Martin M. T., Friedman K. P. ToxRefDB version 2.0: improved utility for predictive and retrospective toxicology analyses. *Reprod. Toxicol.* 2019. Vol. 89. P. 145–158. doi: 10.1016/j.reprotox.2019.07.012
17. Lea I. A., Gong H., Paleja A., Rashid A., Fostel J. CEBS: a comprehensive annotated database of toxicological data. *Nucleic Acids Res.* 2017. Vol. 45. D964–D971. doi: 10.1093/nar/gkw1077
18. Wishart D. S., Feunang Y. D., Guo A. C., Lo E. J., Marcu A., Grant J. DrugBank 5.0: a major update to the drugbank database for 2018. *Nucleic Acids Res.* 2018. Vol. 46. D1074–D1082. doi: 10.1093/nar/gkx1037

19. Kim S., Chen J., Cheng T., Gindulyte A., He J., He S. PubChem 2019 update: improved access to chemical data. *Nucleic Acids Res.* 2019. Vol. 47. D1102–D1109. doi: 10.1093/nar/gky1033
20. Gaulton A., Hersey A., Nowotka M., Bento A. P., Chambers J., Mendez D. The ChEMBL database in 2017. *Nucleic Acids Res.* 2017. Vol. 45. D945–D954. doi: 10.1093/nar/gkw1074
21. Dong J., Wang N. N., Yao Z. J., Zhang L., Cheng Y., Ouyang D. ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *J. Cheminform.* 2018. Vol. 10. Art. № 29. doi: 10.1186/s13321-018-0283-x
22. Wang Y., Xing J., Xu Y., Zhou N., Peng J., Xiong Z. *In silico* ADME/T modelling for rational drug design. *Q. Rev. Biophys.* 2015. Vol. 48. P. 488–515. doi: 10.1017/S0033583515000190
23. Daina A., Michielin O., Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7. Art. № 42717. doi: 10.1038/srep42717
24. Merlot C. Computational toxicology – a tool for early safety evaluation. *Drug Discov. Today.* 2010. Vol. 15. P. 16–22. doi: 10.1016/j.drudis.2009.09.010
25. Bhattacharai B., Wilson D. M., Parks A. K., Carney E. W., Spencer P. J. Evaluation of TOPKAT, toxtree, and derek nexus *in silico* models for ocular irritation and development of a knowledge-based framework to improve the prediction of severe irritation. *Chem. Res. Toxicol.* 2016. Vol. 29. P. 810–822. doi: 10.1021/acs.chemrestox.5b00531
26. Hardy B., Douglas N., Helma C., Rautenberg M., Jeliaskova N., Jeliaskov V. Collaborative development of predictive toxicology applications. *J. Cheminform.* 2010. Vol. 2. Art. № 7. doi: 10.1186/1758-2946-2-7
27. Maunz A., Gutlein M., Rautenberg M., Vorgrimmler D., Gebele D., Helma C. Lazar: a modular predictive toxicology framework. *Front. Pharmacol.* 2013. Vol. 4. Art. № 38. doi: 10.3389/fphar.2013.00038

28. Bhatia S., Schultz T., Roberts D., Shen J., Kromidas L., Marie Api A. Comparison of cramer classification between toxtree, the OECD QSAR toolbox and expert judgment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2015. Vol. 71. P. 52–62. doi: 10.1016/j.yrtph.2014.11.005
29. Cheng F., Li W., Zhou Y., Shen J., Wu Z., Liu G. AdmetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of chemical ADMET properties. *J. Chem. Inf. Model.* 2012. Vol. 52. P. 3099–3105. doi: 10.1021/ci300367a
30. Yang H., Lou C., Sun L., Li J., Cai Y., Wang Z. AdmetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. *Bioinformatics.* 2018. Vol. 35. P. 1067–1069. doi: 10.1093/bioinformatics/bty707
31. Yang H., Sun L., Wang Z., Li W., Liu G., Tang Y. ADMETopt: a web server for ADMET optimization in drug design via scaffold hopping. *J. Chem. Inf. Model.* 2018. Vol. 58. P. 2051–2056. doi: 10.1021/acs.jcim.8b00532
32. Bouzom F., Ball K., Perdaems N., Walther B. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modelling tools: how to fit with our needs? *Biopharm. Drug Dispos.* 2012. Vol. 33. P. 55–71. doi: 10.1002/bdd.1767
33. Tian S., Li Y., Wang J., Zhang J., Hou T. ADME evaluation in drug discovery. 9. Prediction of oral bioavailability in humans based on molecular properties and structural fingerprints. *Mol. Pharm.* 2011. Vol. 8. P. 841–851. doi: 10.1021/mp100444g
34. Jamei M., Marciniak S., Feng K., Barnett A., Tucker G., Rostami-Hodjegan A. The simcyp population-based ADME simulator. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2009. Vol. 5. P. 211–223. doi: 10.1517/17425250802691074
35. Li M., Zou P., Tyner K., Lee S. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling of pharmaceutical nanoparticles. *AAPS J.* 2017. Vol. 19. P. 26–42. doi: 10.1208/s12248-016-0010-3
36. Byun J. H., Han D. G., Cho H. J., Yoon I. S., Jung I. H. Recent advances in physiologically based pharmacokinetic and pharmacodynamic models for anticancer nanomedicines. *Arch. Pharm. Res.* 2020. Vol. 43. P. 80–99. doi: 10.1007/s12272-020-01209-2

37. Niu L., Ding L., Lu C., Zuo F., Yao K., Xu S. Flavokawain A inhibits Cytochrome P450 in *in vitro* metabolic and inhibitory investigations. *J. Ethnopharmacol.* 2016. Vol. 191. P. 350–359. doi: 10.1016/j.jep.2016.06.039
38. Gong E. C., Chea S., Balupuri A., Kang N. S., Chin Y. W., Choi Y. H. Enzyme kinetics and molecular docking studies on cytochrome 2B6, 2C19, 2E1, and 3A4 activities by sauchinone. *Molecules.* 2018. Vol. 23. Art. № 555. doi: 10.3390/molecules23030555
39. Khan M. S., Majid A. M., Iqbal M. A., Majid A. S., Al-Mansoub M., Haque R. S. Designing the angiogenic inhibitor for brain tumor via disruption of VEGF and IL17A expression. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2016. Vol. 93. P. 304–318. doi: 10.1016/j.ejps.2016.08.032
40. Ajay Kumar T. V., Athavan A. A. S., Loganathan C., Saravanan K., Kabilan S., Parthasarathy V. Design, 3D QSAR modeling and docking of TGF-beta type I inhibitors to target cancer. *Comput. Biol. Chem.* 2018. Vol. 76. P. 232–244. doi: 10.1016/j.compbiolchem.2018.07.011
41. Gestrich A., Bedenice D., Ceresia M., Zaghloul I. Pharmacokinetics of intravenous gentamicin in healthy young-adult compared to aged alpacas. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 2018. Vol. 41. P. 581–587. doi: 10.1111/jvp.12506
42. Polepally A. R., Brundage R. C., Remmel R. P., Leppik I. E., Pennell P. B., White J. R. Lamotrigine pharmacokinetics following oral and stable-labeled intravenous administration in young and elderly adult epilepsy patients: effect of age. *Epilepsia.* 2018. Vol. 59. P. 1718–1726. doi: 10.1111/epi.14519
43. Ye N., Monk S. A., Daga P., Bender D. M., Rosen L. B., Mullen J. Clinical bioavailability of the novel BACE1 inhibitor lanabecestat (AZD3293): assessment of tablet formulations versus an oral solution and the impact of gastric pH on pharmacokinetics. *Clin. Pharmacol. Drug Dev.* 2018. Vol. 7. P. 233–243. doi: 10.1002/cpdd.422
44. Boland J. W., Johnson M., Ferreira D., Berry D. J. *In silico* (computed) modelling of doses and dosing regimens associated with morphine levels above

international legal driving limits. *Palliat. Med.* 2018. Vol. 32. P. 1222–1232. doi: 10.1177/0269216318773956

45. Petrescu A. M., Paunescu V., Ilia G. The antiviral activity and cytotoxicity of 15 natural phenolic compounds with previously demonstrated antifungal activity. *J. Environ. Sci. Health B.* 2019. Vol. 54. P. 498–504. doi: 10.1080/03601234.2019.1574176

46. Roman M., Roman D. L., Ostafe V., Ciorsac A., Isvoran A. Computational assessment of pharmacokinetics and biological effects of some anabolic and androgen steroids. *Pharm. Res.* 2018. 35:41. doi: 10.1007/s11095-018-2353-1

47. Silva G., Zuravski L., Duarte M., Machado M., Oliveira L. Fluconazole induces genotoxicity in cultured human peripheral blood mononuclear cells via immunomodulation of TNF- α , IL-6, and IL-10: new challenges for safe therapeutic regimens. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* 2019. Vol. 41. P. 123–129. doi: 10.1080/08923973.2019.1566357

48. Zhuang J., Xing X., Wang D., Du Z., Wang J., Dong Y. Toxicity assessment of the extractables from multi-layer coextrusion polyethylene bags exposed to pH=5 solution containing 4% benzyl alcohol and 0.1M sodium acetate. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2018. Vol. 94. P. 47–56. doi: 10.1016/j.yrtph.2018.01.015

49. 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.

50. 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.

51. 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.

52. 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.

53. 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.

54. 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.

55. 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.

56. Lovelace M. D, Varney B., Sundaram G., Lennon M. J., Lim C. K., Jacobs K., Guillemin G. J., Brew B. J. Recent evidence for an expanded role of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism in neurological diseases. *Neuropharmacology*. 2017. Vol. 112, part B. P. 373–388.

ДОДАТКИ

Додаток А

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ
НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

МАТЕРІАЛИ
XXIX МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ МОЛОДИХ ВЧЕНИХ ТА СТУДЕНТІВ

19-21 квітня 2023 року
м. Харків

Харків
НФаУ
2023

Продовження додатку А

XXIX Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених та студентів
«АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»

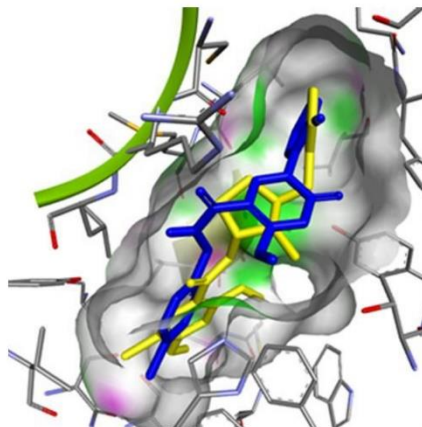


Fig. The co-location of the two ligands

Conclusions. According to the data obtained, a high degree of affinity of the 5-methoxy-2-(2-methylphenyl)pyridazin-3-one derivative for the dopamine D4 receptor agonist site is predicted.

PREDICTION OF METABOLIC DIRECTIONS OF 2-METHYL-3-[(2-METHYLANILINO)METHYL]-1H-QUINOLIN-4-ONE – A POTENTIAL ANTIHYPOXANT WITH NOOTROPIC PROPERTIES

Napkhanenko V.V.

Scientific supervisor: Podolsky I.M.

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

medchem@nuph.edu.ua

Introduction. *In vitro* and *in silico* drug metabolism models are regularly used in drug research and development as tools for assessing pharmacokinetic variability and the risk of drug interactions. The use of *in vitro* and *in silico* predictive approaches has such advantages as rational design of clinical drug interaction studies, minimization of human risk in clinical trials, and cost and time savings due to less exhaustion in the development of compounds. That is why the use of computer prediction of possible metabolic pathways of a potential drug candidate at the early stages is a fully justified and effective approach that allows to identify metabolic sites, predict the structures of the metabolites formed, the intensity of metabolism and the specificity of substrates to cytochrome P450 enzymes.

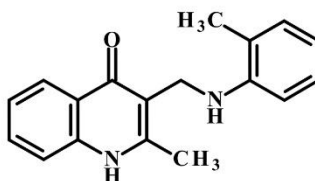
Aim. Prediction of probable metabolic pathways of 2-methyl-3-[(2-methylanilino)methyl]-1H-quinolin-4-one as a promising candidate for APIs with antihypoxic and nootropic properties.

Materials and methods. The object of the study is 2-methyl-3-[(2-methylanilino)methyl]-1H-quinolin-4-one (figure), synthesized by Vadym Zubkov, Associate Professor of the Department of Medicinal Chemistry.

Продовження додатку А

Секція 1

«СИНТЕЗ ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН»



The investigated molecule became a promising object for pharmacological study based on the results of a comprehensive screening study of its psycho- and neurotropic properties carried out by Illya Podolsky, Associate Professor of the Department of Medicinal Chemistry.

In order to predict the possible pathways of biotransformation of 2-methyl-3-[(2-methylanilino)methyl]-1H-quinolin-4-one, five different online resources that are freely available were used, namely: Xenosite, SMARTCyp, Way2Drug RA, Biotransformer 3.0, and GLORYx.

Results and discussion. A comprehensive analysis of the results of predicting the possible metabolic pathways of 2-methyl-3-[(2-methylanilino)methyl]-1H-quinolin-4-one using five different online systems leads to the conclusion that the molecule can be intensively metabolized by cytochrome P450 enzymes. The main directions can be considered aromatic hydroxylation of the test substance molecule with the participation of carbon atoms of both the quinolone heterocyclic system and the phenyl substituent, as well as N-dealkylation of the aminomethyl fragment. In this case, the predicted metabolites are unlikely to significantly affect the overall pharmacological activity profile of the parent molecule. However, the possible directions of aliphatic hydroxylation, especially at the methyl group at position 2 of the heterocycle to kynurenic acid derivatives, suggest that the proven pharmacodynamic effects of the test molecule, namely nootropic and antihypoxic, may be at least partially provided by these pharmacologically active metabolites.

Conclusions. Using five different online resources that are freely available, a computer prediction of possible pathways of biotransformation of a promising compound, 2-methyl-3-[(2-methylanilino)methyl]-1H-quinolin-4-one, was performed. The general regularities of metabolic transformations of the test molecule completely coincide and fit into the current views of medicinal chemistry on the reactivity of xenobiotics under the influence of cytochrome P450 enzymes in the human body.

PREDICTION OF POSSIBLE WAYS OF BIOTRANSFORMATION OF A POTENTIAL ANTIHYPOXANT WITH NOOTROPIC AND ANXIOLYTIC PROPERTIES

Tis Achraf

Scientific supervisor: Podolsky I.M.

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

medchem@nuph.edu.ua

Introduction. In order to reduce the risk of withdrawal of drug candidates at the clinical trial stage due to unfavorable metabolic characteristics of molecules, effective and reliable methods of predicting the metabolism of a biologically active compound *in silico*, *in vitro* and *in vivo* are needed. Experimental studies of possible pathways of biotransformation of new molecules *in vitro* and *in vivo* are always non-trivial and resource-intensive tasks. That is why the use of computer prediction of possible metabolic pathways of a potential drug candidate at the initial stages is a fully justified and

Національний фармацевтичний університет

Факультет фармацевтичний
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 ЗДОБУВАЧКИ ВИЩОЇ ОСВІТИ

Вероніки НАПХАНЕНКО

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Прогнозування напрямків біотрансформації 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону – потенційного антигіпоксанта з ноотропними властивостями», керівник кваліфікаційної роботи: Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, д.фарм.н., доцент, затверджений наказом НФаУ від «06» березня 2023 року № 59.
2. Строк подання здобувачкою вищої освіти кваліфікаційної роботи: квітень 2023 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 гідроксилування, аліфатичне гідроксилування, деалкілування, сайт метаболізму, біологічно активні метаболіти.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): обґрунтування необхідності дослідження можливих шляхів біотрансформації потенційного АФІ з антигіпоксичними 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, ПРИЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії, д.фарм.н., доцент	07.09.2022	07.09.2022
2	Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії, д.фарм.н., доцент	27.10.2022	27.10.2022
3	Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії, д.фарм.н., доцент	09.12.2022	09.12.2022

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

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Підбір та вивчення інформаційних джерел для написання кваліфікаційної роботи, складання бібліографічного списку джерел інформації	серпень-вересень 2022 р.	виконано
2	Ознайомлення, аналіз алгоритмів комп'ютерних онлайн систем прогнозування метаболізму ксенобіотиків. Вибір програмних продуктів та аналіз особливостей роботи з ними	жовтень 2022 р.	виконано
3	Прогнозування ймовірних шляхів метаболізму 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону – потенційного АФІ антигіпоксичної дії	жовтень-грудень 2022 р.	виконано
4	Аналіз отриманих результатів	січень-березень 2023 р.	виконано
5	Оформлення кваліфікаційної роботи та подання до Екзаменаційної комісії	квітень 2023 р.	виконано

Здобувачка вищої освіти

Вероніка НАПХАНЕНКО

Керівник кваліфікаційної роботи

Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 59
по Національному фармацевтичному університету

від 06 березня 2023 року

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

№ з/п	Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
1.	Напханенко Вероніка Віталіївна	Прогнозування напрямків біотрансформації 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону - потенційного антигіпоксанта з ноотропними властивостями	Prediction of biotransformation directions of 2-methyl-3-[(2-methylanilino)methyl]-1H-quinolin-4-one - a potential anti-hypoxant with nootropic properties	доц. Подольський І. М.	доц. Северіна Г. І.

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

Вірно: пров. фахівець деканату



Н. В. Фоменко

ВИСНОВОК

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

№ 112833 від «1 » травня 2023 р.

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Напханенко Вероніки Віталіївни, 5 курсу, _____ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Прогнозування напрямків біотрансформації 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хіно-лін-4-ону - потенційного антигіпоксанта з ноотропними властивостями / Prediction of biotransformation directions of 2-methyl-3-[(2-methylanili-no)methyl]-1H-quinolin-4-one - a potential antihypoxant with nootropic properties», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копіляції).

**Голова комісії,
професор**



Інна ВЛАДИМИРОВА

1%

18%

ВІДГУК

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

Вероніки НАПХАНЕНКО

на тему: «Прогнозування напрямків біотрансформації
2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону – потенційного
антигіпоксанта з ноотропними властивостями».

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-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону, речовини що є перспективним антигіпоксантом з ноотропними властивостями. Одержані результати можуть значно розширити та поглибити розуміння як фармакодинамічних, так і фармакокінетичних особливостей перспективного кандидата в АФІ за умов подальшого поглибленого фармакологічного дослідження та впровадження сполуки в медичну практику.

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 Вероніки НАПХАНЕНКО 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

«05» квітня 2023 р.

РЕЦЕНЗІЯ

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

Вероніки НАПХАНЕНКО

на тему: «Прогнозування напрямків біотрансформації 2-метил-
3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону – потенційного
антигіпоксанта з ноотропними властивостями».

Актуальність теми. Подана на рецензування робота Вероніки НАПХАНЕНКО присвячена комп'ютерному прогнозування можливих шляхів біотрансформації потенційного активного фармацевтичного інгредієнта з антигіпоксичними та ноотропними властивостями 2-метил-3-[(2-метиланіліно)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-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону може інтенсивно метаболізуватись за участю ферментних систем цитохрому Р450. Найбільш імовірними шляхами метаболізму досліджуваної сполуки є ароматичне гідроксилювання молекули за участю атомів карбону як гетероциклічної системи хінолону, так і фенільного замісника, аліфатичне гідроксилювання метильних груп, N-деалкілювання амінометильного фрагменту. Прогнозований напрямок аліфатичного гідроксилювання за метильною групою в положенні 2 гетероциклу до похідних кінуренової кислоти свідчить на користь припущення, що доведені фармакодинамічні ефекти досліджуваної сполуки 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-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону, речовини що є перспективною сполукою з антигіпоксичними 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 Вероніки НАПХАНЕНКО 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

«11» квітня 2023 р.

ВИТЯГ

з протоколу засідання кафедри медичної хімії

№ 10 від 21 квітня 2023 р.

ПРИСУТНІ:

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

ПОРЯДОК ДЕННИЙ:

Звіт про стан виконання кваліфікаційної роботи здобувачки вищої освіти фармацевтичного факультету, Фм18(4,10д)-07 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Вероніки НАПХАНЕНКО на тему: «Прогнозування напрямків біотрансформації 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону – потенційного антигіпоксанта з ноотропними властивостями».

СЛУХАЛИ: доповідь здобувачки вищої освіти фармацевтичного факультету, Фм18(4,10д)-07 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Вероніки НАПХАНЕНКО на тему: «Прогнозування напрямків біотрансформації 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону – потенційного антигіпоксанта з ноотропними властивостями», керівник – доцент ЗВО кафедри медичної хімії, д.фарм.н. Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ.

УХВАЛИЛИ: рекомендувати кваліфікаційну роботу Вероніки НАПХАНЕНКО 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 здобувачка вищої освіти Вероніка НАПХАНЕНКО до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «Прогнозування напрямків біотрансформації 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону – потенційного антигіпоксанта з ноотропними властивостями»

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Микола ГОЛІК /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувачка вищої освіти Вероніка НАПХАНЕНКО обґрунтувала актуальність дослідження з прогнозування можливих шляхів біотрансформації потенційного потенційного антигіпоксанта з ноотропними властивостями 2-метил-3-[(2-метиланіліно)метил]-1Н-хінолін-4-ону, проаналізувала доступні у вільному доступі онлайн системи прогнозування біотрансформації ксенобіотиків в організмі людини, набула практичних навичок роботи з обраними для роботи програмними продуктами та здійснила прогнозування можливих шляхів метаболізму досліджуваної сполуки, проаналізувала та узагальнила результати досліджень. Під час виконання кваліфікаційної роботи виявила 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

«05» квітня 2023 року

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

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

Завідувачка кафедри
медичної хімії

Ліна ПЕРЕХОДА

«21» квітня 2023 року

Кваліфікаційну роботу захищено
у Екзаменаційній комісії
«15» червня 2023 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії,
доктор фармацевтичних наук, професор

_____ /Лена ДАВТЯН/