

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

**КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**

на тему: **«ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ВОЗМОЖНЫХ ПУТЕЙ  
БИОТРАНСФОРМАЦИИ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО АНТИГИПОКСАНТА  
С НООТРОПНЫМИ И АНКСИОЛИТИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ»**

**Выполнил:** соискатель высшего образования группы  
Фм18(5,0д)i-08

специальности: 226 Фармация, промышленная фармация  
образовательной программы Фармация

Ашраф ТХИС

**Руководитель:** доцент заведения высшего образования  
кафедры медицинской химии, д.фарм.н., доцент  
Илья ПОДОЛЬСКИЙ

**Рецензент:** профессор заведения высшего образования  
кафедры фармацевтической химии, д.фарм.н., профессор  
Сергей ВЛАСОВ

**Харьков – 2023 год**

## АННОТАЦИЯ

Проведено компьютерное прогнозирование возможных путей биотрансформации потенциального антигипоксанта с ноотропными и анксиолитическими свойствами N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида. Доказано, что молекула исследуемого вещества может интенсивно метаболизироваться с участием ферментных систем цитохрома P450. Наиболее вероятными путями биотрансформации является ароматическое гидроксирование с участием атомов карбона как гетероциклической системы хинолона, так и фенильного и бензамидного фрагментов. Прогнозируемые направления алифатического гидроксирования по метильной группе в положении 2 гетероцикла к производным кинуреновой кислоты и дебензоилирования с образованием 2-метил-3-(фениламинометил)-1H-хинолин-4-она (атристамина) свидетельствуют, что доказанные фармакодинамические эффекты молекулы могут частично обеспечиваться фармакологически активными метаболитами.

*Ключевые слова:* N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамид, биотрасформация, компьютерное прогнозирование, онлайн системы, метаболиты, фармакологическая активность.

## ANNOTATION

Computer prediction of possible pathways of biotransformation of a potential antihypoxant with nootropic and anxiolytic properties (N-[(2-methyl-4-oxo-1H-quinolin-3-yl) methyl]-N-phenylbenzamide) has been carried out. It was proved, that the molecule of the test substance can be intensively metabolized by cytochrome P450 enzyme systems. The most probable ways of biotransformation are aromatic hydroxylation with the participation of carbon atoms of both the heterocyclic quinolone system and phenyl and benzamide fragments. Predicted directions of aliphatic hydroxylation of the methyl group at position 2 of the heterocycle to kynurenic acid derivatives and debenzoylation with the formation of 2-methyl-3-(phenylaminomethyl)-1H-quinolin-4-one (atristamine) suggest in favor of the hypothesis that proven pharmacodynamic effects may be partially provided by these pharmacologically active metabolites.

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

## СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	<b>5</b>
<b>РАЗДЕЛ 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К КОМПЬЮТЕРНОМУ ПРОГНОЗИРОВАНИЮ МЕТАБОЛИЗМА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА (Обзор литературы)</b>	<b>7</b>
1.1. Метаболизм лекарственных средств	8
1.2. Подходы к прогнозированию метаболизма, основанные на количественных взаимосвязях «структура – действие», фармакофорах и моделировании гомологии	10
1.3. Электронные модели	14
1.4. Базы данных и методы, основанные на знаниях	15
1.5. Сложность метаболизма и его регуляция	17
1.6. Системная биология	19
1.7. Комбинированный подход к прогнозированию метаболизма	20
<i>Выводы к разделу 1</i>	25
<b>РАЗДЕЛ 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	<b>26</b>
2.1. Синтез N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида	26
2.2. Фармакологические свойства N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида	28
2.3. Примененные онлайн системы компьютерного прогнозирования метаболизма	32
<i>Выводы к разделу 2</i>	45
<b>РАЗДЕЛ 3. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ВОЗМОЖНЫХ ПУТЕЙ БИОТРАНСФОРМАЦИИ ПОТЕНЦИОННОГО АНТИГИПОКСАНТА С НООТРОПНЫМИ И АНКСИОЛИТИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ</b>	<b>46</b>
<i>Выводы к разделу 3</i>	56
<b>ОБЩИЕ ВЫВОДЫ</b>	<b>58</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ</b>	<b>59</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЯ</b>	<b>67</b>

## ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ADME/Tox	Параметры абсорбции, распределения, метаболизма, выведения и токсичности
CYP	Ферменты цитохрома P450
FDA	Food and Drug Administration, USA
IC <sub>50</sub>	Средняя ингибирующая концентрация
<i>in silico</i>	Методы исследования с применением математических расчетных методов
<i>in vitro</i>	Методы исследования с применением клеточных культур
<i>in vivo</i>	Методы исследования в живом организме
K <sub>i</sub>	Константа ингибирования
K <sub>m</sub>	Константа Михаэлиса
QSAR	Модели соотношения структура-активность
UGT	Уридиндифосфат-глюкурононилтрансфераза
AA	Антиамнестическая активность
АФИ	Активный фармацевтический ингредиент
ОП	Открытое поле
НГТГ	Нормобарическая гипоксическая гипоксия с гиперкапнией
ПКЛ	Приподнятый крестообразный лабиринт
УРПИ	Условная реакция пассивного избегания

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Квалификационная работа посвящена исследованию возможных путей биотрансформации N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида как перспективного кандидата в АФИ с антигипоксическими, ноотропными и анксиолитическими свойствами. С целью уменьшения рисков отрыва соединений-кандидатов в лекарства на стадии клинических испытаний в результате неблагоприятных метаболических характеристик молекул необходимы эффективные и надежные способы прогнозирования метаболизма молекулы биологически активного соединения *in silico*, *in vitro* и *in vivo*. Экспериментальные исследования возможных путей биотрансформации новых молекул *in vitro* и *in vivo* всегда являются нетривиальными и ресурсозатратными задачами. Именно поэтому применение компьютерного прогнозирования возможных путей метаболизма потенциального кандидата в лекарства на начальных этапах является вполне оправданным и эффективным подходом, который позволяет идентифицировать сайты метаболизма, прогнозировать структуры образующихся метаболитов, интенсивность метаболизма и специфичность субстратов к ферментам цитохрома P450. Выбранная тематика квалификационной работы направлена на решение этих вопросов, что определяет ее актуальность.

**Цель исследования.** Прогнозирование возможных путей биотрансформации потенциального антигипоксанта с ноотропными и анксиолитическими свойствами N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Провести систематизацию и анализ научной литературы, посвященной основным математическим и статистическим подходам и методам, применяемым для прогнозирования возможных путей метаболизма химических веществ в организме человека.

2. Провести компьютерное прогнозирование возможных путей биотрансформации перспективного соединения – N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида (лабораторный шифр VAZ16\_p06) с применением пяти 5 онлайн ресурсов, находящихся в свободном доступе.

3. На основе систематизации полученных результатов определить основные возможные пути биотрансформации N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида.

4. На основе анализа совпадений и расхождений в результатах, полученных с помощью различных программных продуктов, определить соотнесенность основных трендов по биотрансформации.

**Объект исследования.** Перспективный антигипоксанта с ноотропными и анксиолитическими свойствами N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамид.

**Предмет исследования.** Возможные пути метаболизма N-[(2-метил-4)-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида в организме человека.

**Методы исследования:**

1. Анализ и систематизация научной и патентной литературы.
2. *In silico* прогнозирование возможных путей биотрансформации ксенобиотиков в организме человека.
3. Методы экстраполяции и визуализации результатов прогнозирования возможных метаболитов.

**Практическое значение получаемых результатов.** Полученные результаты исследования расширяют знания о возможных путях метаболизма N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида, перспективного антигипоксанта с ноотропными и анксиолитическими свойствами. Полученные результаты могут значительно расширить и углубить понимание как фармакодинамических, так и фармакокинетических особенностей перспективного кандидата в АФИ при дальнейшем углубленном фармакологическом исследовании.

**Элементы научных исследований.** Впервые проведено компьютерное прогнозирование возможных путей биотрансформации перспективного кандидата в АФИ с антигипоксическими, ноотропными и анксиолитическими свойствами.

**Структура и объем квалификационной работы.** Квалификационная работа состоит из введения, 3 разделов, общих выводов, списка использованных источников (74 наименования). Общий объем работы – 58 страниц. Работа содержит 2 схемы, 2 таблицы и 14 рисунков.

## **РАЗДЕЛ 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К КОМПЬЮТЕРНОМУ ПРОГНОЗИРОВАНИЮ МЕТАБОЛИЗМА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА (Обзор литературы)**

На сегодняшний день FDA (Food and Drug Administration, USA) признала, что перед фармацевтической отраслью стоит значительный вызов по усовершенствованию успешной идентификации молекул-кандидатов во лекарственные средства и избежанию их отзыва на поздних стадиях клинических испытаний из-за токсичности [1]. Начиная с конца 90-х годов прошлого века, многие фармацевтические исследовательские группы перенесли разнообразные скрининговые исследования физико-химических свойств на более ранние этапы изучения перспективных лекарственных средств, пытаясь предсказать это [2]. Однако они требуют синтеза или выделения молекулы, что значительно усложняет процесс, однако поиск новых молекул-кандидатов все больше зависит от вычислительных исследований крупных коллекций виртуальных соединений [3]. Параметры абсорбции, распределения, метаболизма, выведения и токсичности (ADME/Tox) молекул можно оценить очень экономично с помощью вычислительных методов или методов *in vitro*, что позволяет использовать дополнительную информацию наряду с целевой активностью на самых ранних стадиях разработки лекарственных средств [4].

Критически важно, что метаболические превращения молекул лекарственных средств оказывают существенное влияние на их биодоступность, эффективность, хроническую токсичность, скорость выведения и путь. Как материнская молекула, так и продукты метаболических превращений могут также влиять на одновременно эндогенный метаболизм или метаболизм других соединений. Например, подавление метаболических ферментов может ассоциироваться с взаимодействием препаратов, что может потенциально иметь летальные последствия для пациента. Такое поведение традиционно изучается *in vitro*, но благодаря достижениям программного

обеспечения для вычислительной химии и быстрому накоплению эмпирических данных о взаимодействии препаратов с лекарственными средствами, ее можно в определенной степени предусмотреть расчетно [5]. Эти вычислительные количественные модели соотношения структура-активность (QSAR) позволяют отобрать наиболее перспективные соединения для последующего тестирования *in vitro*. Хотя в целом было много обзоров ADME/Tox [6–8], они редко сосредотачивались в значительной степени на освещении доступных методов для вычислительного прогнозирования метаболизма (хотя были исключения [9]).

### 1.1 Метаболизм лекарственных средств

Одни из ключевых вопросов метаболизма лекарственных средств включают в себя определение: задействованного фермента, сайта метаболизма в молекуле; образующихся метаболитов; стабильности и ингибирования или индукции метаболизма соединений, что может привести к взаимодействию лекарственных средств. Большинство молекул препаратов, как и другие ксенобиотики, подвергаются метаболизму I фазы под действием ферментов цитохрома P450 (CYP), преимущественно в печени, хотя эти ферменты присутствуют и в других органах. Эти ферменты способны либо инактивировать, либо активировать как ксено-, так и эндобиотические молекулы.

Из примерно 40 генов CYP человека, клонированных и классифицированных по гомологии последовательностей, было показано, что 3 семейства CYP и <12 уникальных ферментов играют значительную роль в метаболизме лекарства в печени человека [10]. Кроме того, может происходить дальнейший метаболизм, включая глюкуронирование, сульфатирование или другие реакции II фазы, что может привести к важным метаболитам для некоторых лекарственных препаратов, широко используемых в клинической практике [11]. Хотя ферменты CYP демонстрируют высокую структурную гомологию, они часто играют разную

роль в метаболизме ксенобиотиков с активными центрами, обеспечивающими широкую и перекрестную специфичность субстрата, что осложняется разнородностью связывания лигандов [12]. Селективность субстрата человеческих СУР связана как со структурой субстрата, так и с ключевыми особенностями активных центров: а именно распределением определенных аминокислотных остатков в среде гема [13]. При отсутствии трехмерных (3D) структур для многих из этих ферментов, предсказание того, связывается ли молекула с ними, зависит от наших ограниченных знаний о специфичности и селективности сайтов связывания, полученных из данных *in vivo* и *in vitro*. Сейчас разные системы *in vitro* широко используются для изучения метаболизма [14-16] и характеризуют потенциал взаимодействия между лекарственными средствами, опосредованными ферментами СУР.

СУР имеют сродство к структурно разнообразным гидрофобным молекулам у человека, а также другим видам, используемым как фармакологические или токсикологические модели, и, следовательно, представляют наиболее изученное семейство ферментов, метаболизирующих лекарства. Подобным образом, уридиндифосфат-глюкуроноилтрансферазы (UGT) метаболизируют небольшие липофильные молекулы, важные для экскреции лекарства, эндобиотиков и ксенобиотиков во всех видах млекопитающих [17]. Наряду с этим сульфотрансферазы представляют собой семейства ферментов с разными, а в некоторых случаях перекрестными параметрами специфичности субстратов. Хотя этим ферментам II фазы не уделяется такому вниманию, как СУР, существует интерес к их роли в метаболизме лекарства [18]. Таким образом, прогнозирование метаболизма с помощью этих различных ферментов, метаболизирующих лекарственные средства во время I и II фаз, прогрессировало во многих направлениях в течение более 30 лет, что легло в основу различных типов вычислительных технологий и позволило прогрессировать до современного состояния.

## **1.2 Подходы к прогнозированию метаболизма, основанные на количественных взаимосвязях «структура – действие», фармакофорах и моделировании гомологии**

Применение количественных соотношений структура-активность (или метаболизма) широко применяется Ганшем и соавт. [19] с небольшими гомологичными наборами молекул и с использованием ограниченного количества молекулярных дескрипторов. Один из самых первых обзоров этих разнообразных усилий, примененных к метаболизму, по существу, разделил такие превращения на три составляющих процесса, включая связывание с ферментом, химическую модификацию и высвобождение метаболита [20]. Липофильность, выраженная как  $\text{LogP}$ , и молекулярная рефракция были одними из первых важных параметров молекул, которые оказались важными для связывания субстрата с ферментом. Позже стерические, электронные и свойства формы поверхности молекулы также оказались важными для связывания и превращения молекул, тогда как высвобождение метаболита, вероятно, требует свойств.

После того, как было определено, что различные ферменты, метаболизирующие лекарства являются фактически надсемействами [22], состоящими из нескольких членов с разной селективностью субстрата, для каждого основного представителя были построены модели QSAR. Этот подход, прежде всего, имел место с ферментами CYP, для которых на основе этих исследований описаны структурные характеристики. Публикации Ганша, Льюиса и др. [23] предоставили многие исследования QSAR, которые позволили им предложить простое дерево решений для субстратов CYP человека.

Кроме того, в 1990-х годах наличие более сложных и графически усовершенствованных программных инструментов обеспечило вычислительные модели фармакофорного типа, описывающие ключевые молекулярные особенности лигандов для CYP1A2 [42] и CYP2C9 [24] человека и прогнозируют внутренний клиренс [25]. В этих типах программ

ключевые молекулярные особенности лигандов транслируются в сферы, точки или сетку, на которые сами молекулы могут быть сопоставлены в 3D-пространстве [26]. Недавние исследования описали и сравнили многие фармакофоры, сгенерированные для CYP [27], таким образом давая представление о важных особенностях взаимодействия лигандов и белков. Размер наборов данных *in vitro* колебался от <10 молекул до >1700 молекул в зависимости от фармакофора или метода моделирования QSAR [13], при этом размер тестовых наборов также изменялся соответственно. К ферментам человека, которым до сих пор уделялось большее внимание подходам вычисления фармакофоров, принадлежат CYP1A2, -2A6, -2B6, -2C9, -2D6, CYP3A4, -3A5 и -3A7 [28]. Подобные фармакофорные модели были построены после анализа литературы и новых данных, включая рекомбинантные кинетические значения CYP2B6, -2C9 и -2D6 [29]. В частности, характеристика CYP2B6 методами *in vitro* привела к появлению первых моделей фармакофора и 3D-QSAR, опубликованных для субстратов этого фермента, что свидетельствует о том, что по крайней мере три гидрофобных взаимодействия и акцептор водородных связей являются важными элементами для связывания. В этих исследованиях также впервые сообщалось о сложной кинетике ферментов *in vitro* в отношении CYP2B6, указывающих на одновременное связывание нескольких молекул с ферментом [30] – свойство, ранее широко наблюдавшееся только при CYP3A4.

В этом семействе ферменты CYP3A являются важнейшими с точки зрения метаболизма лекарственных средств у людей [31], поскольку они имеют очень широкую субстратную специфичность. Следовательно, вычислительные фармакофоры для CYP3A4 получены для субстратов [32] и ингибиторов [33] с использованием кинетических констант Михаэлиса ( $K_m$ ) и ингибирования ( $K_i$ ), а также средней ингибирующей концентрации ( $IC_{50}$ ) [11]. Вычислительный фармакофорный подход также был использован, чтобы дать первый пример модели важных особенностей молекул, увеличивающих собственный метаболизм (аутоактиваторы) с помощью CYP3A4. Фармакофор

аутоактиватора для CYP3A4 имел три гидрофобных фрагмента и один акцептор водородных связей [34], соответствующий остаткам, идентифицированным посредством исследований с использованием сайт-ориентированного мутагенеза [35]. Эта модель дала некоторое представление о механизме необычного кинетического поведения этого фермента. Недавно фармакофорный подход также применяется аналогичным образом для понимания гетероактиваторов метаболизма CYP3A4 и CYP2C9 [36]; в таких случаях соединение увеличивает метаболизм другого структурно уникального соединения, которое метаболизируется тем же ферментом. Структуры мембранно-связанных CYP были неизвестны относительно относительно недавней кристаллизации форм CYP2C кроликов и человека [37], а также человеческого CYP3A4 [38]. К этому времени было приложено много усилий для моделирования различных CYP с использованием бактериальных CYP в качестве шаблонных структур [39], и как только фермент CYP2C кроликов стал доступным, он стал широко использоваться для моделирования других CYP у человека [40]. Сочетанное применение моделей фармакофора и гомологии также часто применяется как средство для проверки и усовершенствования моделей, полученных в результате каждого метода в отдельности [41]. Более поздние рентгеновские структуры для CYP2C9 и CYP3A4 человека подтвердили некоторые сложные характеристики связывания CYP, обнаруженные *in vitro* из CYP3A4 и CYP2B6, которые сами широко моделировались по расчетам. Сейчас эти трехмерные структуры, очевидно, потенциально полезны для моделирования других ферментов, участвующих в метаболизме лекарства.

Глюкуронирование небольших липофильных молекул также важно путем клиренса лекарств, эндобиотиков и ксенобиотиков у всех видов млекопитающих [42]. Эти ферменты, связанные с мембраной, еще не кристаллизовали. Недавнее исследование описало глюкуронирование простых 4-замещенных фенолов ферментами человеческого рекомбинантного UGT1A6 и UGT1A9 [43]. Генетический алгоритм, использующий диапазон

молекулярных поверхностных и атомных дескрипторов, был использован в одной из первых попыток предусмотреть  $K_m$  для этих ферментов [44]. Аналогично их использованию для моделирования CYP, фармакофоры также применяли к разным ферментам человека, участвующим в глюкуронировании, используя модифицированные особенности метаболизма [45]. Таким образом удалось получить фармакофоры для UGT1A4, UGT1A1 и других [46]. Совсем недавно другие методы QSAR, такие как опорные векторные машины, использовались с квантово-химическими и двумерными дескрипторами для тех же ферментов [47]. В настоящее время наборы данных, из которых были построены модели, все еще относительно ограничены с точки зрения структурного разнообразия по сравнению с моделями CYP, возможно ограничивая общую пригодность этих моделей. Следующим классом конъюгирующих ферментов являются сульфотрансферазы, которые были кристаллизованы [48]; метод QSAR также был использован для прогнозирования сродства к субстрату к одному из них: а именно к сульфотрансферазе (SULT)-1A3 [25]. Следующим классом конъюгирующих ферментов являются сульфотрансферазы, которые были кристаллизованы [48]; метод QSAR также был использован для прогнозирования сродства к субстрату к одному из них: а именно к сульфотрансферазе (SULT)-1A3 [25]. Следующим классом конъюгирующих ферментов являются сульфотрансферазы, которые были кристаллизованы [48]; метод QSAR также был использован для прогнозирования сродства к субстрату к одному из них: а именно к сульфотрансферазе (SULT)-1A3 [25].

Совсем недавно другие комплексные методы QSAR, такие как карты Кохонена, стали полезны для дифференциации субстратов CYP3A4 с высоким и низким сродством [11], тогда как нейронные сети использовались для прогнозирования скорости N-деалкилирования для субстратов CYP3A4 и CYP2D6 [36]. Эта работа представляет собой основу для программной системы для прогнозирования участвующих метаболитов и ферментов исходя из молекулярной структуры, а также применяется для дифференциации

субстратов СYP от несубстратов [44]. Статистическая модель k-ближайшего соседа, использующая данные метаболической стабильности из гомогената S9 человека для 631 различных молекул, смогла адекватно классифицировать метаболизм последующего набора более 100 молекул [49]. Это свидетельствует о том, что общие типы QSAR-моделей могут быть использованы для создания прогнозов относительно метаболической стабильности, и, безусловно, по всей вероятности, что в этой области будут применены другие вычислительные алгоритмы, такие как нуклеарные методы; например, опорных векторных машин [50] и частичных наименьших квадратов Кернела [51], которые начали применяться в разработке потенциальных лекарств [3] наряду с новыми типами молекулярных дескрипторов [7].

### 1.3 Электронные модели

Хотя фармакофорные модели, как правило, демонстрируют важность гидрофобных, водородных связей и ионизирующих свойств как субстратов, так и ингибиторов [9], также были созданы другие типы молекулярных моделей, учитывающие электронные эффекты лигандов для метаболизма, опосредованного СYP [52]. Эти методы зависели от расчета энергий основного состояния, а в некоторых случаях сочетали реакции алифатического и ароматического окисления. Таким образом, были сформированы методы прогнозирования метаболической региоселективности ферментов в целом или специфических ферментов, таких как СYP2E1 и СYP3A4 [53]. В последнем случае был применен метод частных наименьших квадратов с расчетными данными энергии абстракции водорода AM1, чтобы значительно ускорить прогнозирование этих значений для молекул. Также было описано сочетание электронных методов со стерическими и ориентационными условиями, чтобы избежать необходимости переформатирования учебных данных и улучшения прогнозов [52]. Была разработана электронная модель для абстракции водорода для серии стероидных андрогенов [54]. В настоящее время

электронные методы применялись менее широко, чем методы QSAR, но это не должно ограничивать их интеграцию в коммерческое программное обеспечение или общее применение для прогнозирования метаболизма наряду с другими методами, описанными в настоящем разделе. Кроме того, до сих пор не было сравнений прогнозов по электронным моделям и моделям QSAR, поэтому трудно установить надежность этих методов. Была разработана электронная модель для абстракции гидрогенов для серии стероидных андрогенов [54]. В настоящее время электронные методы применялись менее широко, чем методы QSAR, но это не должно ограничивать их интеграцию в коммерческое программное обеспечение или общее применение для прогнозирования метаболизма наряду с другими методами, описанными в настоящем разделе. Кроме того, до сих пор не было сравнений прогнозов по электронным моделям и моделям QSAR, поэтому трудно установить надежность этих методов. Была разработана электронная модель для абстракции гидрогенов для серии стероидных андрогенов [54]. В настоящее время электронные методы применялись менее широко, чем методы QSAR, но это не должно ограничивать их интеграцию в коммерческое программное обеспечение или общее применение для прогнозирования метаболизма наряду с другими методами, описанными в настоящем разделе. Кроме того, до сих пор не было сравнений прогнозов по электронным моделям и моделям QSAR, поэтому трудно установить надежность этих методов.

#### **1.4 Базы данных и методы, основанные на знаниях**

Начиная с 1970-х годов, промышленность и научные круги организуют базы данных с информацией о белках, ферментирующих генах, а также метаболические и клеточные сигнальные пути, которые являются отправной точкой для систем ADME/Tox [12]. Однако попытки организации данных ADME/Tox были единичны, хотя теоретически отделены базы данных ADME-ассоциированных белков или путей, такие как PharmaGKB [55], база данных ядерных рецепторов [16], база данных транспортеров мембран человека [24] и

база данных белков, связанные с ADME [40], теперь могут быть интегрированы. Новые коммерческие базы данных по метаболизму лекарственных средств, такие как Metabolite™ (Accelrys), Metabolism™ и BioFrontier/P450™ (Fujitsu), представляют широкую коллекцию метаболических данных [56].

Эти базы данных полезны для расчета вероятностей метаболической реакции и прогнозирования метаболитов или сайтов метаболизма с использованием статистического подхода [19]. Подобным образом накопление данных о метаболизме лекарственных средств также привело к созданию экспертных систем для прогнозирования метаболизма эфиров, О- и N-алкильных производных и ароматических фрагментов [57], что привело к таким коммерческим продуктам, как MetabolExpert™ (CompuDrug), METATM (Multicase) и METEORTM (LHASA). Эти экспертные системы были рассмотрены ранее [21], а рассуждения по прогнозированию метаболитов для одного из этих подходов, основанных на знаниях, были описаны достаточно подробно [56]. В общем, одним из ограничений баз данных и экспертных систем является то, что они содержат комбинированные данные или правила многих видов млекопитающих, что может быть менее полезно для прогнозирования метаболизма человека. В идеале, данные и правила для каждого вида должны быть отдельными. Следовательно, программы, использующие эту информацию в комбинированных базах данных, имеют тенденцию прогнозировать все метаболические возможности для экзогенной молекулы, по существу, создавая "среднего" млекопитающего, которое может отличаться от человека.

Метаболические пути и соответствующие сети могут быть разными, даже у близких видов млекопитающих. Кроме того, метаболизм одного и того же препарата может существенно отличаться у разных людей в зависимости от уровня экспрессии определенных ферментов, полиморфизма в кодирующих и регулирующих генах ферментов и наличия определенных ферментов в нормальном и болезненном состояниях, а также от различных тканей.

Предлагается тип информации, которая должна содержаться в базах данных о метаболизме лекарственных средств, чтобы предупредить пользователя о некоторых из этих вопросов [19, 28].

Другие аналогичные методы прогнозирования метаболизма включают методы, разработанные в рамках базы данных биокатализ/биodeградации Университета Миннесоты, объединяющей базу данных молекул с правилами прогнозирования метаболитов [13] для малых органических молекул. Другой пример, известный как симулятор тканевого метаболизма (TIMES), объединяет базу данных с вероятностью возникновения метаболитов, чтобы в итоге составить карту метаболизма, протестированную на 179 молекулах с опубликованными данными для крыс [57]. Хотя полные результаты этого анализа не были предоставлены, было отмечено, что 86% документированных метаболических путей могут быть воспроизведены [32]. Было бы интересно выяснить, могут ли такие комбинированные подходы обрабатывать накопленные данные по метаболизму человека. Применение средств прогнозирования метаболизма, очевидно, было бы полезным для создания комбинаторных библиотек [7] или приобретения соединений у внешних поставщиков в зависимости от требований соответствующего проекта. Из-за комбинаторного взрыва в количестве возможных метаболитов, чтобы эффективно обрабатывать большие библиотеки молекул, методам прогнозирования потребуется либо создать простую оценку на выходе, либо определить подструктуры продуцируемых конкретными ферментами ключевых метаболитов.

### **1.5 Сложность метаболизма и его регуляция**

Сложность прогнозирования метаболитов побудила некоторых исследователей применить теорию графов, в которой топология полученных карт реактивности (на основе молекулярных дескрипторов, описывающих сайт метаболизма) молекул, проходящих одинаковый метаболический путь, предполагает кластер структурно подобных молекул [58]. Этот подход также

использовался той же группой для визуализации биологических данных, источников и используемого аналитического метода наряду с другими типами информации. Можно представить, что подобный подход картографирования используется для визуализации всех предполагаемых метаболитов для данной входной молекулы и, возможно, их кластеризации с участием фермента. Поскольку метаболизирующий молекулу фермент может продуцировать несколько продуктов из одного субстрата, прогнозирование соответствующих метаболитов является значительной проблемой. Было высказано предположение (и теоретически смоделировано), что один фермент может создать распределенную каталитическую сеть [16]. В этом сценарии один субстрат производит несколько метаболитов с меньшей концентрацией, чем начальная концентрация субстрата. В этих условиях токсичность данного соединения, вероятно, будет минимизирована. Поскольку мы осознаем общую несовместимость субстратов некоторых ферментов, таких как CYP3A4 [24], которые могут легко метаболизировать молекулы в разных положениях, способность надежно прогнозировать метаболиты очень важна. Как было описано ранее, несколько методов использовались для прогнозирования сродства только к этому ферменту, и все они могут понадобиться для того, чтобы повысить точность и более высокую вероятность успеха. Пока мало, если таковые есть, публикаций исследований комбинации нескольких методов прогнозирования метаболитов с использованием разных типов программного обеспечения. Можно ожидать, что такие консенсусные подходы будут полезны способом, подобным их применению в других исследованиях вычислительного моделирования [58].

Транскрипционная регуляция метаболизма ферментов происходит с помощью сложных путей, опосредованных ядерными рецепторами гормонов, среди прегнановых X-рецепторов (PXR), конститутивных рецепторов андростана (CAR), глюкокортикоидных рецепторов, арильных углеводородных рецепторов и, возможно, многих других. Некоторые из этих рецепторов были смоделированы расчётно или кристаллизованы и могут

связывать фармацевтически и экологически важные молекулы. PXR – это транскрипционный регулятор CYP3A4 [59], -2C9, -2B6 и многих других белков, который активируется структурно различными молекулами. Вычислительные модели, созданные для ядерных рецепторов гормонов, указывают на наличие многочисленных ключевых гидрофобных и водородных связей. Это может каким-то образом объяснить общую гетерогенность этих белков, которая связана с их общей защитной способностью против широкого спектра молекулярных структур. Если у нас есть какой-либо шанс разумно предсказать влияние ADME/Tox молекулы на весь организм, мы должны учитывать многие факторы, включая образование метаболитов различными ферментами, которые могут по-разному регулироваться ядерными рецепторами гормонов у человека. Это требует сочетания возможностей методов *in vitro* и вычислительных моделей для достижения целостного или системного биологического понимания многих белков и их взаимодействия, связанного с регуляцией, транспортом и метаболическими путями [13]. которые могут различно регулироваться ядерными рецепторами гормонов у человека. Это требует сочетания возможностей методов *in vitro* и вычислительных моделей для достижения целостного или системного биологического понимания многих белков и их взаимодействия, связанного с регуляцией, транспортом и метаболическими путями [13].

## 1.6 Системная биология

Системная биология употребляет взаимосвязи всех частей, а не подходит к ним раздельно [60]. Этот подход может быть использован "сверху вниз" (используя концептуальную основу для интеграции данных) или "снизу

вверх" (совмещая индивидуально смоделированные разные биохимические процессы). Интерпретация ADME/Tox и особенно метаболизма лекарств в этом контексте может улучшить наше понимание и окончательные прогнозы [13].

Возбуждающий эффект молекулы на целостную биологическую систему можно наблюдать как экспериментально (с использованием высокопроизводительного скрининга в отношении многих белков), так и теоретически (с использованием многих вычислительных моделей [61]), а также на всех метаболических и сигнальных путях. Таким образом, может быть обеспечено понимание эффектов связывания с несколькими одновременно белками. Итерационный подход, основанный на многочисленных циклах генерации и моделирования данных, может также создать динамические гипотезы, гораздо более полезные по сравнению с чисто статическими моделями. Этот подход также требует сбора высокопроизводительных и высококонтентных скрининговых данных, включая глобальную экспрессию генов, содержание белка, метаболические профили для тех же образцов, а также индивидуальные генетические, клинические и фенотипические данные. До этого времени было создано значительное количество эмпирических данных ADME/Tox, которые использовались для построения вычислительных моделей при оценке большого количества виртуальных молекул по отдельным свойствам. Эти прогнозы требуют многомерного анализа наряду с таргетным средством [62] и представляют средство для повышения эффективности отбора лидеров.

### **1.7 Комбинированный подход к прогнозированию метаболизма**

Современные попытки разработать коммерческий инструмент для вычисления ADME/Tox включают ручную аннотированную базу данных Oracle™, содержащую информацию о метаболизме лекарственных средств человека (MetaDrug™, GeneGo, Inc [63]), включающую более 10000 ксенобиотических реакций, более 1500 ферментных субстратов ферментов с

кинетическими данными (табл. 1.1). Первоначально базу данных MetaDrug использовали для вывода некоторых основных метаболических путей и определения участия определенных CYP [63].

Таблица 1.1

**Некоторые ферменты и связанные с ними молекулы, реферированные в MetaDrug.**

Фермент	Молекулы	Фермент	Молекулы	Фермент	Молекулы
CYP3A4_hum	832	CYP2C9_hum(144C)	36	SULT1B2_hum	46
CYP1A2_hum	629	FMO3_hum	25	SULT2B1a_hum	44
CYP2D6_hum	560	FMO1_hum	22	SULT2B1b_hum	40
CYP2C9_hum	510	FMO2_hum	15	SULT1A5_hum	29
CYP2E1_hum	441	FMO5_hum	11	SULT1A2_hum	28
CYP2C19_hum	425	GSTP1-1_hum	41	SULT1C1_hum	25
CYP1A1_hum	417	GSTM2-2_hum	19	UGT1A1_hum	220
CYP2A6_hum	293	GSTT1-1_hum	17	UGT1A9_hum	157
CYP2B6_hum	287	GSTA4-4_hum	13	UGT2B15_hum	150
CYP2C8_hum	244	GSTA3-3_hum	10	UGT1A10_hum	149
CYP1B1_hum	198	MAOA_hum	71	UGT1A8_hum	149
CYP19_hum	192	MAOB_hum	61	UGT1A3_hum	140
CYP3A5_hum	159	NAT1_hum	24	UGT2B7_hum	139
CYP2C18_hum	84	NAT2_hum	22	UGT1A6_hum	136
CYP17_hum	63	SULT1A3_hum	165	UGT1A4_hum	85
CYP4A11_hum	48	SULT1A1_hum	127	UGT1A7_hum	82
CYP2C9_hum(144R)	44	SULT1E1_hum	120	UGT2B17_hum	67
CYP3A7_hum	44	SULT2A1_hum	58		

Хотя идентификация возможных метаболитов кажется простой, компьютерное распознавание выбранных сайтов метаболических реакций является нетривиальной вычислительной проблемой. Эта база данных позволила создать 66 ключевых метаболических путей (на сегодняшний день) для прогнозирования возможных метаболических реакций (табл. 1.2). Такое формирование определенных правил является неизменным действием. Все метаболические реакции классифицируются по определенному типу

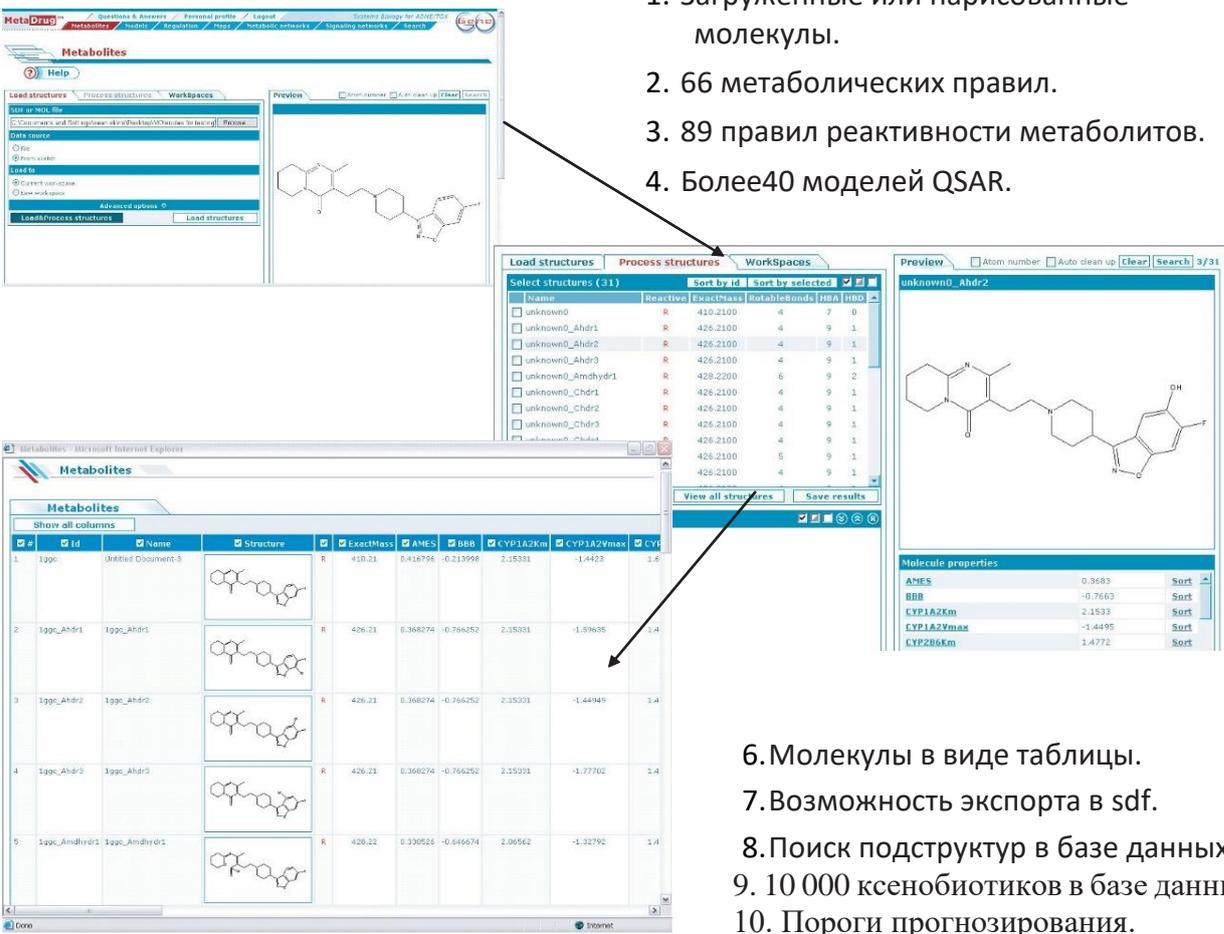
химической трансформации (например, ароматическое гидроксирование или гидролиз эфира). Эти правила были закодированы в программном обеспечении, так что файл молекул может быть проанализирован для быстрого прогнозирования возможных метаболитов.

Таблица 1.2

### Правила превращения метаболитов в MetaDrug [64].

Type	Rule in MetaDrug	Type	Rule in MetaDrug	
<b>Phase 1</b>		<b>Phase 2</b>		
C-oxidation	N-dealkylation	Glucuronidation	N-glucuronide transfer	
	O-dealkylation		O-glucuronide transfer	
	Aromatic hydroxylation		O-sulfate transfer	
	Aliphatic hydroxylation	Sulfation	N-sulfate transfer	
	Double bond peroxidation		Glutathione conjugation	S-glutathione transfer
	Hydroxyl-carbonyl oxidation		Glutathione S-transfer to epoxide	
	Double bond formation (desaturation)		Glutathione S-transfer to halogen	
	Aldehyde oxidation		Glutathione S-transfer to alkenes	
	Thione oxidation		Glutathione transfer to aldehyde	
	Alcohol oxidation		Glutathione replacement of sulfate	
	Double bond epoxidation		Glutathione S-transfer to quinones	
	Oxidative dehalogenation		Glutathione S-transfer to benzyl	
	Quinone formation	O-quinone formation		Glutathione S-transfer to nitroarenes
		P-quinone formation	Methyl transferases	O-methyl transfer
Complex quinone formation		N-methyl transfer		
N-oxidation	N-oxide formation		S-methyl transfer	
	N-hydroxylation		Heterocyclic N-methyl transfer	
	NH <sub>2</sub> oxidation	Cysteine conjugation	Cysteine S-transfer to epoxide	
	Oxime oxidation		Cysteine S-transfer to halogen	
S-oxidation	S-dealkylation		Cysteine S-transfer to alkenes	
S = O formation	Thiol oxidation		Cysteine transfer to aldehyde	
	Sulfide oxidation		Cysteine replacement of sulfate	
	Sulfoxide oxidation		Cysteine S-transfer to benzyl	
P-oxidation	Phosphorothioate to phosphate	N-formyl transfer	N-formyl transfer	
	Phosphite oxidation	O-phosphate transfer	O-phosphate transfer	
Reduction	Azide reduction	Glycine conjugation	Glycine conjugation	
	Azo reduction	Glutamine conjugation	Glutamine conjugation	
	Carbonyl reduction	N-acetyl transfer	N-acetyl transfer	
	Nitro-group reduction			
	Sulfoxide reduction			
	Carboxyl reduction			
	Hydrolysis	Ester hydrolysis		
		Epoxide hydrolysis		
Amide hydrolysis				
Hydrolytic dehalogenation				
Phosphate hydrolysis				
Phosphite hydrolysis				
Carbonyl halide hydrolysis				

Статистические данные базы данных также используются для протоколирования частоты появления прогнозируемых метаболитов [64], предоставляя некоторую информацию для их приоритетности. Пользовательский интерфейс для MetaDrug является интуитивно понятным и доступным для химиков, биологов или пользователей вычислительной техники, которые могут либо нарисовать молекулу, либо просмотреть файл структуры в стандартных форматах файлов sdf или mol. Файл быстро анализируется и метаболиты выводятся в соответствии с выбранными реакциями. Кроме того, интегрировано программное обеспечение для последовательной оценки входных молекул и исходных метаболитов с помощью моделей QSAR для различных свойств ADME/Tox (рис. 1.1).



1. Загруженные или нарисованные молекулы.

2. 66 метаболических правил.

3. 89 правил реактивности метаболитов.

4. Более 40 моделей QSAR.

6. Молекулы в виде таблицы.

7. Возможность экспорта в sdf.

8. Поиск подструктур в базе данных.

9. 10 000 ксенобиотиков в базе данных.

10. Пороги прогнозирования.

name	Reactive	ExactMass	RotatableBonds	HBA	HBB
unknown0	R	410.2100	4	7	0
unknown0_Ahdr1	R	426.2100	4	9	1
unknown0_Ahdr2	R	426.2100	4	9	1
unknown0_Ahdr3	R	426.2100	4	9	1
unknown0_Amhydr1	R	428.2200	6	9	2
unknown0_Chdr1	R	426.2100	4	9	1
unknown0_Chdr2	R	426.2100	4	9	1
unknown0_Chdr3	R	426.2100	4	9	1
unknown0_Chdr4	R	426.2100	4	9	1
unknown0_Chdr5	R	426.2100	5	9	1
unknown0_Chdr6	R	426.2100	4	9	1

Id	Name	Structure	ExactMass	AMES	BBB	CYP1A2Km	CYP1A2Vmax	CYP2D6Km
1	199c	unknown0	410.21	0.416796	-0.213998	2.15331	-1.4423	1.6
2	199c_Ahdr1	199c_Ahdr1	426.21	0.368274	-0.766252	2.15331	-1.57635	1.4
3	199c_Ahdr2	199c_Ahdr2	426.21	0.368274	-0.766252	2.15331	-1.44949	1.4
4	199c_Ahdr3	199c_Ahdr3	426.21	0.368274	-0.766252	2.15331	-1.77702	1.4
5	199c_Amhydr1	199c_Amhydr1	428.22	0.330526	-0.646674	2.06562	-1.32792	1.4

Molecule properties

AMES	0.3583	Sort
BBB	-0.7663	Sort
CYP1A2Km	2.1533	Sort
CYP1A2Vmax	-1.4495	Sort
CYP2D6Km	1.4772	Sort

Рис. 1.1 Иллюстрация интерфейса компонента прогнозирования MetaDrug™, показывающего ключевые функции (1-10) для прогнозирования метаболитов и создания свойств для этих молекул

Молекулы можно также визуализировать как временные объекты, имеющие связи на сетевой диаграмме с разными белками, с которыми они, как предполагается, взаимодействуют. Наряду с предполагаемыми данными, пользователь может одновременно визуализировать реальные молекулы, которые являются известными лигандами определенных белков, а также просматривать информацию, касающуюся отдельных объектов, иллюстрированных как узлы в сети. Итак, база данных MetaDrug Oracle полезна для анализа микрорядов и других типов токсикогеномики. Гены, существенно регулируемые как по типу активации, так и по типу ингибирования, могут быть соединены как сети, а уровень выраженности может быть легко аннотирован. Данные фармакогеномики (однонуклеотидные полиморфизмы, гаплотипы и т.п.), относящиеся к соединениям, также могут быть оценены в одних и тех же сетях.

Таким образом, история методов, которые использовались для вычислительного прогнозирования метаболизма лекарственных средств у человека, включала ряд различных подходов, которые использовались отдельно с разными уровнями успеха. Возможно, уместно сочетать несколько подходов для повышения вероятности надежного прогнозирования метаболизма. Пока мы еще не увидели ни одного из коммерческих продуктов прогнозирования метаболитов по сравнению между собой посредством перспективной валидации с молекулами, которые можно испытать *in vitro* или *in vivo*. После успешного проведения такого типа оценки, вероятно, вычислительные методы прогнозирования метаболизма будут более широко применяться в фармацевтических исследованиях наряду с другими компьютерными, *in vitro* и *in vivo* методами исследования перспективных активных фармацевтических ингредиентов.

### **Выводы к разделу 1**

1. Проведена систематизация и анализ научной литературы, посвященной основным математическим и статистическим подходам и методам, применяемым для прогнозирования возможных путей метаболизма химических веществ в организме человека.
2. Проведенный анализ подтверждает перспективность применения программного обеспечения для прогнозирования возможных метаболитов потенциального лекарственного средства на ранних этапах его исследования.

## РАЗДЕЛ 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования является N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамид (лабораторный шифр VAZ16\_p06), синтезированный доцентом кафедры медицинской химии, д. фарм. н. Зубковым В. А. (рис. 2.1).

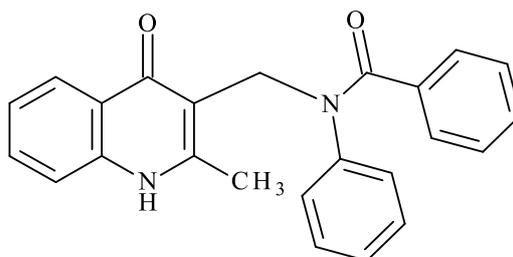


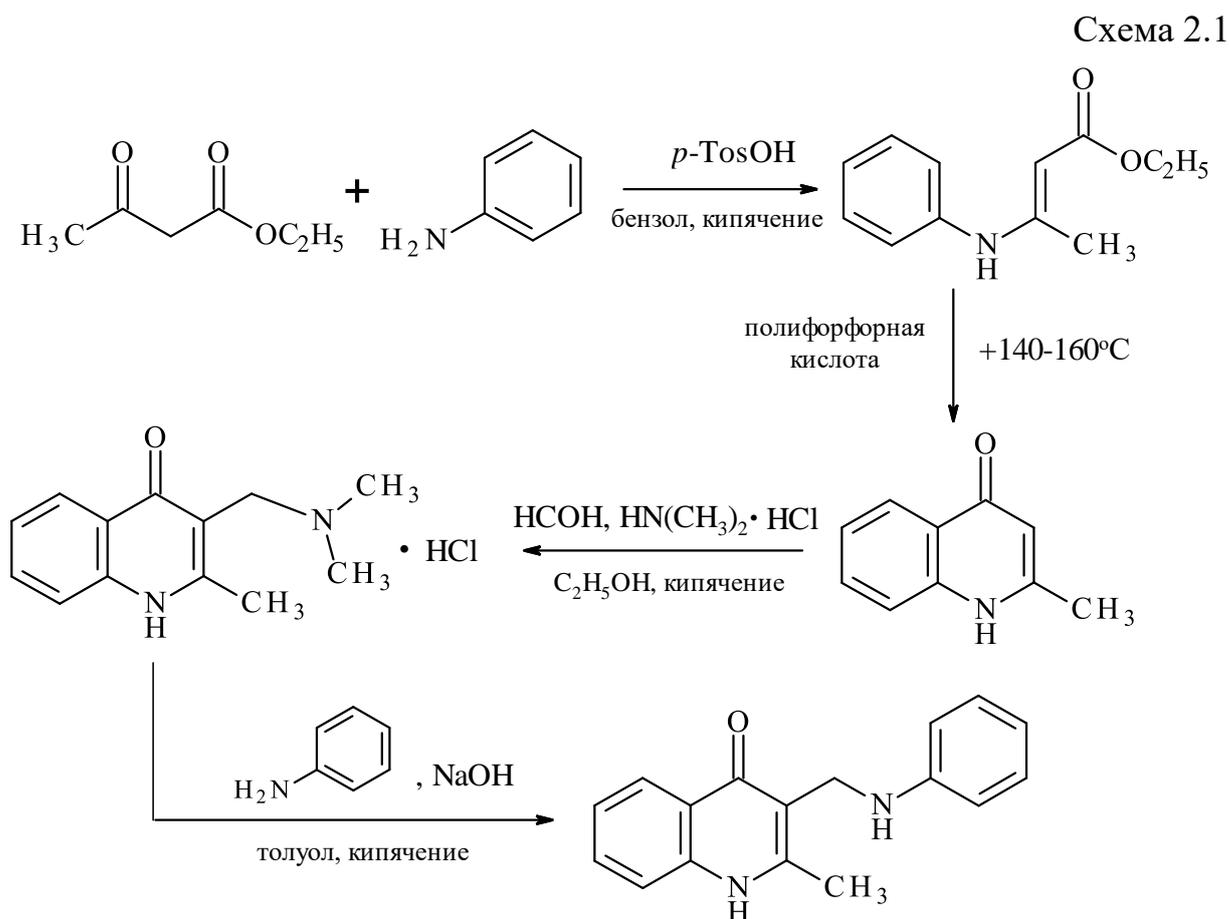
Рис. 2.1 Структурная формула N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида (VAZ16\_p06)

### 2.1 Синтез N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида

В качестве исходного соединения для синтеза 2-метил-3-(фениламинометил)-1H-хинолин-4-она (ключевой интермедиат) использован 2-метилхинолин-4-он, который аминотетилировали в условиях реакции Манниха [66], а получено основание Манниха (3-диметиламинометил-2-метилхинолин-4-она гидрохлорид) при переаминовке анилином образует 2-метил-3-(фениламинометил)-2-метил-1H-хинолин-4-он (схема 2.1).

Известно, что однозначно реакция Манниха протекает только при использовании вторичных аминов, тогда как аммиак и первичные амины могут реагировать с заменой всех атомов водорода, стоящих у нитрогена. Подтверждено, что взаимодействие 2-метилхинолин-4-она с первичными алифатическими аминами, анилинами, а также с диэтиламином в классических условиях реакции Манниха приводит к образованию в основном побочных продуктов, нерастворимых у большинства органических растворителей. Известно также, что основания Манниха могут быть использованы в качестве алкилирующих агентов в реакциях с аминами и

метиленактивными соединениями. Особенно легко такое алкилирование происходит в том случае, если основание Манниха образовано амином, который в дальнейшем может легко отщепляться, например диметиламином. В связи с этим был осуществлен синтез 3-диметиламинометил-2-метил-1Н-хинолин-4-она, а также дальнейший синтез на его основе 3-арил-аминопроизводных 2-метилхинолин-4-она.



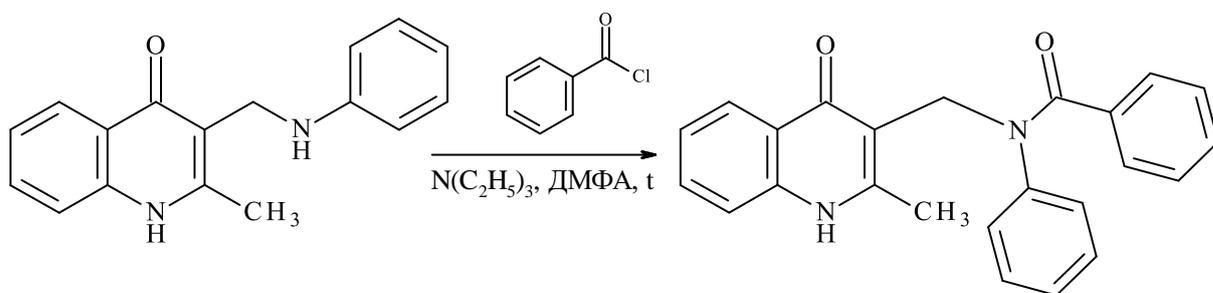
Гидрохлорид 3-диметиламинометил-2-метил-1Н-хинолин-4-она был получен двумя способами: кипячением в этаноле 2-метилхинолин-4-она с формальдегидом и гидрохлоридом диметиламина (способ I), а также аминотилированием 2-метилхинолин-4-она хлоридом N,N-диметилимония (способ II). Использование солей иммония позволяет однозначно произвести синтез, повысить выход целевых продуктов по сравнению с обычной реакцией Манниха, а также упрощает проведение самой реакции [66]. Следовательно, способ II является более приемлемым для синтеза гидрохлорида. Полученная соль при кипячении в толуоле в присутствии порошкообразного NaOH легко

вступает в реакцию переаминирования с первичными алифатическими аминами, анилинами и диэтиламино, образуя целевые 3-NR-аминометильные хинолоны. Конец реакции определяют по окончании выделения диметиламина из реакционной среды.

Ключевой интермедиат можно получить при взаимодействии свободного основания с первичными аминами и диэтиламино в кипящем толуоле (способ Б). Однако суммарный выход конечных продуктов по этому способу в пересчете на гидрохлорид оказался значительно ниже выходов синтезов с использованием непосредственно самого гидрохлорида. Это, очевидно, связано с хорошей растворимостью 3-диметиламинотил-2-метил-1Н-хинолин-4-она в воде и в соответствии с потерями соединения на стадии получения свободного основания [66].

Синтез целевого N-бензоилзамещенного N-[(2-метил-4-оксо-1Н-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида осуществлен ацилированием 2-метил-3(фениламинотил)-2-метил-1Н-хинолин-4-она хлорангидридом бензойной кислоты (схема 2.2).

Схема 2.2



Структура и индивидуальность N-[(2-метил-4-оксо-1Н-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида подтверждены методами спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$  и тонкослойной хроматографией.

## 2.2 Фармакологические свойства N-[(2-метил-4-оксо-1Н-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида

Перспективным объектом для фармакологического изучения исследуемая молекула стала на основе результатов комплексного

скринингового исследования психо- и нейротропных свойств, проведенного доцентом кафедры медицинской химии, д. фарм. н. Подольским И.Н.

Скрининг проведен на белых нелинейных мышах в дозах 10 и 100 мг/кг с использованием тестов открытого поля, приподнятого крестообразного лабиринта, ротарод-теста, иммобилизационного теста Порсолта и условной реакции пассивного избегания на фоне скополамин-индуцированной амнезии. В конце скрининга исследовали влияние на продолжительность жизни мышей на модели острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией [67].

Результаты исследования VAZ16\_p06 в тесте открытого поля выявили психотропную неиндифферентность исследуемого соединения. Показано, что влияние на показатель горизонтальной исследовательской активности животных, а именно количество обследованных отверстий, носит дозозависимый характер. Следует заметить, что с животными интактного контроля нет достоверных различий ни у животных, которым вводили дозу 10 мг/кг, ни у животных на фоне дозы 100 мг/кг, однако между собой эти группы достоверно отличались по этому показателю почти на 50 % ( $p < 0,05$ ) (рис. 2.2).

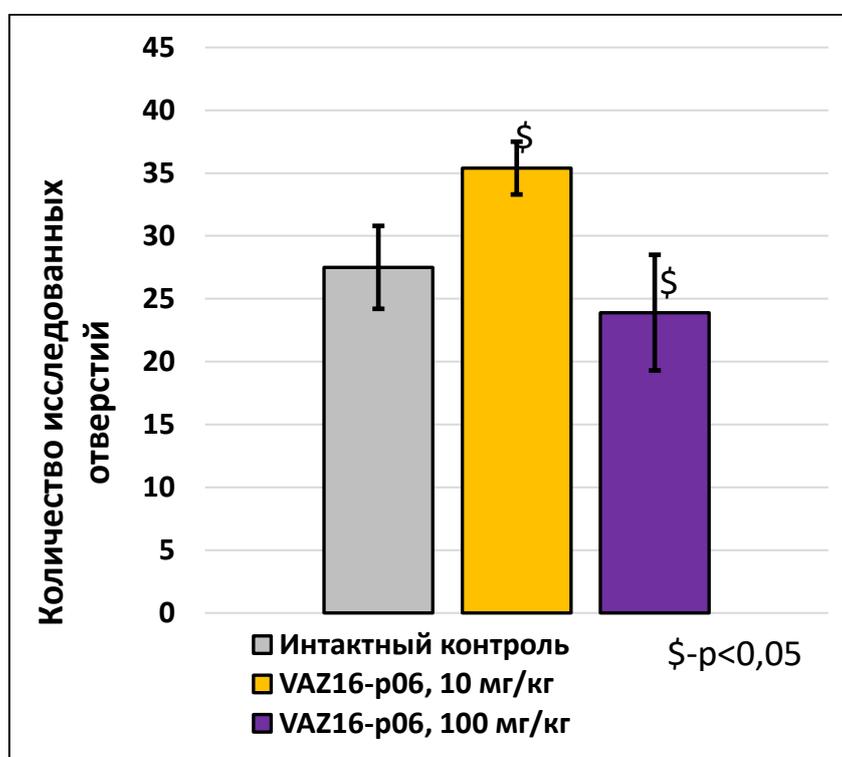


Рис. 2.2 Влияние VAZ16\_p06 на количество обследованных животными отверстий в тесте открытого поля

По результатам теста условной реакции пассивного избегания на фоне скополамин-индуцированной амнезии VAZ16\_p06 только в дозе 100 мг/кг достоверно выявил антиамнестический эффект, а антиамнестическая активность составила 64,4 % ( $p < 0,05$ ). В дозе 10 мг/кг исследуемое вещество также оказывало защитное действие на фоне применения М-холиноблокатора на уровне 52,3 %, однако разница с показателями животных группы контрольной амнезии не достигала достоверного уровня (рис. 2.3).

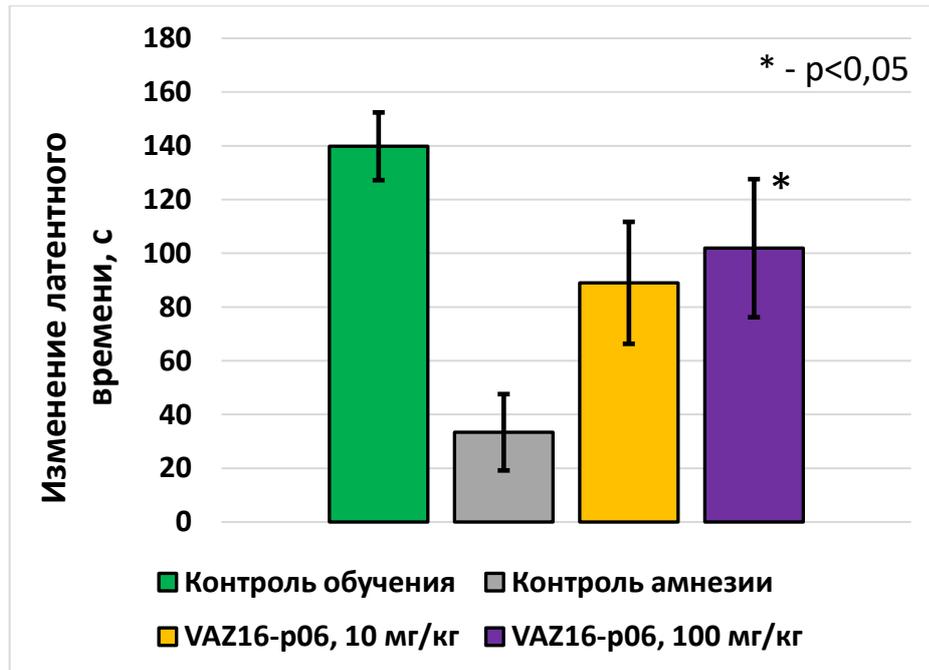


Рис. 2.3 Результаты исследования VAZ16\_p06 в тесте условной реакции пассивного избегания на фоне скополамин-индуцированной амнезии

Анксиолитические свойства VAZ16\_p06 были обнаружены по результатам исследования животных в тесте приподнятого крестообразного лабиринта (рис. 2.4). Животные на фоне дозы 10 мг/кг VAZ16\_p06 почти в 2,1 раза дольше по сравнению с мышами группы интактного контроля находились в освещенных рукавах лабиринта, но вследствие большой дисперсии результатов эти различия не достигали необходимого уровня достоверности, в то же время их можно охарактеризовать как тенденцию. На фоне дозы 100 мг/кг VAZ16\_p06 время пребывания животных достоверно удлинилось в 2,5 раза относительно интактного контроля ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует о значительном влиянии на тревожность подопытных животных.

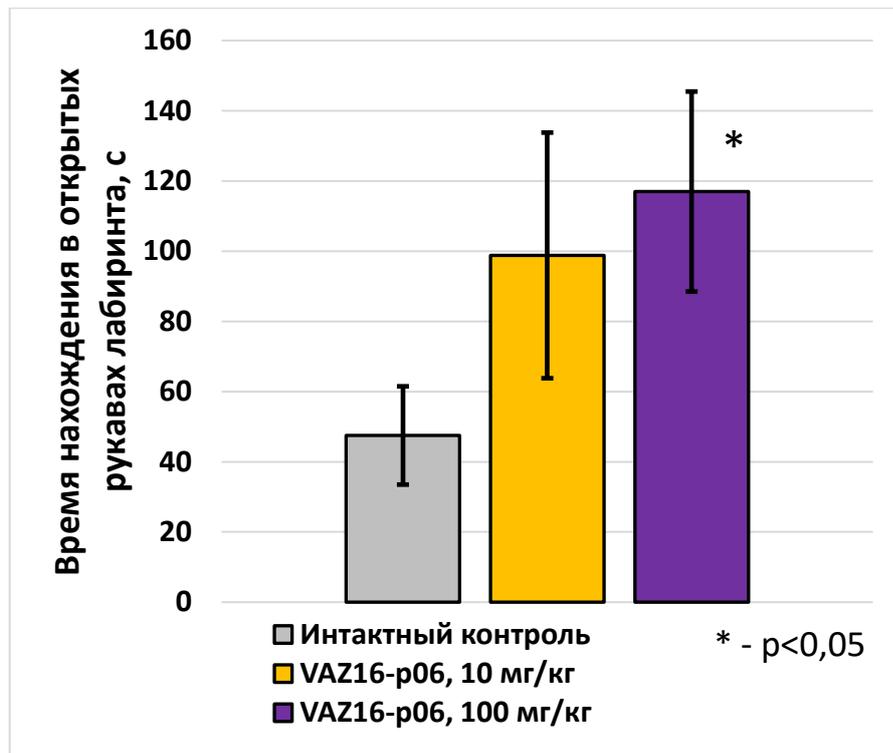


Рис. 2.4 Результаты исследования VAZ16\_p06 в тесте приподнятого крестообразного лабиринта

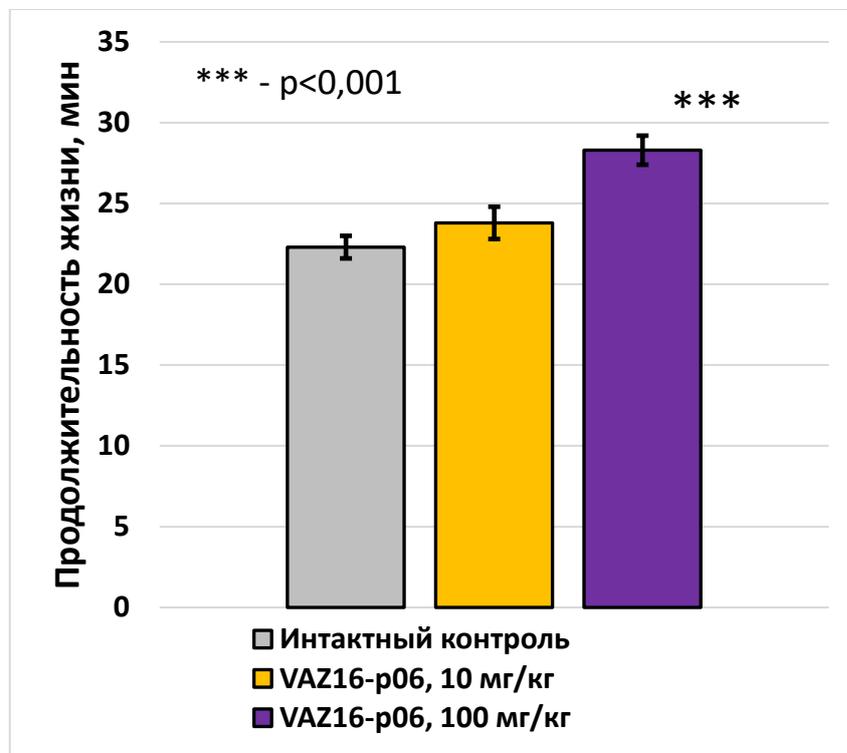


Рис. 2.5 Результаты исследования антигипоксической активности VAZ16\_p06 на модели острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией

Наибольшее внимание привлекают результаты исследования соединения VAZ16\_p06 на модели острой нормобарической гипоксической гипоксии с гиперкапнией (рис. 2.5).

Продолжительность жизни в условиях острой гипоксии животных, получавших дозу VAZ16\_p06 в дозе 10 мг/кг практически не отличалась от таковой у животных интактного контроля. В то же время, на фоне дозы вещества 100 мг/кг, продолжительность жизни животных достоверно удлинялась на 27,3 % ( $p < 0,001$ ), что свидетельствует в пользу мощных антигипоксических свойств исследуемого соединения.

Таким образом, результаты проведенного комплексного скринингового исследования [67] очертили перспективность углубленного исследования VAZ16\_p06 в дозе 100 мг/кг как перспективного антигипоксанта с ноотропными и анксиолитическими свойствами.

### **2.3 Применяемые онлайн системы компьютерного прогнозирования метаболизма**

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

В предыдущей работе, выполненной первым автором в Политехническом институте Ренсселера в лаборатории Курта Бренемана, сообщалось, что Regioselectivity Predictor (RSP) превосходит три других модели прогнозирования CYP SOM по поводу наиболее полного общего набора данных о субстратах и метаболитах CYP. RSP имел среднее значение точности прогнозирования 84% для 680 субстратов, распределенных между девятью специфическими изоферментами CYP [68]. Точность прогнозирования данного метода измеряли с помощью традиционной метрики, согласно которой субстрат считается правильно предусмотренным методом, если любая из его экспериментально проверенных SOM предусмотрена этим методом в двух верхних позициях. RSP строит модель, представляя потенциальные SOM, содержащиеся в наборе известных изоферментных субстратов, с химическими дескрипторами. описывающие

топологическую и электронную информацию на уровне атомов; далее, специальная реализация технологии метода опорных векторов (SVM) используется для вывода модели, которая оптимизирует ранжирование экспериментально проверенных SOM над непроверенными SOM на основе субстратного базиса. Поскольку уровень производительности выше, чем в других общедоступных моделях прогнозирования SOM для наибольшего набора субстратов и метаболитов CYP, алгоритм RSP является хорошей отправной точкой для тех, кто хочет разработать новые более точные методы.

XenoSite – модель прогнозирования CYP SOM, основанная на нейронных сетях, улучшающая RSP разными способами [68]. XenoSite использует наборы субстратов и дескрипторов, созданные RSP, как исходную точку и производит следующие усовершенствования:

1. Разработаны новые дескрипторы уровня молекулы, позволяющие методам машинного обучения внутренне определять, какие атомные дескрипторы наиболее релевантны для конкретного субстрата при прогнозировании.

2. Для построения моделей используются нейронные сети, а не технология SVM, применяемая RSP. Одним из преимуществ нейронных сетей является то, что они имеют гораздо более быстрое время выполнения обучающих моделей, чем SVM. Второе преимущество состоит в том, что их исходный коэффициент вероятности окисления имеет количественное выражение в числовом формате, которое можно трактовать как вероятность, в отличие от SVM RSP, предполагающих лишь ранговое упорядочение SOM, содержащихся в том же субстрате. Оценка SOM, полученная из нейронной сети, существенно коррелирует с вероятностью окисления SOM, тогда как оценка SOM, полученная из ранговых упорядочений RSP, нет. Следовательно, оценки XenoSite служат отражением как для достоверности прогнозирования модели, так и точности прогнозирования. Это значит,

Xenosite использует предварительно собранный набор из 680 субстратов CYP, распределенных между девятью ферментами CYP: 1A2, 2A6, 2B6, 2C8,

2C9, 2C19, 2D6, 2E1 и 3A4. Кроме того, анализируется набор микросом печени человека (HLM), при этом учитываются все 680 субстратов и все наблюдаемые метаболиты, независимо от метаболизирующих изоформ. Этот набор HLM не представляет всех метаболических функций микросом печени, но отражает совокупность известного CYP метаболизма [68].

В молекуле каждый атом, способный метаболizироваться в субстрате CYP, является потенциальным SOM. Каждый атом ассоциирован с вектором чисел, при этом каждое число кодирует химические свойства этого SOM; эти коды химической информации известны как дескрипторы. Затем алгоритмы машинного обучения анализируют эти кодированные дескрипторы SOM, чтобы определить функцию подсчета, предоставляющую экспериментально наблюдаемым CYP-опосредованным SOM высокие баллы, а ненаблюдаемым SOM – низкие баллы. Используется комбинация ранее определенных дескрипторов – топологических (TOP) и квантово-химических (QC) дескрипторов, дескриптора реактивности SMARTCyp (SCR) в дополнение к уточненному подмножеству дескрипторов QC (SQC), молекулярные (MOL) дескрипторы дескрипторы.

Все модели построены с использованием стандартной нейронной сети с пятью скрытыми узлами, откалиброванными с помощью перекрестной проверки без извлечения (LOO) с градиентным спуском на ошибку перекрестной энтропии. Перекрестная проверка LOO в этом случае означает, что все SOM для одного тестового субстрата прогнозируются с использованием моделей, откалиброванных со всеми SOM из остального набора субстратов. Этот процесс повторяется с каждым субстратом, один раз рассматриваемым как тест. Модели, созданные по этому протоколу, дают исходные отметки от 0 до 1, что можно интерпретировать как вероятности. Для каждого тренировочного цикла проводились три случайных повторных запуска, выбирая модель с наилучшей точностью до набора тренировок перед тестированием. Уникальные модели прогнозирования SOM были построены из каждого из 10 наборов подложек из SOM, представленными дескрипторов

TOP и SCR в сочетании с различными комбинациями дескрипторов QC, SQC, MOL и FP. Оптимальные модели XenoSite в среднем имеют точность на 87% для всех анализируемых наборов подложек, уровень производительности на 3 % выше, чем ранее существующего оптимального метода RSP. Это повышение производительности происходит от представления предполагаемых SOM с двумя новыми классами дескрипторов на уровне молекулы и обрезки дескрипторного состава ранее разработанного класса дескрипторов на уровне атома для удаления шума при сохранении сигнала; ни одно из этих усовершенствований не отвечает за полное увеличение точности прогнозирования. уровень производительности на 3 % выше, чем ранее существующего оптимального метода RSP. Это повышение производительности происходит от представления предполагаемых SOM с двумя новыми классами дескрипторов на уровне молекулы и обрезки дескрипторного состава ранее разработанного класса дескрипторов на уровне атома для удаления шума при сохранении сигнала; ни одно из этих усовершенствований не отвечает за полное увеличение точности прогнозирования. уровень производительности на 3 % выше, чем ранее существующего оптимального метода RSP. Это повышение производительности происходит от представления предполагаемых SOM с двумя новыми классами дескрипторов на уровне молекулы и обрезки дескрипторного состава ранее разработанного класса дескрипторов на уровне атома для удаления шума при сохранении сигнала; ни одно из этих усовершенствований не отвечает за полное увеличение точности прогнозирования.

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

Большинство ранее опубликованных методов прогнозирования метаболизма СУР требует экспериментальных данных для создания моделей. Такие данные являются неполными, поскольку они всегда включают участки, которые «ложно отрицательные» (реакционноспособные участки, для которых метаболиты не найдены, так как метаболит найден для еще более

реакционноспособного сайта), и часто включают соединения с отсутствующими метаболитами, что приводит к значительным « шумов» в обучающих данных.

SMARTCyp не требует трехмерных структур молекулы, и хотя он подтвержден экспериментальными данными, его реализация не зависит от них [69]. Идея SMARTCyp состоит в том, что энергии активации CYP, реагирующие с фрагментами лигандов, рассчитанные квантово-химическими методами, являются наилучшей возможной ссылкой на реакционную способность фрагмента. Справочные данные квантово-химических расчетов для веществ имеют очень высокое отношение сигнал/шум, поскольку у данных отсутствуют экспериментальные ошибки или так называемые «ложные негативы». Результаты очень легко интерпретировать, поскольку чем ниже энергии активации, тем больше вероятность того, что сайт будет метаболизирован.

Атомы, не соответствующие какой-либо схеме, не считаются реактивными. Дескриптор доступности A – это коэффициент дескриптора SPAN, как определено Шериданом и др. Он определяется как наибольшее расстояние связи от данного атома, разделенное на самое длинное расстояние связи по всей молекуле. Это мера того, как далеко от 2D центра молекулы расположен атом, и всегда является числом от 0,5 до 1. Следовательно, это не мера доступной площади поверхности, но она описывает, как атомы в конце молекулы, скорее всего, попадают близко к реактивной группе гемма в активном центре CYP. Наконец, оценка S вычисляется для каждого атома как  $S = E - 8A$ , где более низкая оценка указывает на более высокую вероятность быть SOM. Константа 8 выбрана таким образом, что доступность может изменить показатель, что соответствует максимум энергии 4 кДж/моль (что чуть выше среднего стандартного отклонения среди расчетных энергий по нашим правилам составляет 3,2 кДж/моль). Это позволяет несколько менее реактивным атомам оцениваться выше, если их доступность A значительно больше.

Разработка правил SMARTS базируется на наборе данных, состоящем из 475 субстратов цитохрома P450 по литературе. Процедуры определения энергий активации в рамках теории функциональной плотности (DFT), разности энергий между переходным состоянием и комплексом реагента уже описаны. В то время как оригинальная программа SMARTCур базируется на Java с использованием библиотеки Chemistry Development Kit (CDK), SMARTCур 3.0 базируется на Python с помощью библиотеки RDKit. CDK и RDKit воспринимают ароматичность в структуре молекулы по-разному, и соответственно есть разница в том, в каких именно атомах совпадают модели SMARTS, например вследствие разного набора атомов. Для обеспечения обратной совместимости отличия в правилах SMARTS, обнаруженные CDK и RDKit для всех сайтов для тестового набора из 475 субстратов 3A4 были идентифицированы.

Рассчитанные участки можно разделить на шесть различных типов, представляющих один или несколько типов реакций P450. Распределение энергий активации довольно сильно варьируется между разными типами, при этом десульфирование фосфора и S-окисление дает самые низкие энергии, а N-окисление и N-деалкилирование пептидных групп дают самые высокие энергии. Для получения энергий активации вычисляется этап реакции с наибольшей энергией активации в ответных реакциях. Для реакций алифатического гидроксирования, гидроксирования альдегида и деалкилирования это абстракция водорода из атома углерода, тогда как для других типов реакций это атака кислорода на соответствующий атом.

Одной из новых функций, реализуемых в SMARTCур 3.0, является функция «Сходство», которая на основе «отпечатков пальцев Моргана» сравнивает сходство согласованной подструктуры с полным фрагментом молекулы, для которого был произведен расчет DFT. Оценка «1,0» указывает на идеальное совпадение, тогда как оценка «0,0» означает отсутствие соответствующего фрагмента, что означает, что атом либо не считается

реактивным, либо предназначенная реакционная способность не базируется на расчетных данных, а следовательно, не столь надежна [69].

Тот факт, что SMARTCyp работает достаточно хорошо, показывает, что реактивность является основным фактором метаболизма CYP 3A4 и подчеркивает важность использования точных методов для формирования правил реактивности. SMARTCyp хорошо обнаруживает соединения с метаболическим положением, занимающим наивысшее место, в частности, потому что это чистый 2D-метод, который дает очень быстрый прогноз. Два основных преимущества метода заключаются в том, что создание метода придает физический смысл и низкое отношение сигнал/шум во входных данных. Оба вытекают из того, что модель реакционной способности вычисляется на основе высококвалифицированных квантово-химических расчетов энергии активации для реакций окисления. Другие методы часто используют большее количество дескрипторов, что приводит к значительному количеству шумов во входных данных и относительное влияние дескрипторов часто трудно понять.

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

Для определения SOM подходы машинного обучения обязаны учесть главные механизмы деяния ферментов. Но не всегда такая информация доступна и результаты прогнозирования SOM можно правильно интерпретировать для понимания структуры продуктов реакций. Например, во многих случаях исследователи предпочитают рассматривать атом отходящего карбона группы, прилегающей к нитрогену, как SOM для N-деалкилирования. Это предположение базируется на механизме абстракции атома водорода, но не учитывает другие возможные одноэлектронные механизмы переноса реакции N-деалкилирования [70]. Мы рассматриваем нитроген как «реагирующий атом» при реакции N-деалкилирования. Другая проблема с неопределенностью обнаружения участка молекулы, атакуемого цитохромами P450, связана с механизмом ароматического гидроксирования, который может быть реализован образованием эпоксидного промежуточного продукта

или «сдвигом NIH». Поэтому непосредственное определение SOM для создания учебных наборов в подходах машинного обучения проблематично, а интерпретация предполагаемых результатов неоднозначна.

В подходе Way2Drug SOMP и RA [70] не пытаются смоделировать или имитировать гипотетический процесс образования промежуточных соединений, реализуемый P450. Используется только известная информация о структурах субстрата и метаболита реакций для создания тренировочных наборов для прогнозирования атомов реагирующих девяти классов реакций. В подходе Way2Drug SOMP и RA рассматриваются классы реакций алифатического и ароматического гидроксирования, N-, S- и C-окисления, N- и O-деалкилирования, которые, согласно базе данных Biovia Metabolite [70], охватывают примерно 70% всех реакций, катализированных пятью основными изоферментами P450 (CYP1A2, CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19). Кроме того, рассматриваются реакции N- и O-глюкуронирования, охватывающие почти все реакции, катализируемые семейством УДФ-глюкуронилтрансфераз.

Использование термина «реагирующий атом» и рассмотрение его как участка молекулы субстрата, к которому прилагается (или из которого он удаляется) конкретный структурный фрагмент, позволяет идентифицировать структуры метаболитов по прогнозу реагирующего атома. Структурные фрагменты, прилагаемые к реакционноспособным атомам, включают гидроксильную (реакции гидроксирования), карбонильную или карбоксильную (реакции окисления C), гидроксильную или оксогруппу (N- и S-реакции окисления) и глюкуронильные (реакции глюкуронирования). В случае реакций деалкилирования алкильная группа рассматривается как фрагмент, удаляемый от реагирующего атома, представленного кислородом или азотом [70].

В подходе Way2Drug SOMP и RA реагирующие атомы автоматически определены в каждой структуре субстрата из выбранных биотрансформаций. Для автоматической идентификации реагирующих атомов используются

библиотеки APGL и python-igraph [70]. Первоначально обнаруживаются все субизоморфизмы между субстратом и продуктом. Затем алгоритм проверяет, связана ли графическая разница структур субстрата и продукта реакции с изучаемым процессом. Если это так, то ищут атомы с измененным количеством соседей в изоморфном окружении. Реакции окисления катализируются цитохромами P450 и в основном реализуются путем окисления гетероатомами (N- и S-окисления) или гидроксирования карбона (алифатическое или ароматическое гидроксирование). Под реакцией алифатического гидроксирования понимают гидроксирование атома карбона, не входящего в состав ароматических колец. В случае реакций окисления C рассматривается образование карбонильных или карбоксильных групп. N- и O-глюкуронирование катализируется УДФ-глюкуронозилтрансферазами.

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

BioTransformer – программное средство с открытым доступом и веб-сервис со свободным доступом для точного и всестороннего прогнозирования метаболизма *in silico* и идентификации метаболитов [71].

BioTransformer состоит из инструмента прогнозирования метаболизма (BMPT) и инструмента идентификации метаболитов (BMIT). BMPT состоит из пяти независимых модулей прогнозирования, называемых «трансформерами», а именно:

- 1) трансформер на основе направленности фермента;
- 2) трансформер CYP450 (фаза I);
- 3) трансформер фазы II;
- 4) трансформер микробиоты кишечника человека;
- 5) трансформер микробной окружающей среды.

Для прогнозирования метаболитов BioTransformer применяет два подхода – подход, основанный на правилах или знаниях, и подход машинного обучения. Система, основанная на знаниях, в BioTransformer состоит из трех основных компонентов: (1) база данных о биотрансформации (называемая

MetXBioDB), содержащая подробные аннотации экспериментально подтвержденных метаболических реакций, (2) база знаний о реакциях, содержащая общие правила биотрансформации, правила преимуществ и другие ограничения для прогнозирования метаболизма и (3) механизм отбора, реализующий как общие, так и специфические для трансформера алгоритмы прогнозирования и отбора метаболитов. Система машинного обучения VMPT использует набор случайных моделей прогнозирования лесов и ансамблей для прогнозирования селективности субстрата CYP450 и фильтрации молекул фазы II.

MetXBioDB – это база данных, состоящая из коллекции более 2000 экспериментально подтвержденных биотрансформаций, полученных из литературы. Он был разработан для помощи в: (1) разработке правил биотрансформации, (2) обучении и подтверждении моделей прогнозирования метаболизма машинного обучения и (3) разработке правил преимуществ. Каждая биотрансформация в MetXBioDB включает исходный реагент (структуру и идентификаторы), продукт реакции (структуру и идентификаторы), название или тип фермента, катализирующего биотрансформацию, тип реакции и одно или несколько цитат. Для целей настоящей статьи реагент определяется как небольшая молекула, которая связывается с определенным ферментом и претерпевает метаболическую трансформацию, катализируемую этим ферментом. Биотрансформация описывает химическое превращение или молекулярное превращение реагента в один или несколько продуктов посредством определенного фермента (или класса ферментов) посредством определенной химической реакции. Ферменты цитохрома P450 (CYP450s) отвечают за >90% окислительных реакций фазы I и >75% метаболизма лекарственных средств, тогда как УДФ-глюкуроносилтрансферазы (UGT) и сульфотрансферазы (SULT) отвечают за метаболизм фазы II большинства ксеноби. В микробиоте кишечника ферментативные реакции в большинстве случаев восстановимы и осуществляются анаэробными бактериями из-за очень низкой концентрации

кислорода. тогда как УДФ-глюкуроносилтрансферазы (UGT) и сульфотрансферазы (SULT) отвечают за метаболизм фазы II большинства ксенобиотиков [71]. В микробиоте кишечника ферментативные реакции в большинстве случаев восстановимы и осуществляются анаэробными бактериями из-за очень низкой концентрации кислорода. тогда как УДФ-глюкуроносилтрансферазы (UGT) и сульфотрансферазы (SULT) отвечают за метаболизм фазы II большинства ксенобиотиков [71]. В микробиоте кишечника ферментативные реакции в большинстве случаев восстановимы и осуществляются анаэробными бактериями из-за очень низкой концентрации кислорода.

База знаний о реакции BioTransformer содержит описания химических реакций и правила, закодированные строками SMARTS и SMIRKS, которые используются механизмом отбора для прогнозирования биотрансформации. Эта база знаний кодирует информацию о пяти различных понятиях и содержит данные, отражающие: (1) биосистему, (2) метаболический фермент, (3) метаболическую реакцию, (4) метаболический путь и (5) химический класс.

Система обоснования VMPT использует правила в базе знаний о реакциях, чтобы выбрать наиболее вероятную из всех применимых метаболических биотрансформаций или путей. В целом, для отбора и ранжирования предполагаемых метаболитов используются два типа соображений: абсолютные и относительные [71]. Абсолютные соображения сосредоточены исключительно на вероятности биотрансформации и используются для выбора биотрансформаций с коэффициентом встречаемости выше заданного порога.

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

GLORY включает в себя новый набор правил реакции для CYP-опосредованного метаболизма, благодаря чему общие типы реакций отличаются от более необычных реакций [72]. Важно, что GLORY исследовал, как прогнозирование SoM может быть эффективно использовано в контексте прогнозирования структуры метаболитов.

Программное обеспечение для прогнозирования SoM, применявшееся в GLORY, было FAME 2 – программа прогнозирования SoM на основе машинного обучения, использующая чрезвычайно рандомизированные классификаторы деревьев в сочетании с двумерными (2D) круговыми дескрипторами для прогнозирования SoM для метаболизма, опосредованного CYP. С момента разработки GLORY стала доступна преемница FAME 2. FAME 3 продолжает использовать концепцию дополнительных классификаторов деревьев и двумерных круговых дескрипторов, разработанную в FAME 2, и применяет этот подход для создания всесторонних моделей прогнозирования SoM как для метаболизма фазы 1, так и для фазы 2.

На основе расширенного подхода, разработанного в GLORY, создан новый инструмент, который называется GLORYx, сочетающий прогнозирование SoM с набором правил реакции для прогнозирования метаболитов как метаболизма фазы 1, так и фазы 2. GLORYx использует FAME 3 для прогнозирования SoM, результаты которой применяются для оценки и ранжирования предполагаемых метаболитов. По сравнению с GLORY GLORYx требует большего количества правил реакций, чтобы охватить метаболические реакции фазы 1, не являющиеся CYP, а также метаболические реакции фазы 2. GLORYx находится в свободном доступе через веб-сервер по адресу <https://nerdd.zbh.uni-hamburg.de/>.

Справочный набор данных по сочетанным парам метаболитов был составлен из свободно доступных данных метаболизма в базах данных DrugBank и MetXBioDB, чтобы служить основой для оценки метода при разработке GLORYx. Для каждой метаболической реакции в любой базе данных реагент считался исходной молекулой, а продукт метаболитом. Итак, эталонный набор данных представлен в формате карты каждой материнской молекулы к ее метаболитам первого поколения, независимо от того, является ли материнская молекула сама метаболитом другой молекулы.

GLORYx применяет правила реакции ко всем соответствующим положениям в молекуле, что определяется тем, где совпадает каждое правило реакции SMIRKS, если оно вообще соответствует. В рамках программы основные показатели прогнозируются с помощью FAME 3, а прогнозируемые вероятности используются для оценки и ранжирования предполагаемых метаболитов. Программное обеспечение написано на Java и использует CDK версии 2.0. GLORYx выполняет начальный этап предварительной обработки для всех входных молекул, чтобы проверить, может ли входная молекула успешно анализироваться CDK, не имеет нескольких компонентов и не содержит других типов элементов, кроме C, N, S, O, H, F, Cl, Br, I, P, B и Si (разрешены типы элементов FAME 3). Если какая-либо из этих проверок не удастся, для входной молекулы не делаются прогнозы [72].

Прогнозирование SoM в GLORYx выполняется с помощью FAME 3. FAME 3 учится на основе данных SoM из базы данных MetaQSAR и предлагает три модели прогнозирования SoM:

- 1) модель P1 прогнозирует SoM, соответствующие метаболическим реакциям фазы 1;
- 2) модель P2 прогнозирует SoM, соответствующие метаболическим реакциям фазы 2;
- 3) модель P1+P2 прогнозирует SoM, соответствующие обеим фазам метаболизма.

Код FAME 3 включает предварительную обработку входных молекул, включающую стандартизацию нитрогрупп, обнаружение ароматичности и автоматическое добавление водорода, если водные входные молекулы явно не указаны. Поскольку этап предсказания SoM происходит перед применением правил реакции в рамках программы GLORYx, стандартизация описанных здесь молекул остается на месте следующего этапа трансформации.

Правила реакции используются с внедрением Ambit-SMIRKS. Что касается GLORY, то любой продукт, содержащий менее трех тяжелых атомов, не входит в набор предполагаемых метаболитов. Для того чтобы правильно

применить правила реакции, то есть достичь тех же предполагаемых метаболитов, что и SyGMa, используя те же правила, необходимо было использовать модель ароматичности, которая могла бы распознать ароматичность в кольцах с экзоциклическими гетероатомами.

В GLORYx весовой коэффициент 1 используется для правил реакции, обозначенных как "общие", а коэффициент веса 0,2 используется для правил реакций, обозначенных как "необычные". Таким образом, эти весовые коэффициенты поддерживают то же соотношение 5:1, но масштабируются таким образом, что конечный балл приоритета больше отражает вероятностную концепцию, значения которых варьируются от 0 до 1.

## **Выводы к разделу 2**

1. Приведены методы синтеза N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида (лабораторный шифр VAZ16\_p06).

2. Обоснована перспективность углубленного фармакологического изучения VAZ16\_p06 как потенциального антигипоксанта с анксиолитическими и ноотропными свойствами.

3. Обоснован выбор и проведен анализ расчетных алгоритмов применяемых в работе онлайн систем компьютерного прогнозирования возможных путей метаболизма в организме человека.

### РАЗДЕЛ 3. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ВОЗМОЖНЫХ ПУТЕЙ БИОТРАНСФОРМАЦИИ ПОТЕНЦИОННОГО АНТИГИПОКСАНТА С НООТРОПНЫМИ И АНКСИОЛИТИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ

В целях прогнозирования возможных путей биотрансформации перспективного соединения – N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида (лабораторный шифр VAZ16\_p06), применено пять различных онлайн ресурсов, которые находятся в свободном доступе, а именно:

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

По результатам прогнозирования возможных путей метаболизма VAZ16\_p06 с помощью онлайн сервиса Xenosite наиболее вероятными направлениями биотрансформации молекулы является ароматическое гидроксильное как гетероциклической системы, так и фенильного, и бензамидного фрагментов (рис. 3.1). При этом ароматическая часть хинолонового цикла является наиболее реакционноспособной, особенно положение 6, независимо от изоформы СУР, для которой производились расчеты. Наименьшую вероятность прогнозирования имеет бензамидный фрагмент молекулы. В фенильном заместителе наибольшие показатели независимо от изоформы СУР имеет *para*-положение, что полностью соответствует закономерностям органической химии относительно распределения электронной плотности в молекуле.

Обращает на себя внимание тот факт, что, согласно расчетам, все изоформы СУР могут с невысокой, но значимой вероятностью катализировать алифатическое гидроксильное метильной группы в положении 2 хинолонового цикла (рис. 3.1).

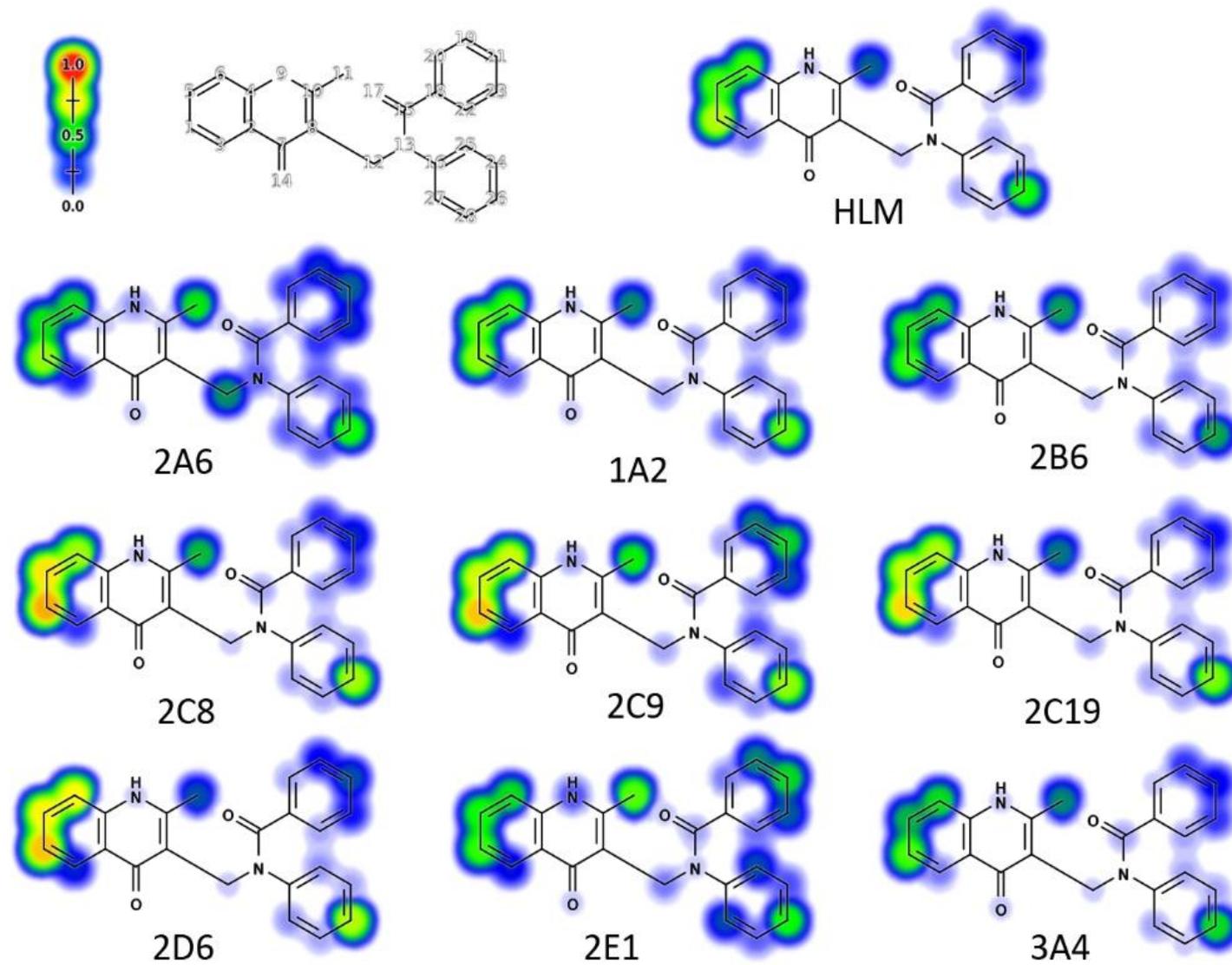


Рис. 3.1 Результаты прогнозирования возможных путей метаболизма VAZ16\_p06 с помощью онлайн сервиса Xenosite

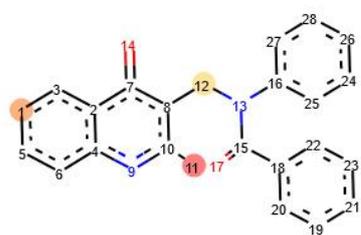
В результате дальнейшего окисления гидроксиметильной группы до карбоксильной прогнозируется образование генерации метаболитов с новыми фармакологическими свойствами – производных кинуреновой кислоты. Кинуреновая кислота (4-гидроксихинолин-2-карбоновая кислота) является метаболитом триптофана и образуется из кинуренина под действием кинуренин-аминотрансферазы [73]. Это соединение в головном мозге выступает эндогенным антагонистом глицинового сайта NMDAR, что обуславливает интерес к кинуреновой кислоте как потенциальному фармакоректору патологических состояний, сопровождающихся и отягощающихся эксайтотоксичностью. Значительной проблемой при исследованиях *in vivo* стала незначительная проницаемость указанной молекулы сквозь гематоэнцефалический барьер [73], поэтому усилия исследователей сосредоточились на ее химической модификации с целью поиска производных кинуреновой кислоты с физико-химическими свойствами, способными преодолеть это ограничение.

Следовательно, результаты расчетов свидетельствуют о том, что часть эффектов фармакодинамики VAZ16\_p06, в частности его антигипоксические и антиамнестические свойства, могут быть связаны не только с прямым действием соединения на определенные рецепторные системы головного мозга, но и с активными метаболитами, образующимися в результате биотрансформации.

Анализ результатов прогнозирования с помощью онлайн системы SMARTCyp показал, что различные изоформы CYP могут катализировать гидроксирование по разным положениям (рис. 3.2, 3.3 и 3.4).

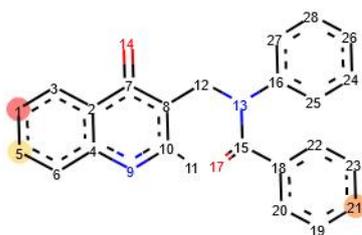
При участии изоформы CYP3A4 наиболее вероятными направлениями биотрансформации VAZ16\_p06 являются гидроксирование метильной группы в положении 2 хинолонового цикла, положение 6 ароматической системы гетероцикла и *para*-положение фенильного заместителя в аминометильном фрагменте. Если ароматическое гидроксирование с точки зрения фармакологической активности метаболитов вряд ли интересно, то

алифатическое гидрокселирование метильной группы вновь открывает перспективу дальнейшего окиснения до биологически активных производных кинуреновой кислоты.



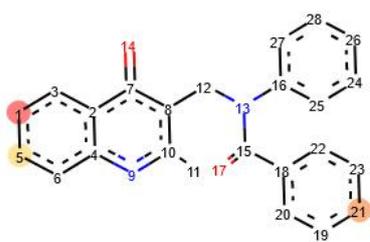
3A4 Ranking	Atom	3A4 Score	Energy	2DSASA	Span2end	Relative Span	Similarity
1	C.11	58.2	66.4	54.4	3	0.8	0.7
2	C.1	59.6	68.2	32.7	1	0.9	1.0
3	C.12	61.9	66.4	12.4	6	0.5	0.4
4	N.9	69.1	75.6	13.5	3	0.8	0.3
5	C.21	71.4	80.8	36.2	0	1.0	1.0
6	C.5	71.5	80.8	33.5	0	1.0	1.0
7	C.20	73.0	80.8	27.8	2	0.8	0.7
8	C.3	73.1	80.8	26.9	2	0.8	1.0
9	C.26	77.5	86.3	36.2	1	0.9	1.0
10	C.19	77.6	86.3	33.5	1	0.9	1.0
11	C.6	77.8	86.3	28.5	1	0.9	1.0
12	C.24	78.3	86.3	33.5	2	0.8	1.0

Рис. 3.2 Результаты прогнозирования возможных путей метаболизма VAZ16\_p06 с участием CYP3A4 (программный комплекс SMARTCyp)



2C9 Ranking	Atom	2C9 Score	Energy	2DSASA	Span2end	COO-Dist	Similarity
1	C.1	72.8	68.2	32.7	1	0	1.0
2	C.21	79.4	80.8	36.2	0	0	1.0
3	C.5	79.5	80.8	33.5	0	0	1.0
4	C.11	81.9	66.4	54.4	3	0	0.7
5	C.12	89.6	66.4	12.4	6	0	0.4
6	C.26	90.8	86.3	36.2	1	0	1.0
7	C.19	90.9	86.3	33.5	1	0	1.0
8	C.6	91.1	86.3	28.5	1	0	1.0
9	C.20	91.5	80.8	27.8	2	0	0.7
10	C.3	91.5	80.8	26.9	2	0	1.0
11	N.9	92.8	75.6	13.5	3	0	0.3
12	C.24	96.8	86.3	33.5	2	0	1.0

Рис. 3.3 Результаты прогнозирования возможных путей метаболизма VAZ16\_p06 с участием CYP2C9 (программный комплекс SMARTCyp)



2D6 Ranking	Atom	2D6 Score	Energy	2DSASA	Span2end	N+dist	Similarity
1	C.1	73.6	68.2	32.7	1	0	1.0
2	C.21	79.4	80.8	36.2	0	0	1.0
3	C.5	79.5	80.8	33.5	0	0	1.0
4	C.11	84.3	66.4	54.4	3	0	0.7
5	C.26	91.6	86.3	36.2	1	0	1.0
6	C.19	91.7	86.3	33.5	1	0	1.0
7	C.6	91.9	86.3	28.5	1	0	1.0
8	C.12	92.8	66.4	12.4	6	0	0.4
9	C.20	93.1	80.8	27.8	2	0	0.7
10	C.3	93.1	80.8	26.9	2	0	1.0
11	N.9	95.2	75.6	13.5	3	0	0.3
12	C.24	98.4	86.3	33.5	2	0	1.0

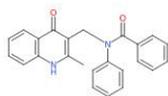
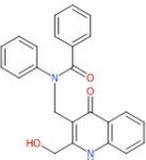
Рис. 3.4 Результаты прогнозирования возможных путей метаболизма VAZ16\_p06 с участием CYP2D6 (программный комплекс SMARTCyp)

Результаты прогнозирования возможных путей метаболизма VAZ16\_p06 при участии CYP2C9 и CYP2D6 указывают на преимущественно ароматическое гидроксирование положений 6 и 7 хинолонового цикла, а также *para*-положение фенильного заместителя в аминотильном фрагменте (рис. 3.3 и 3).

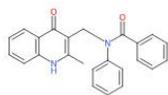
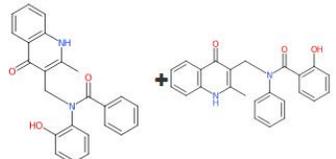
На рис. 3.5 приведен фрагмент протокола прогнозирования возможных путей метаболизма VAZ16\_p06 посредством онлайн системы Biotransformer. В общей сложности системой рассчитана возможность образования 16 разнообразных метаболитов, подавляющее большинство из которых являются продуктами ароматического гидроксирования по разным положениям как гетероциклической системы хинолона, так и фенильного, и бензамидного фрагментов. Это вполне предсказуемо с учетом биохимической природы процессов, катализирующих ферменты CYP. Но среди прогнозируемых метаболитов есть также 2-гидроксиметильное производное, являющееся продуктом алифатического гидроксирования реакционноспособной метильной группы в положении 2 хинолонового кольца.

BioTransformer About Contact Help

**Reaction Type:** Aliphatic hydroxylation of methyl carbon adjacent to aromatic ring (BTMR1058)  
**Biosystem:** Human

**Reaction Type:** Hydroxylation of benzene on carbon ortho to an electron donating group (BTMR1045)  
**Biosystem:** Human

**Reaction Type:** Hydroxylation of benzene on carbon ortho to a strongly electron donating group (BTMR1046)  
**Biosystem:** Human

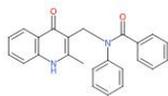
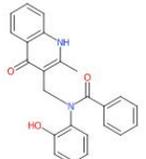
   

Рис. 3.5 Фрагмент протокола прогнозирования возможных путей метаболизма VAZ16\_p06 с помощью онлайн системы Biotransformer

Итак, основные направления прогнозирования с помощью системы Biotransformer, несмотря на отличия в алгоритмах расчетов, совпадают с результатами предыдущих программ.

Анализ прогнозируемых метаболитов VAZ16\_p06 с помощью онлайн системы GLORYx подтверждает, что основными путями метаболических превращений исследуемой молекулы является ароматическое гидроксילирование (рис. 3.6).

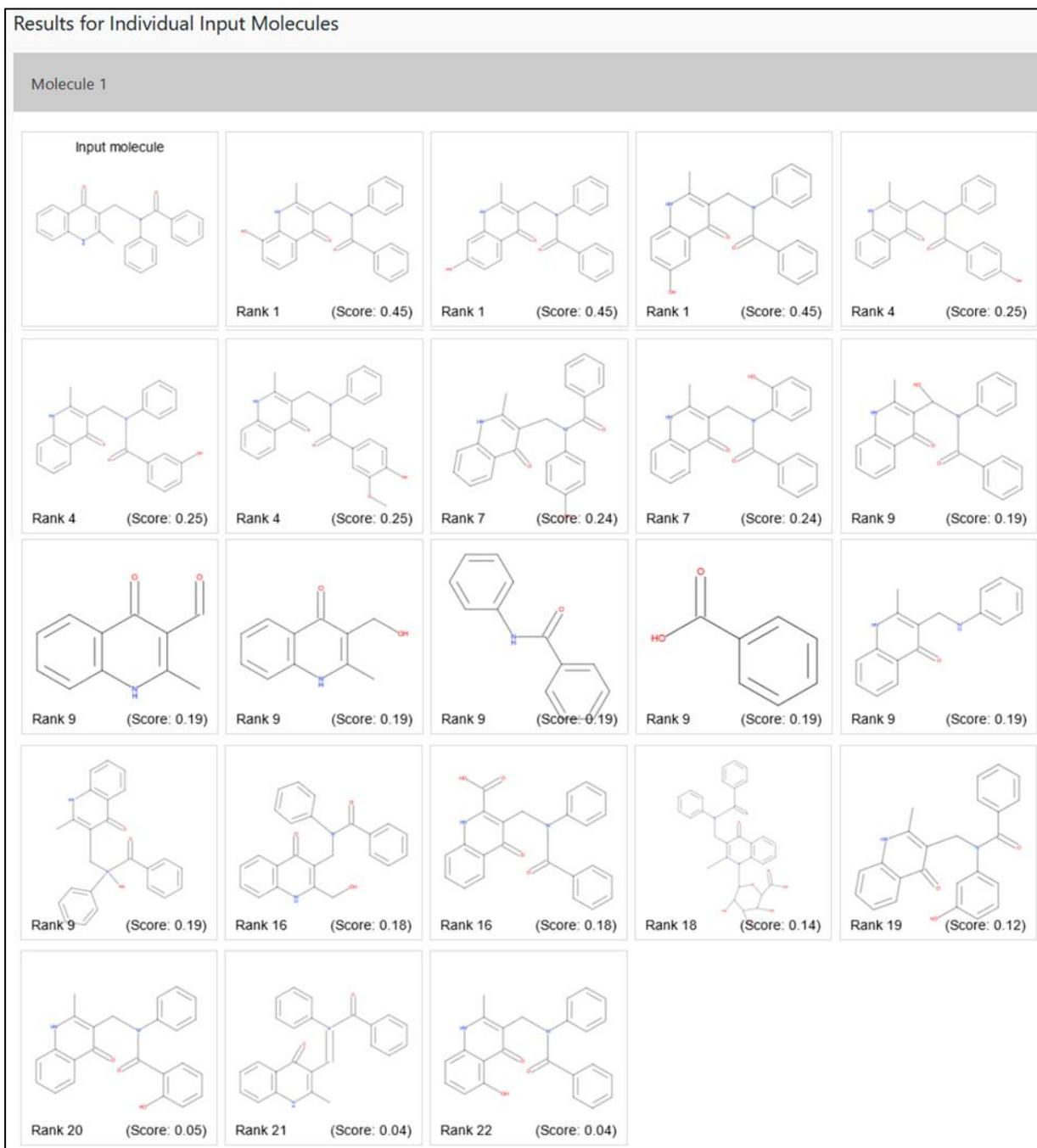


Рис. 3.6 Результаты прогнозирования возможных путей метаболизма VAZ16\_p06 с помощью онлайн системы GLORYx

Следует подчеркнуть, что в расчетах широко представлен путь N-деалкилирования в аминотетильном фрагменте молекулы с образованием соответствующего 3-гидроксиметилзамещенного хинолин-4-она, а при дальнейшем окислении – альдегида и кислоты. Среди прогнозируемых метаболитов системы GLORYx также представлено 2-гидроксиметильное производное, являющееся продуктом алифатического гидроксирования реакционноспособной метильной группы в положении 2 хинолонового кольца. Но в данном случае прогнозируется образование еще одного фармакологически активного метаболита – 2-метил-3-(фениламинотетил)-2-метил-1H-хинолин-4-она (лабораторное название «Атристамин»), достаточно продолжительное время изучаемый на кафедре медицинской химии как перспективный антидепрессант с полимодальным влиянием на ЦНС, в частности, антигипоксическими, церебропротекторными и ноотропными свойствами [74].

Одними из наиболее информативных результаты прогнозирования с помощью онлайн сервиса Way2Drug RA, которые графически представлены на рис. 3.7. Этот онлайн-программный продукт предоставляет только показатели вероятности реализации того или иного процесса, поэтому визуализация полученных результатов требует определенного экспертного понимания характера процессов для экстраполяции конкретных процессов в отношении исследуемого соединения.

Как можно увидеть из рис. 3.7, основными путями прогнозируются варианты ароматического гидроксирования с участием атомов карбона как гетероциклической системы хинолона, так и фенильного, и бензамидного фрагментов. Особенно реакционноспособным в аспекте ароматического гидроксирования является положение 6 системы хинолин-4-она (рис. 3.7). Также наблюдаются обсуждаемые выше метаболиты с новыми фармакологическими свойствами, что совпадает с расчетами системы GLORYx в аспекте образования, кроме конечных продуктов окисления по метильной группе в положении 2 гетероцикла (производных кинуреновой кислоты), еще и 2-метил-3-(фениламинотетил)-2-метил-1H-хинолин-4-она (атристамина).

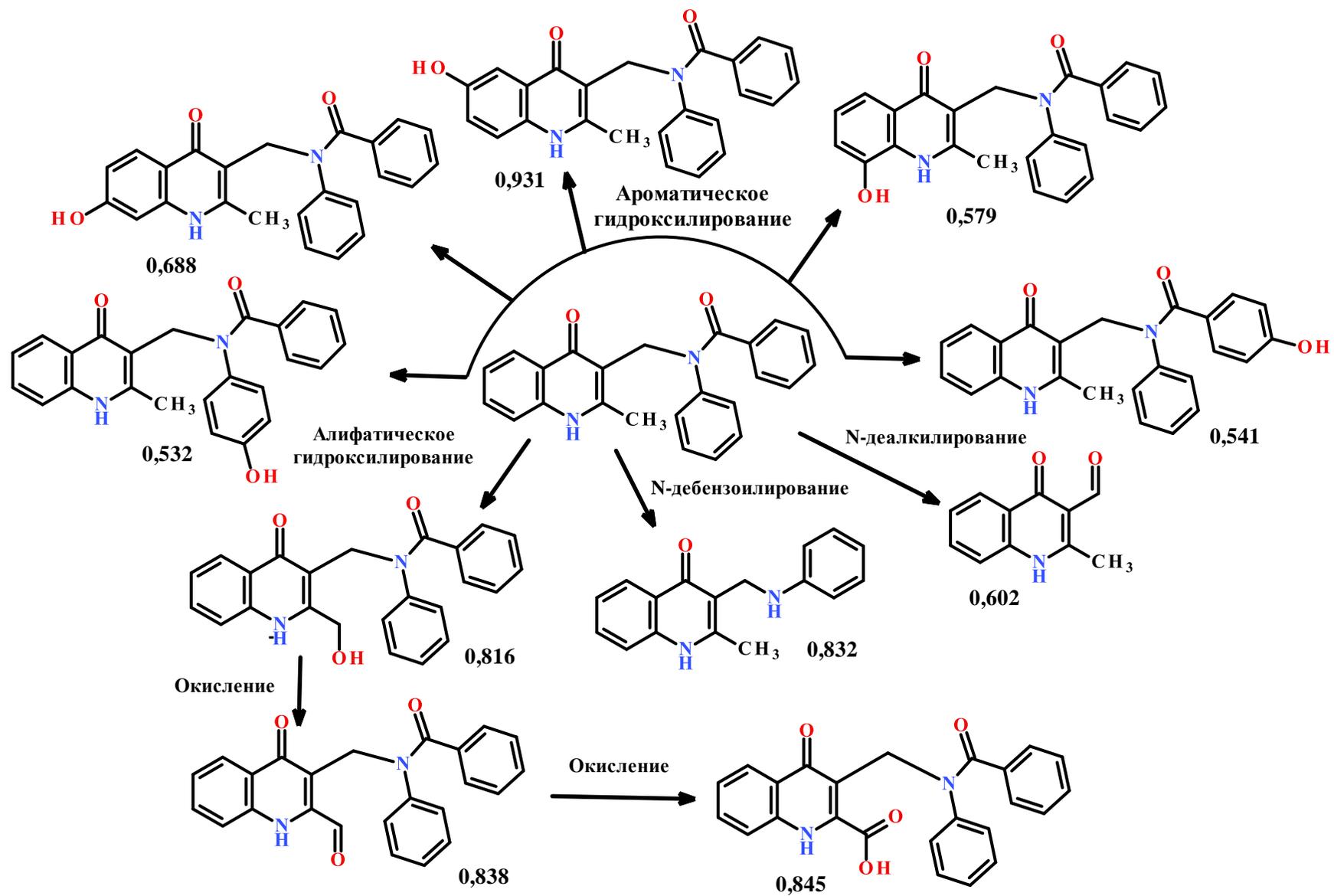


Рис. 3.7 Результаты прогнозирования возможных путей метаболизма VAZ16\_r06 посредством системы Way2Drug RA



хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида может интенсивно метаболизироваться с участием ферментных систем цитохрома P450. Основными направлениями можно считать ароматическое гидроксирование молекулы исследуемого вещества с участием атомов карбона как гетероциклической системы хинолона, так и фенильного, и бензамидного фрагментов. В данном случае прогнозируемые метаболиты вряд ли оказывают существенное влияние на общий профиль фармакологической активности материнской молекулы. Тем не менее, возможные направления алифатического гидроксирования по метильной группе в положении 2 гетероцикла к производным кинуреновой кислоты и дебензоилированию с образованием 2-метил-3-(фениламинометил)-1H-хинолин-4-она (атристамина) свидетельствуют в пользу предположения, что доказаны эффекты. VAZ16\_p06 могут, по крайней мере, частично, обеспечиваться именно этими фармакологически активными метаболитами.

Результаты, полученные указанными системами, несколько отличаются между собой, что вполне объясняется разницей в алгоритмах расчетов, положенных в основу. Но общие закономерности биотрансформационных преобразований полностью совпадают и полностью укладываются в современные взгляды медицинской химии по поводу реакционной способности ксенобиотиков под влиянием ферментных систем цитохрома P450 организма человека.

### **Выводы к разделу 3**

1. Проведено компьютерное прогнозирование возможных путей биотрансформации перспективного соединения – N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида (лабораторный шифр VAZ16\_p06) с применением пяти различных онлайн ресурсов, находящихся в свободном доступе.

2. Полученные результаты свидетельствуют о том, что молекула N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида может интенсивно метаболизироваться с участием ферментных систем цитохрома P450.

3. Наиболее вероятными путями метаболизма исследуемого соединения является ароматическое гидроксирование с участием атомов карбона как гетероциклической системы хинолона, так и фенильного, и бензамидного фрагментов.

4. Прогнозируемые направления алифатического гидроксирования по метильной группе в положении 2 гетероцикла до производных кинуреновой кислоты и дебензоилирования с образованием 2-метил-3-(фениламинометил)-1H-хинолин-4-она (атристамина) свидетельствуют в пользу предположения, что доказанные биологические эффекты молекулы могут частично обеспечиваться именно этими фармакологически активными метаболитами.

## ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Проведена систематизация и анализ научной литературы, посвященной основным математическим и статистическим подходам и методам, применяемым для прогнозирования возможных путей метаболизма химических веществ в организме человека. Проведенный анализ подтверждает перспективность применения программного обеспечения для прогнозирования возможных метаболитов потенциального лекарственного средства на ранних этапах его исследования.

2. Приведены методы синтеза N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида (лабораторный шифр VAZ16\_p06). Обоснована перспективность углубленного фармакологического изучения VAZ16\_p06 как потенциального антигипоксанта с анксиолитическими и ноотропными свойствами. Обоснован выбор и проведен анализ расчетных алгоритмов применяемых в работе онлайн систем компьютерного прогнозирования возможных путей метаболизма в организме человека.

3. Проведено компьютерное прогнозирование возможных путей биотрансформации перспективного соединения – N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида (лабораторный шифр VAZ16\_p06) с применением пяти различных онлайн ресурсов.

4. Полученные результаты свидетельствуют о том, что молекула N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида может интенсивно метаболизироваться с участием ферментных систем цитохрома P450. Наиболее вероятными путями метаболизма исследуемого соединения является ароматическое гидроксирование с участием атомов карбона как гетероциклической системы хинолона, так и фенильного, и бензамидного фрагментов.

5. Прогнозируемые направления алифатического гидроксирования по метильной группе в положении 2 гетероцикла до производных кинуреновой кислоты и дебензоилирования с образованием 2-метил-3-(фениламинометил)-1H-хинолин-4-она (атристамина) свидетельствуют в пользу предположения, что доказанные биологические эффекты молекулы могут частично обеспечиваться именно этими фармакологически активными метаболитами.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Ellis L. B., Hou B. K., Kang W., Wackett L. P. The University of Minnesota biocatalysis/biodegradation database: post-genomic data mining. *Nucleic Acids Res.* 2016. Vol. 31, № 1. P. 262–265.
2. Lewis D. F., Jacobs M. N., Dickins M. Compound lipophilicity for substrate binding to human P450s in drug metabolism. *Drug Disc. Today.* 2014. Vol. 9, № 12. – P. 530–537.
3. Fuhr U., Strobl G., Manaut F. Quinolone antibacterial agents: relationship between structure and *in vitro* inhibition of human cytochrome P450 isoform CYP1A2. *Molecular Pharmacology.* 2018. Vol. 43. P. 191–199.
4. Jones J. P., He M., Trager W. F., Rettie A. E. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship for inhibitors of cytochrome P450C9. *Drug Metab. Dispos.* 2021. Vol. 24, № 1. P. 1-6.
5. Waller C. L., Evans M. V., McKinney J. D. Modeling the cytochrome P450-mediated metabolism of chlorinated volatile organic compounds. *Drug Metab. Dispos.* 2022. Vol. 24, № 2. P. 203-210.
6. Ekins S., Swaan P. W. Computational models for enzymes, transporters, channels and receptors relevant to ADME/TOX. *Rev. Comp. Chem.* 2019. Vol. 20. P. 333–415.
7. de Groot M. J., Ekins S. Pharmacophore modeling of cytochromes P450. *Adv. Drug Del. Rev.* 2020. Vol. 54, № 5. P. 367-383.
8. Ekins S., Vandenbranden M., Ring B. J., Wrighton S. A. Examination of purported probes of human CYP2B6. *Pharmacogenetics.* 2017. Vol. 7. P. 165–179.
9. Asikainen A., Tarhanen J., Poso A. Predictive value of comparative molecular field analysis modelling of naphthalene inhibition of human CYP2A6 and mouse CYP2A5 enzymes. *Toxicol. In Vitro.* 2019. Vol. 17, № 4. P. 449–455.
10. Mekenyan O. G., Dimitrov S. D., Pavlov T. S., Veith G. D. A systematic approach to simulating metabolism in computational toxicology. I. The TIMES heuristic modelling framework. *Curr. Pharm. Des.* 2020. Vol. 10, № 11. P. 1273–1293.

11. Wang Q., Halpert J. R. Combined three-dimensional quantitative structure– activity relationship analysis of cytochrome P450 2B6 substrates and protein homology modeling. *Drug Metab. Dispos.* 2015. Vol. 30. P. 86–95.
12. Afzelius L., Zamora I., Ridderstrom M. Competitive CYP2C9 inhibitors: enzyme inhibition studies, protein homology modeling, and three dimensional quantitative structure activity relationship analysis. *Mol. Pharmacol.* 2011. Vol. 59. P. 909–919.
13. Ekins S., Wrighton S. A. The role of CYP2B6 in human xenobiotic metabolism. *Drug Metab. Rev.* 2019. Vol. 31, № 6. P. 719–754.
14. Wrighton S. A., Schuetz E. G., Thummel K. E. The human CYP3A subfamily: practical considerations. *Drug Metab. Rev.* 2018. Vol. 32. P. 339–361.
15. Harlow G. R., Halpert J. R. Alanine-scanning mutagenesis of a putative substrate recognition site in human cytochrome P4503A4. *J. Biol. Chem.* 2010. Vol. 272. P. 5396–5402.
16. Domanski T. L., Liu J., Harlow G. R., Halpert J. R. Analysis of four residues within substrate recognition site 4 of human cytochrome P450 3A4: role in steroid hydroxylase activity and  $\alpha$ -naphthoflavone stimulation. *Arch. Biochem. Biophys.* 2014. Vol. 350. P. 223–232.
17. Domanski T. L., He Y.-A., Harlow G. R., Halpert J. R. Dual role of human cytochrome P450 3A4 residue Phe-304 in substrate specificity and cooperativity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2020. Vol. 293. P. 585–591.
18. Xue L., Wang H. F., Wang Q. Influence of P450 3A4 SRS-2 residues on cooperativity and/or regioselectivity of aflatoxin B<sub>1</sub> oxidation. *Chem. Res. Toxicol.* 2017. Vol. 14. P. 483–491.
19. He Y.-A., He Y. Q., Szklarz G. D., Halpert J. R. Identification of three key residues in substrate recognition site 5 of human cytochrome P450 3A4 by cassette and site-directed mutagenesis. *Biochemistry.* 2016. Vol. 36, № 11. P. 8831–8839.
20. Ekins S., Ring B. J., Binkley S. N., Hall S. D., Wrighton S. A. Autoactivation and activation of cytochrome P450s. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 2019. Vol. 36. P. 642–651.

21. Egnell A. C., Eriksson C., Albertson N., Houston B., Boyer S. Generation and evaluation of a CYP2C9 heteroactivation pharmacophore. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2013. Vol. 307, № 3. P. 878–887.

22. Cosme J., Johnson E. F. Engineering microsomal cytochrome P450 2C5 to be a soluble, monomeric enzyme. Mutations that alter aggregation, phospholipid dependence of catalysis, and membrane binding. *J. Biol. Chem.* 2020. Vol. 275, № 23. P. 2545–2553.

23. Williams P. A., Cosme J., Ward A. Crystal structure of human cytochrome P450 2C9 with bound warfarin. *Nature.* 2013. Vol. 424. P. 464–468.

24. Schneider G., Coassolo P., Lave T. Combining *in vitro* and *in vivo* pharmacokinetic data for prediction of hepatic drug clearance in humans by artificial neural networks and multivariate statistical techniques. *J. Med. Chem.* 2019. Vol. 42. P. 5072–5076.

25. Williams P. A., Cosme J., Vinkovic D. M. Crystal structures of human cytochrome P450 3A4 bound to metyrapone and progesterone. *Science.* 2014. Vol. 305, № 5684. P. 683–686.

26. Yano J. K., Wester M. R., Schoch G. A. The structure of human microsomal cytochrome P450 3A4 determined by X-ray crystallography to 2.05-Å resolution. *J. Biol. Chem.* 2017. Vol. 279, № 37. P. 38091–38094.

27. Koymans L. M. H., Vermeulen N. P. E., Baarslag A., Donneop D. E. N., Kelder G. M. A preliminary 3D model for cytochrome P450 2D6 constructed by homology model building. *J. Comp. Aided Mol. Des.* 2013. Vol. 7. P. 281–289.

28. Modi S., Paine M. J., Sutcliffe M. J. A model for human cytochrome P450 2D6 based on homology modeling and NMR studies of substrate binding. *Biochemistry* 2016. Vol. 35. P. 4540–4550.

29. Lewis D. F. V., Lake B. G., Dickins M. Molecular modelling of CYP2B6, the human CYP2B isoform, by homology with the substrate-bound CYP102 crystal structure: evaluation of CYP2B6 substrate characteristics, the cytochrome b5 binding site and comparisons with CYP2B1 and CYP2B4. *Xenobiotica.* 2019. Vol. 29. P. 361–393.

30. Szklarz G. D., Halpert J. R. Use of homology modeling in conjunction with site-directed mutagenesis for analysis of structure-function relationships of mammalian cytochromes P450. *Life Sci.* 2007. Vol. 61. P. 2507–2520.

31. Lewis D. F. V. Three-dimensional models of human and other mammalian microsomal P450s constructed from an alignment with P450102 (P450bm3). *Xenobiotica.* 2015. Vol. 25. P. 333–366.

32. Wiseman H., Lewis D. F. V. The metabolism of tamoxifen by human cytochromes P450 is rationalized by molecular modelling of the enzyme substrate interactions: potential importance to its proposed anti-carcinogenic/ carcinogenic actions. *Carcinogenesis.* 2016. Vol. 17. P. 1357–1360.

33. Barhelt C., Schmid R. D., Pleiss J. Regioselectivity of CYP2B6: homology modeling, molecular dynamics simulation, docking. *J. Mol. Model.* 2012. Vol. 8. P. 327–335.

34. de Groot M. J., Alex A. A., Jones B. C. Development of a combined protein and pharmacophore model for cytochrome P450 2C9. *J. Med. Chem.* 2017. Vol. 45. P. 1983–1993.

35. de Groot M. J., Ackland M. J., Horne V. A., Alex A. A., Jones B. C. A novel approach to predicting P450 mediated drug metabolism. CYP2D6 catalyzed *N*-dealkylation reactions and qualitative metabolite predictions using a combined protein and pharmacophore model for CYP2D6. *J. Med. Chem.* 2019. Vol. 42. P. 4062–4070.

36. Ethell B. T., Ekins S., Wang J., Burchell B. Quantitative structure–activity relationships for the glucuronidation of simple phenols by expressed human UGT1A6 and UGT1A9. *Drug Metab. Dispos.* 2012. Vol. 30. P. 734–738.

37. Smith P. A., Sorich M. J., McKinnon R. A., Miners J. O. Pharmacophore and quantitative structure–activity relationship modeling: complementary approaches for the rationalization and prediction of UDP-glucuronosyltransferase 1A4 substrate selectivity. *J. Med. Chem.* 2013. Vol. 46. P. 1617–1626.

38. Sorich M., Smith P. A., McKinnon R. A., Miners J. O. Pharmacophore and quantitative structure activity relationship modelling of UDP-

glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1) substrates. *Pharmacogenetics*. 2020. Vol. 12. P. 635–645.

39. Smith P. A., Sorich M. J., McKinnon R. A., Miners J. O. *In silico* insights: chemical and structural characteristics associated with uridine diphosphate-glucuronosyltransferase substrate selectivity. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2016. Vol. 30, № 11. P. 836–840.

40. Sorich M. J., Miners J. O., McKinnon R. A., Smith P. A. Multiple pharmacophores for the investigation of human UDP-glucuronosyltransferase isoform substrate selectivity. *Mol. Pharmacol.* 2014. Vol. 65, № 2. P. 301–308.

41. de Groot M. J., Ackland M. J., Horne V. A., Alex A. A., Jones B. C. Novel approach to predicting P450-mediated drug metabolism: development of a combined protein and pharmacophore model for CYP2D6. *J. Med. Chem.* 2019. Vol. 42. P. 1515–1524.

42. Sorich M. J., McKinnon R. A., Miners J. O., Winkler D. A., Smith P. A. Rapid prediction of chemical metabolism by human UDP-glucuronosyltransferase isoforms using quantum chemical descriptors derived with the electronegativity equalization method. *J. Med. Chem.* 2014. Vol. 47, № 21. P. 5311–5317.

43. Dajani R., Cleasby A., Neu M. X-ray crystal structure of human dopamine sulfotransferase, SULT1A3. *J. Biol. Chem.* 2019. Vol. 53. P. 37862–37868.

44. Gamage N. U., Duggleby R. G., Barnett A. C. Structure of a human carcinogen-converting enzyme, SULT1A1. *J. Biol. Chem.* 2013. Vol. 278. P. 7655–7662.

45. Balakin K. V., Ekins S., Bugrim A. Quantitative structure-metabolism relationship modeling of the metabolic *N*-dealkylation rates. *Drug Metab. Dispos.* 2014. Vol. 32. P. 1111–1120.

46. Korolev D., Balakin K. V., Nikolsky Y. Modeling of human cytochrome P450-mediated drug metabolism using unsupervised machine learning approach. *J. Med. Chem.* 2013. Vol. 46. P. 3631–3643.

47. Bugrim A., Nikolskaya T., Nikolsky Y. Early prediction of drug metabolism and toxicity: systems biology approach and modeling. *Drug Disc. Today*

2017. Vol. 9. P. 127–135.

48. Shen M., Xiao Y., Golbraikh A., Gombar V. K., Tropsha A. Development and validation of k-nearest neighbour QSPR models of metabolic stability of drug candidates. *J. Med. Chem.* 2013. Vol. 46. P. 3013–3020.

49. Bennett K. P., Embrechts M. J. An optimization perspective on kernel partial least squares regression. In: *Advances in learning theory; methods, models and applications*. J. A. K. Suykens *et al.* (Eds), IOS Press, Amsterdam, The Netherlands, 2016. P. 227–250.

50. Christianini N., Shawe-Taylor J. *Support vector machines and other kernel-based learning methods*. Cambridge University Press, Cambridge, MA, USA 2010. 550 p.

51. Rosipal R., Trejo L. J. Kernel partial least squares regression in reproducing Kernel Hilbert space. *J. Machine Learning Research*. 2011. Vol. 2. P. 97–123.

52. Zernov V. V., Balakin K. V., Ivashchenko A. A., Savchuk N. P., Pletnev I. V. Drug discovery using support vector machines. The case studies of drug-likeness, agrochemical-likeness, and enzyme inhibition predictions. *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* 2018. Vol. 43. P. 2048–2056.

53. Warmuth M. K., Liao J., Ratsch G. Active learning with support vector machines in the drug discovery process. *J. Chem. Inf. Comp. Sci.* 2015. Vol. 43. P. 667–673.

54. Singh S. B., Shen L. Q., Walker M. J., Sheridan R. P. A model for likely sites of CYP3A4-mediated metabolism on drug-like molecules. *J. Med. Chem.* 2013. Vol. 46. P. 1330–1336.

55. Csanady G. A., Laib J. G. Metabolic transformation of halogenated and other alkenes – a theoretical approach. Estimation of metabolic reactivities for *in vivo* conditions. *Toxicology*. 2019. Vol. 75. P. 217–223.

56. Yin H., Anders M. W., Korzekwa K. R. Designing safer chemicals: predicting the rates of metabolism of halogenated alkanes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2017. Vol. 92. P. 11076–11080.

57. Korzekwa K., Ewing T. J., Kocher J. P., Carlson T. J. Models for cytochrome P450-mediated metabolism. In: *Pharmaceutical Profiling in Drug Discovery for Lead Selection*. R. T. Borchardt *et al.* (Eds), AAPS Press, AZ USA, 2004. P. 69–80.

58. Bursi R., de Gooyer M. E., Grootenhuis A. (Q)SAR study on the metabolic stability of steroidal androgens. *J. Mol. Graph Model*. 2011. Vol. 19. P. 552–556.

59. Ekins S., Bugrim A., Nikolsky Y., Nikolskaya T. Systems biology: applications in drug discovery. In: *Drug discovery handbook*. S. Gad (Ed.), Wiley, New York, USA, 2018. P. 323–356.

60. Oliver D. E., Rubin D. L., Stuart J. M. Ontology development for a pharmacogenetics knowledge base. *Pac. Symp. Biocomp*. 2019. P. 88–99.

61. Nakata K., Yukawa M., Komiyama N., Nakano T., Kaminuma T. A nuclear receptor database that maps pathways to diseases. *Genome Informatics*. 2012. Vol. 13. P. 515–516.

62. Yan Q., Sadee W. Human membrane transporter database: a web-accessible relational database for drug transport studies and pharmacogenomics. *AAPS Pharmsci*. 2018. Vol. 2. E20.

63. Erhardt P. W. A human drug metabolism database: potential roles in the quantitative predictions of drug metabolism and metabolism-related drug–drug interactions. *Curr. Drug Metab*. 2015. Vol. 4. P. 411–422.

64. Boyer S., Zamora I. New methods in predictive metabolism. *J. Comp. Aided Mol. Des*. 2012. Vol. 16. P. 403–413.

65. Borodina Y., Sadym A., Filimonov D. Predicting biotransformation potential from molecular structure. *J. Chem. Inf. Comp. Sci*. 2018. Vol. 43, № 5. P. 1636–1646.

66. 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.

67. 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.

68. 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.

69. 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.

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

71. 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.

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

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

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

**ПРИЛОЖЕНИЯ**

## Приложение А

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

### **АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

МАТЕРІАЛИ  
XXIX МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ  
КОНФЕРЕНЦІЇ МОЛОДИХ ВЧЕНИХ ТА СТУДЕНТІВ

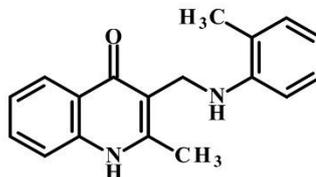
19-21 квітня 2023 року  
м. Харків

Харків  
НФаУ  
2023

## Продолжение приложения А

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

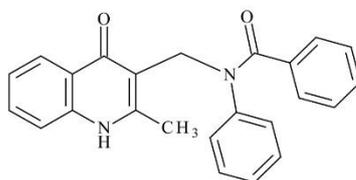
## Продолжение приложения А

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

effective approach that allows to identify metabolic sites, predict the structures of the formed metabolites, metabolic rate, and specificity of substrates to cytochrome P450 enzymes.

**Aim.** Prediction of probable metabolic pathways of N-[(2-methyl-4-oxo-1H-quinolin-3-yl)-methyl]-N-phenylbenzamide as a promising candidate for APIs with antihypoxic, anxiolytic and nootropic properties.

**Materials and methods.** The object of the study is N-[(2-methyl-4-oxo-1H-quinolin-3-yl)-methyl]-N-phenylbenzamide (figure), synthesized by Vadym Zubkov, Associate Professor of the Department of Medicinal Chemistry. 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 Ilyya Podolsky, Associate Professor of the Department of Medicinal Chemistry. The results of the comprehensive screening study outlined the prospects for an in-depth study of the molecule at a dose of 100 mg/kg as a promising antihypoxant with nootropic and anxiolytic properties.



To predict the possible pathways of biotransformation of N-[(2-methyl-4-oxo-1H-quinolin-3-yl)-methyl]-N-phenylbenzamide, 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 N-[(2-methyl-4-oxo-1H-quinolin-3-yl)-methyl]-N-phenylbenzamide 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 phenyl and benzamide fragments. 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 at the methyl group at position 2 of the heterocycle to kynurenic acid derivatives and debenzoylation to form 2-methyl-3-(phenylaminomethyl)-1H-quinolin-4-one (atristamine) suggest that the proven pharmacodynamic effects of the test molecule 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, N-[(2-methyl-4-oxo-1H-quinolin-3-yl)-methyl]-N-phenylbenzamide, was carried out. The general regularities of metabolic transformations of the test molecule completely coincide and fit into the current views of medicinal chemistry.

**Национальный фармацевтический университет**

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

**УТВЕРЖДАЮ**  
**Заведующая кафедрой**  
**медицинской химии**

---

**Лина ПЕРЕХОДА**  
**“22” августа 2022 года**

**ЗАДАНИЕ**  
**НА КВАЛИФИКАЦИОННУЮ РАБОТУ**  
**СОИСКАТЕЛЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ**

**Ашраф ТХИС**

1. Тема квалификационной работы: «Прогнозирование возможных путей биотрансформации потенциального антигипоксанта с ноотропными и анксиолитическими свойствами»,  
руководитель квалификационной работы: Илья ПОДОЛЬСКИЙ, д.фарм.н., доцент,  
утвержденный приказом НФаУ от “06” февраля 2023 года № 35
2. Срок подачи соискателем высшего образования квалификационной работы: апрель 2023 г.
3. Исходящие данные к квалификационной работе: биотрансформация лекарственных средств в организме человека, перспективное биологически активное вещество, фармакологическая активность, компьютерные онлайн системы прогнозирования метаболизма ксенобиотиков, реакции I фазы метаболизма, реакции II фазы метаболизма, окисление, ароматическое гидроксирование, алифатическое гидроксирование, деалкилирование, сайт метаболизма, биологически активные метаболиты
4. Содержание расчетно-пояснительной записки (перечень вопросов, которые необходимо разработать): обоснование необходимости исследования возможных путей биотрансформации потенциального АФИ с антигипоксическими, анксиолитическими и ноотропными свойствами; анализ и отбор систем компьютерного прогнозирования; характеристика материалов и методов исследования, использованных в эксперименте; проведение компьютерного прогнозирования; обработка полученных результатов.
5. Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):  
схем – 2, таблицы – 2, рисунков – 14.

6. Консультанты разделов квалификационной работы

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

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

**КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН**

№ п/п	Название этапов квалификационной работы	Срок выполнения этапов квалификационной работы	Примечание
1	Подбор и изучение информационных источников для написания квалификационной работы, составление библиографического списка источников информации	сентябрь-ноябрь 2022 г.	<b>выполнено</b>
2	Ознакомление, анализ алгоритмов компьютерных онлайн систем прогнозирования метаболизма ксенобиотиков. Выбор программных продуктов и анализ особенностей работы с ними	декабрь 2022 г. – январь 2023г.	<b>выполнено</b>
3	Прогнозирование вероятных путей метаболизма N-[(2-метил-4-оксо-1Н-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида – потенциального АФИ антигипоксического, анксиолитического и ноотропного действия	февраль 2023 г.	<b>выполнено</b>
4	Анализ полученных результатов	март 2023 г.	<b>выполнено</b>
5	Оформление квалификационной работы	апрель 2023 г.	<b>выполнено</b>

Соискатель высшего образования \_\_\_\_\_

Ашраф ТХИС

Руководитель квалификационной работы \_\_\_\_\_

Илья ПОДОЛЬСКИЙ

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

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

Прізвище студента	Тема кваліфікаційної роботи	Посада, прізвище та ініціали керівника	Рецензент кваліфікаційної роботи
<b>• по кафедрі медичної хімії</b>			
Тхіс Ашраф	Прогнозування можливих шляхів біотрансформації потенційного антигіпоксанта з ноотропними та анксиолітичними властивостями	Prediction of possible ways of biotransformation of potential antihypoxant with nootropic and anxiolytic properties	доц. Подольський І.М. проф. Власов С.В.

Підстава: подання декана, згода ректора

Ректор

Вірно. Секретар



**ВИСНОВОК**

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

№ 113058 від « 5 » травня 2023 р.

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Тхіс Ашраф, 5 курсу, \_\_\_\_\_ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Прогнозування можливих шляхів біотрансформації потенційного антигіпоксанта з ноотропними та анксиолітичними властивостями / Prediction of possible ways of biotransformation of potential antihypoxant with nootropic and anxiolytic 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**

**0%**

**21%**

**ОТЗЫВ**

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

**Ашрафа ТХИСА**

**на тему: «Прогнозирование возможных путей биотрансформации потенциального антигипоксанта с ноотропными и анксиолитическими свойствами»**

**Актуальность темы.** С целью уменьшения рисков отзыва соединений-кандидатов в лекарства на стадии клинических испытаний вследствие неблагоприятных метаболических характеристик молекул необходимы эффективные и надежные способы прогнозирования метаболизма молекулы биологически активного соединения *in silico*, *in vitro* и *in vivo*. Экспериментальные исследования возможных путей биотрансформации новых молекул *in vitro* и *in vivo* всегда являются нетривиальными и ресурсозатратными задачами. Именно поэтому применение компьютерного прогнозирования возможных путей метаболизма потенциального кандидата в лекарства на начальных этапах является вполне оправданным и эффективным подходом, который позволяет идентифицировать сайты метаболизма, прогнозировать структуры образующихся метаболитов, интенсивность метаболизма и специфичность субстратов к ферментам цитохрома Р450. Выбранная тематика квалификационной работы направлена на решение этих вопросов, что определяет ее актуальность.

**Практическая ценность выводов, рекомендаций и их обоснованность.** Полученные результаты исследования расширяют знания о возможных путях метаболизма N-[(2-метил-4-оксо-1Н-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида, вещества, которое является перспективным АФИ с антигипоксическими, анксиолитическими и ноотропными свойствами. Полученные результаты могут значительно расширить и углубить понимание

как фармакодинамических, так и фармакокинетических особенностей перспективного кандидата в АФИ при условии дальнейшего углубленного фармакологического исследования и внедрения соединения в медицинскую практику.

**Оценка работы.** Квалификационная работа имеет классическую структуру: вводная часть, 3 раздела (обзор литературы и 2 раздела экспериментальных исследований), выводы и список использованных литературных источников. В работе подробно обоснована актуальность темы, подробно описаны материалы и методы исследований, последовательно представлены результаты компьютерного прогнозирования, проведен основательный анализ полученных результатов и логично сформулированы выводы. Исследования выполнены на современном и высоком уровне, а сформулированные выводы не вызывают сомнений.

**Общий вывод и рекомендации о допуске к защите.** Квалификационная работа Ашрафа ТХИСА выполнена на высоком уровне с научной новизной и практической значимостью полученных результатов. По актуальности, уровню выполнения и обоснованности выводов работа соответствует требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам, и может быть представлена к защите в Экзаменационной комиссии.

Научный руководитель \_\_\_\_\_

Илья ПОДОЛЬСКИЙ

«07» апреля 2023 г.

**РЕЦЕНЗИЯ**

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

**Ашрафа ТХИСА**

**на тему: «Прогнозирование возможных путей биотрансформации  
потенциального антигипоксанта с ноотропными и анксиолитическими  
свойствами»**

**Актуальность темы.** Представленная на рецензирование работа Ашрафа ТХИСА посвящена компьютерному прогнозированию возможных путей биотрансформации потенциального активного фармацевтического ингредиента с антигипоксическими, анксиолитическими и ноотропными свойствами N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида. Экспериментальные исследования возможных путей биотрансформации новых молекул *in vitro* и *in vivo* всегда являются нетривиальными и ресурсозатратными задачами. Именно поэтому применение компьютерного прогнозирования возможных путей метаболизма потенциального кандидата в лекарства на начальных этапах является вполне оправданным и эффективным подходом, который позволяет идентифицировать сайты метаболизма, прогнозировать структуры образующихся метаболитов, интенсивность метаболизма и специфичность субстратов к ферментам цитохрома P450. Подходы *in silico* все чаще используются для прогнозирования метаболического преобразования молекул лекарственных веществ и считаются лучшей стратегией "отказаться рано и отказаться дешево", что позволяет снизить затраты, сэкономить время и, таким образом, уменьшить уровень "провалов" на поздних стадиях разработки лекарственных средств. Выбранная тематика квалификационной работы направлена на решение именно таких вопросов, что определяет ее актуальность.

**Теоретический уровень работы.** Квалификационная работа выполнена на высоком теоретическом уровне, поскольку ее результаты кроме практической значимости, имеет значительный методологический потенциал. Разработанный во время выполнения работы методический подход к прогнозированию возможных путей метаболизма ксенобиотиков в организме человека с применением различных алгоритмов целесообразно рекомендовать использовать ученым в своих прикладных исследованиях.

**Предложения автора по теме исследования.** Полученные автором результаты свидетельствуют, что молекула N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида может интенсивно метаболизироваться при участии ферментных систем цитохрома P450. Наиболее вероятными путями метаболизма исследуемого соединения является ароматическое гидроксирование молекулы с участием атомов углерода гетероциклической системы хинолона, фенильного заместителя и бензамидного фрагмента, гидролиз бензамидного фрагмента, окислительное дезаминирование аминотильного фрагмента в положении 3 и окисление метильной группы в положении 2 хинолонового кольца. Прогнозируемые направления алифатического гидроксирования по метильной группе в положении 2 гетероцикла до производных кинуреновой кислоты и дебензоилирования с образованием 2-метил-3-(фениламинотил)-1H-хинолин-4-она (атристамина) свидетельствуют в пользу предположения, что доказанные фармакодинамические эффекты исследуемого соединения могут частично обеспечиваться именно этими фармакологически активными метаболитами.

**Практическая ценность выводов, рекомендаций и их обоснованность.** Полученные результаты исследования расширяют знания о возможных путях метаболизма N-[(2-метил-4-оксо-1H-хинолин-3-ил)метил]-N-фенилбензамида, перспективного соединения с антигипоксическими, анксиолитическими и ноотропными свойствами. Полученные результаты могут значительно расширить и углубить понимание как фармакодинамических, так и фармакокинетических особенностей перспективного кандидата в АФИ при условии дальнейшего углубленного фармакологического исследования и внедрения соединения в медицинскую практику. Выводы логично сформулированы на основе полученных данных и не вызывают сомнений.

**Недостатки работы.** В работе встречаются грамматические ошибки и отдельные недостатки в оформлении литературных ссылок, однако они незначительны и не снижают общую ценность работы.

**Общий вывод и оценка работы.** Представленная на рецензирование работа Ашрафа ТХИСА по объему и содержанию соответствует требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам, и может быть представлена к защите в Экзаменационной комиссии.

Рецензент \_\_\_\_\_

проф. Сергей ВЛАСОВ

«14» апреля 2023 г.

**ВИТЯГ**

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

**ПРИСУТНІ:**

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

**ПОРЯДОК ДЕННИЙ:**

Звіт про стан виконання кваліфікаційної роботи здобувача вищої освіти факультету з підготовки іноземних громадян Фм18(5,0д)і-08 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Ашрафа ТХІСА на тему: «Прогнозування можливих шляхів біотрансформації потенційного антигіпоксанта з ноотропними та анксиолітичними властивостями».

**СЛУХАЛИ:** доповідь здобувача вищої освіти факультету з підготовки іноземних громадян Фм18(5,0д)і-08 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Ашрафа ТХІСА на тему: «Прогнозування можливих шляхів біотрансформації потенційного антигіпоксанта з ноотропними та анксиолітичними властивостями».

**УХВАЛИЛИ:** рекомендувати кваліфікаційну роботу Ашрафа ТХІСА до офіційного захисту в Екзаменаційній комісії.

**Завідувачка кафедри медичної хімії,  
професор**

**Ліна ПЕРЕХОДА**

**Секретар кафедри медичної хімії,  
доцент**

**Марина РАХІМОВА**

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

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

Направляється здобувач вищої освіти Ашраф ТХІС до захисту кваліфікаційної роботи за галузю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «Прогнозування можливих шляхів біотрансформації потенційного антигіпоксанта з ноотропними та анксиолітичними властивостями».

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету \_\_\_\_\_ / Світлана КАЛАЙЧЕВА /

**Висновок керівника кваліфікаційної роботи**

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

Керівник кваліфікаційної роботи

\_\_\_\_\_

Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ

«07» квітня 2023 р.

**Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу**

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

Завідувачка кафедри  
медичної хімії

\_\_\_\_\_

Ліна ПЕРЕХОДА

«21» квітня 2023 р.

Квалификационную работу защищено

в Экзаменационной комиссии

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ июня \_\_\_\_\_ 2023 г.

С оценкой \_\_\_\_\_

Председатель Экзаменационной комиссии,

доктор фармацевтических наук, профессор

\_\_\_\_\_ / Владимир ЯКОВЕНКО /