

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

**КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА**

на тему: **«*IN SILICO* ИССЛЕДОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ  
ДИУРЕТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ АМИДОВ  
3-КАРБОКСИ-2-ХЛОРОКСАНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ»**

**Выполнил:** соискатель высшего образования группы  
Фм18(5,0д)i-02

специальности: 226 Фармация, промышленная фармация  
образовательной программы Фармация

Бтихаль ЭЛЬ БАРКА

**Руководитель:** доцент заведения высшего образования  
кафедры медицинской химии, к.фарм.н., доц.

Маргарита СУЛЕЙМАН

**Рецензент:** доцент заведения высшего образования  
кафедры фармацевтической химии, д.фарм.н., доц.

Анна СЕВЕРИНА

**Харьков – 2023 год**

## АННОТАЦИЯ

Работа посвящена *in silico* исследованию потенциальных диуретических агентов в ряду производных амидов 3-карбоксит-хлороксаниловой кислоты. Результаты виртуальной стыковки могут быть полезны для рационального дизайна новых молекул, а также для подтверждения вероятного механизма действия потенциальных диуретиков. Работа состоит из введения, трех разделов, выводов, списка использованной литературы, который содержит 102 наименования. Содержание работы изложено на 51 странице машинописного текста и содержит 1 схему, 3 таблицы и 15 рисунков.

*Ключевые слова:* амиды 3-карбоксит-хлороксаниловой кислоты, *in silico* исследование, виртуальная стыковка, диуретическая активность, ко транспортер Na-K-2Cl-1 (NKCC1).

## ANNOTATION

The work is devoted to the *in silico* study of potential diuretic agents in the series of derivatives of 3-carboxy-2-chloroxanilic acid amides. The results of virtual docking can be useful for the rational design of new molecules, as well as for confirming the likely mechanism of action of potential diuretics. The work consists of an introduction, three sections, conclusions, a list of references, which contains 102 titles. The content of the work is set out on 51 pages of typewritten text and contains 1 scheme, 3 tables and 15 figures.

*Key words:* amides of 3-carboxy-2-chlorooxanilic acid, *in silico* study, virtual docking, diuretic activity, Na-K-2Cl-1 (NKCC1) cotransporter

## СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
<b>ВВЕДЕНИЕ .....</b>	<b>4</b>
<b>РАЗДЕЛ 1. ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДИУРЕТИКОВ: СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ПОИСКА НОВЫХ КАНДИДАТОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)</b>	<b>7</b>
<b>ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 1 .....</b>	<b>28</b>
<b>РАЗДЕЛ 2. ХАРАКТЕРИСТИКА И АРГУМЕНТАЦИЯ ВЫБОРА ОБЪЕКТОВ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.</b>	<b>29</b>
2.1. Аргументация выбора объектов исследований .....	
2.2. Характеристика и аргументация выбора метода <i>in silico</i> исследования.....	<b>31</b>
<b>ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 2 .....</b>	<b>41</b>
<b>РАЗДЕЛ 3. ВИРТУАЛЬНАЯ СТЫКОВКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДИУРЕТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ АМИДОВ 3-КАРБОКСИ-2-ХЛОРОКСАНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ</b>	<b>42</b>
<b>ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 3.....</b>	<b>49</b>
<b>ОБЩИЕ ВЫВОДЫ .....</b>	<b>50</b>
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....</b>	<b>52</b>

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Известные категории диуретиков, таких как петлевые, тиазидные, ингибиторы карбоангидразы остаются основным выбором для лечения заболеваний с увеличением отеков сердечного и почечного происхождения. Использование традиционных салуретиков, которые блокируют реабсорбцию солей, может быть ограничено из-за гипогиперкалиемии и гиперкальциемии. У пациентов с хроническим заболеванием почек и все более низкой скоростью клубочковой фильтрации эффективность лекарств может быть снижена, что требует увеличения доз или альтернативных методов терапии. Эффективность диуретиков, которые блокируют пути всасывания солей, ограничивается пластичностью почечных канальцев и их способностью стимулировать рост и активность нижестоящих сегментов, что способствует возникновению устойчивости к гипертензии. Дисбаланс электролитов, устойчивости к диуретикам и другие проблемы их клинического применения делают поиск новых мишеней и нового класса диуретиков перспективным направлением фармацевтических исследований.

**Целью исследования** является *in silico* исследования потенциальных диуретических агентов в ряду производных амидов 3-карбоксихлороксаниловой кислоты.

### **Задачи исследования:**

- обосновать выбор производных амидов 3-карбоксихлороксаниловой кислоты как потенциальных диуретиков для виртуальной стыковки
- предложить оптимальную кристаллографическую модель диуретической мишени для стыковки исследуемых молекул;
- провести молекулярный докинг потенциальных диуретиков и на основании вычисленных значений установить их активность по отношению к выбранной мишени;
- провести визуализацию виртуальной стыковки с целью

оптимизации поиска новых кандидатов данного ряда и предоставить возможный механизм образования комплекса «молекула-мишень» потенциальных агентов.

**Объекты исследования:** производные амидов 3-карбокситрехлороксаниловой кислоты, диуретическая активность, ко транспортер-1 Na-K-2Cl, виртуальная стыковка.

**Предмет исследования** – рецепторно-ориентированный гибкий молекулярный докинг

**Методы исследования.** *In silico* методы: молекулярный докинг.

**Элементы научных исследований.** Для изучения возможного механизма связывания и определения уровня аффинности полученных производных амидов 3-карбокситрехлороксаниловой кислоты как потенциальных диуретических агентов была взята из PROTEIN DATA BANK кристаллографическая модель NKCC1 (PDB ID: 7MXO). Выбор биомишени связан с возможностью ко транспортера-1 Na-K-2Cl (NKCC1) осуществлять одновременную транс локацию ионов Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> в клетки и таким образом играть критическую роль в регуляции объема цитоплазмы, потребления жидкости, гомеостаза хлоридов и клеточной полярности. По результатам виртуальной стыковки вычисленные значения скоринговых функции, свободной энергии и констант связывания указывает на умеренную активность по отношению к ко транспортёру-1 Na-K-2Cl. Возможность образования комплексов молекула-мишень возможна за счет межмолекулярных взаимодействий между ними: водородных связей, электростатических и гидрофобных контактов и коррелирует с полученными оценочными значениям и данными экспериментального скрининга на диуретическую активность. Визуализация геометрического расположения энергетически выгодного положения исследуемых производных в активных сайтах мишени свидетельствует о том, что в образовании комплексов участвуют одинаковый набор остатков аминокислот с соответствующими ключевыми фрагментами исследуемых молекул.

Проведенное моделирование стыковки исследуемых производных амидов 3-карбоксит-2-хлороксаниловой кислоты и ко транспортера-1 Na-K-2Cl может быть использовано для изучения потенциальных новых диуретиков. Полученные оценочные значения и подробная визуализация образования комплексов может быть полезна также для оптимизации поиска новых кандидатов данного ряда.

**Структура и объем квалификационной работы.** Выпускная работа состоит из введения, обзора литературы, раздела аналитико-исследовательской аргументации объектов и методов исследований, раздела экспериментальных исследований, выводов, списка использованной литературы. Общий объем работы составляет 51 стр. Работа иллюстрирована 1 схемой, 3 таблицами, 15 рисунками. Список использованной литературы включает 102 наименования.

## РАЗДЕЛ 1. ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДИУРЕТИКОВ: СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ ПОИСКА НОВЫХ КАНДИДАТОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Диуретики являются одними из наиболее часто назначаемых препаратов, и, хотя они эффективны, они часто используются для лечения пациентов со значительным риском осложнений, что делает особенно важным понимание и оценку их фармакокинетики и фармакодинамики [1]. Хотя доступные диуретики обладают отличительными фармакокинетическими и фармакодинамическими свойствами, влияющими как на ответ, так и на вероятность побочных эффектов, многие клиницисты используют их стереотипно, снижая эффективность и потенциально усиливая побочные эффекты.

Диуретики обычно классифицируют в первую очередь в соответствии с их преобладающим участком действия вдоль нефрона и, во-вторых, в соответствии с механизмом, с помощью которого они ингибируют транспорт ионов (рис. 1.1).

Петлевые диуретики оказывают свое действие на нефрон на апикальной мембране в толстой восходящей части петли Генле. Они ингибируют реабсорбцию  $\text{Na}^+$  и хлорида ( $\text{Cl}^-$ ) в котранспортере  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  (NKCC), конкурируя с  $\text{Cl}^-$ . Нормальная зависимость доза-реакция, т. е. связь между экскрецией  $\text{Na}^+$  и скоростью экскреции петлевого диуретика, представляет собой сигмоидальную кривую. Он может быть смещен вниз и вправо в присутствии НПВП и последующем ингибировании синтеза простагландинов [2]. Экскреция  $\text{Na}^+$  связана с гипокалиемией и легким метаболическим алкалозом из-за увеличения экскреции  $\text{K}^+$  и  $\text{H}^+$  в собирательных трубочках в ответ на более высокую концентрацию  $\text{Na}^+$  на этом уровне и значительного вторичного гиперальдостеронизма в ответ на гиповолемию [3]. Другие основные эффекты петлевых диуретиков включают снижение экскреции свободной воды при водной нагрузке и реабсорбции

при обезвоживании из-за снижения осмотического градиента в мозговом веществе. Увеличение экскреции  $\text{Ca}^{2+}$  наблюдается также в ответ на ингибирование парацеллюлярного транспорта  $\text{Ca}^{2+}$  через почечный эпителий [4]. Петлевые диуретики снижают АД за счет уменьшения объема внеклеточной жидкости. Уменьшение объема плазмы, происходящее в ответ на повышенную экскрецию  $\text{Na}^+$ , в результате снижается венозный возврат и сердечный выброс. Эти изменения объема плазмы могут стимулировать симпатическую нервную систему и ренин-ангиотензин-альдостероновую систему. Начало диуреза при применении фуросемида быстрое, в течение 1 часа, с пиком через 3–6 часов, с меньшим эффектом через 12 часов [5]. Побочные эффекты петлевых диуретиков зависят от дозы и включают гипонатриемию (истощение и разведение  $\text{Na}^+$ ), гипокалиемию, метаболический алкалоз, гиповолемию, гипотензию и, в меньшей степени, гиперурикемию, гипокальциемию, гипомагниемию, гипергликемию, гиперлипидемию, неотложные позывы к мочеиспусканию и импотенцию.

Тиазидные диуретики оказывают свое действие на апикальную мембрану нефрона в извитых дистальных канальцах, где они ингибируют сопряженную ре абсорбцию  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$ . Натрийуретический эффект тиазидов меньше, чем у петлевых диуретиков, потому что меньшая часть отфильтрованной нагрузки  $\text{Na}^+$  ре абсорбируется в дистальных канальцах, по сравнению с проксимальными участками действия петлевых диуретиков (восходящая часть петли Генле) [5]. Экскреция  $\text{Na}^+$  связана с гипокалиемией и легким метаболическим алкалозом вследствие как увеличения экскреции  $\text{K}^+$  и  $\text{H}^+$  в собирательных трубочках в ответ на более высокую концентрацию  $\text{Na}^+$  на этом уровне, так и значительного вторичного гиперальдостеронизма в ответ на гиповолемию. Тиазидные диуретики ухудшают разжижающую способность мочи. В отличие от петлевых диуретиков тиазидные диуретики сохраняют механизмы концентрации мочи [3]. Тиазидные диуретики снижают АД за счет уменьшения объема внеклеточной жидкости аналогично петлевым диуретикам [6], до 300 ммоль за несколько дней, что приводит к



уменьшению объема внеклеточной жидкости на 1–2 л. Концентрация  $\text{Na}^+$  в плазме при этом не изменяется. Уменьшение объема плазмы, происходящее в ответ на повышенную экскрецию  $\text{Na}^+$ , снижает венозный возврат и снижает сердечный выброс. Эти изменения объема плазмы могут стимулировать симпатическую нервную систему и ренин-ангиотензин-альдостероновую систему. Начало диуреза при применении гидрохлоротиазида быстрое, в течение 2 часов, с пиком через 3–6 часов, с меньшим эффектом через 12 часов. Хлорталидон является тиазидом длительного действия, который может быть полезен, когда желателен более длительный период натрийуреза [6]. Побочные эффекты тиазидных диуретиков зависят от дозы и включают гипонатриемию (истощение и разведение  $\text{Na}^+$ ), гипокалиемию, метаболический алкалоз, гиповолемию, гипотензию и, в меньшей степени, гиперурикемию, гипомагниемию, гипергликемию, гиперлипидемию и импотенцию. Они напоминают петлевые диуретики [2]. Единственным исключением является гиперкальциемия, которая возникает после тиазидных диуретиков вместо гипокальциемии после петлевых диуретиков. Действительно, после приема тиазидных диуретиков наблюдается увеличение реабсорбции  $\text{Ca}^{2+}$  на уровне дистальных канальцев [7]. Механизм включает снижение концентрации  $\text{Na}^+$  на уровне эпителиальных клеток канальцев. Действительно, тиазиды косвенно усиливают базолатеральную антипортерную активность  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ , что, в свою очередь, снижает внутриклеточную концентрацию  $\text{Ca}^{2+}$  и, таким образом, увеличивает движущую силу ре абсорбции из просвета.

Калийсберегающие диуретики ингибируют активную ре абсорбцию  $\text{Na}^+$  на уровне поздних отделов дистальных канальцев и собирательных трубочек. В частности, спиронолактон действует как конкурентный антагонист минералокортикоидных рецепторов, присутствующих в цитоплазме клеток канальцев поздних отделов дистальных канальцев и собирательных трубочек. Спиронолактон блокирует связывание своего лиганда альдостерона, тем самым его транс локацию в ядро клетки,

гомодимеризацию и связывание с элементами гормонального ответа, присутствующими в промоторах некоторых генов. Эта блокада приводит к снижению белков, регулирующих ионный и водный транспорт, в основном эпителиальный натриевый канал (ENaC), Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> насос и глюкокортикоид-индуцированную киназу (SGK1), что приводит к инактивации ре абсорбции Na<sup>+</sup>. Напротив, амилорид и триамтерен блокируют ENaC в люминальной мембране собирательных трубочек независимо от альдостерона [8]. Можно ожидать лишь умеренного натрийуретического эффекта, поскольку меньшая часть отфильтрованной нагрузки Na<sup>+</sup> ре абсорбируется в этом дистальном участке действия по сравнению с более проксимальным участком действия петлевых диуретиков и тиазидных диуретиков. Гиперкалиемия является частым побочным эффектом, особенно у пациентов с хронической болезнью почек и сердечной недостаточностью или диабетом, получающих калийсберегающие диуретики или добавки калия, или принимающих ИАПФ, БРА или НПВП. Гиперкалиемия связана с метаболическим ацидозом. Импотенция, снижение либидо, двусторонняя гинекомастия и мастодиния — частые осложнения терапии спиронолактоном. Они связаны с сексуальными побочными эффектами спиронолактона, поскольку спиронолактон ингибирует связывание дигидротестостерона с андрогенными рецепторами, что приводит к увеличению клиренса тестостерона. Лечение эплереноном, который является более селективным антагонистом альдостерона, или амилоридом и триамтереном гораздо менее осложнено этими сексуальными побочными эффектами [8].

К калийсберегающим диуретикам относятся препараты, блокирующие апикальные натриевые каналы (амилорид и триамтерен), и препараты, блокирующие минералокортикоидные рецепторы (спиронолактон и эплеренон).

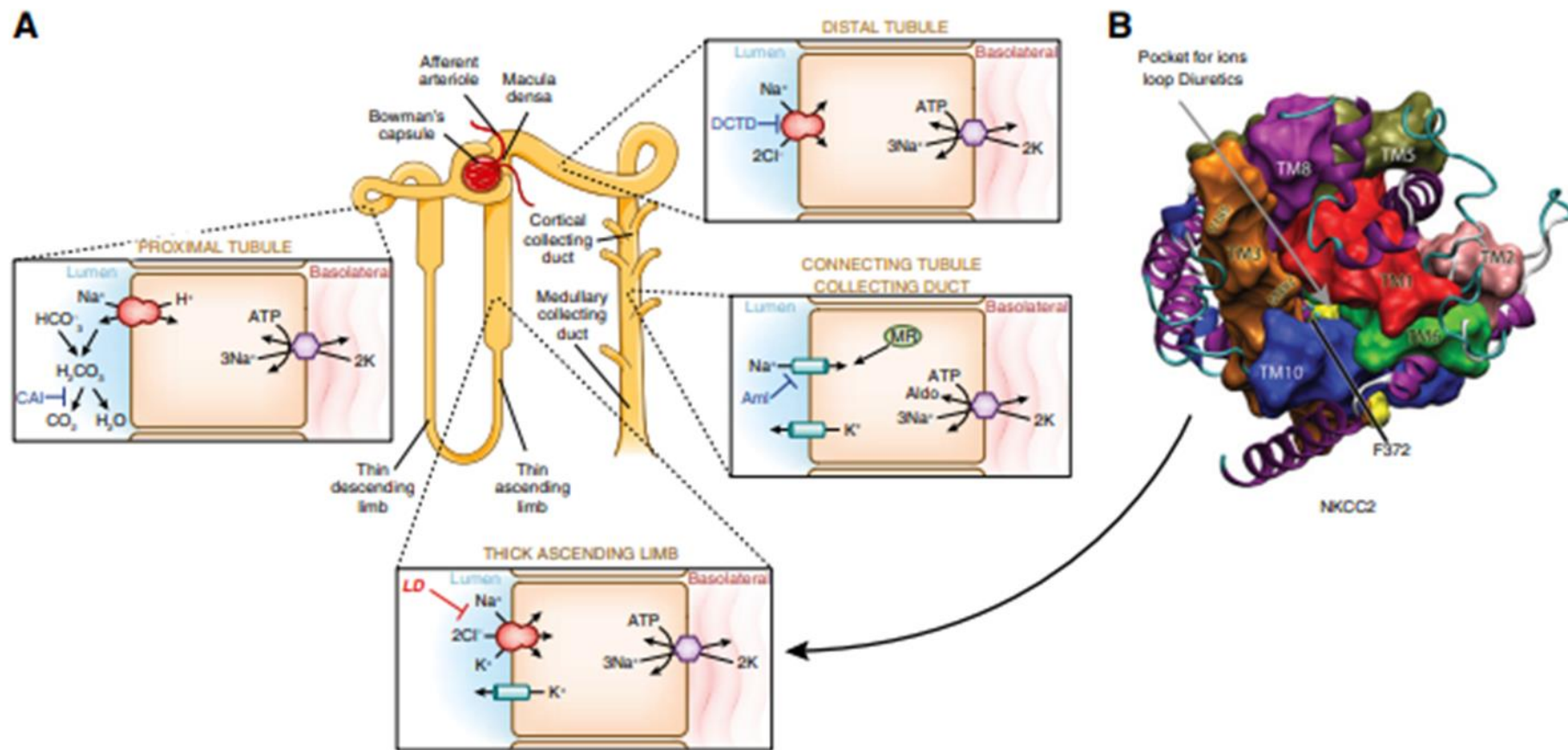
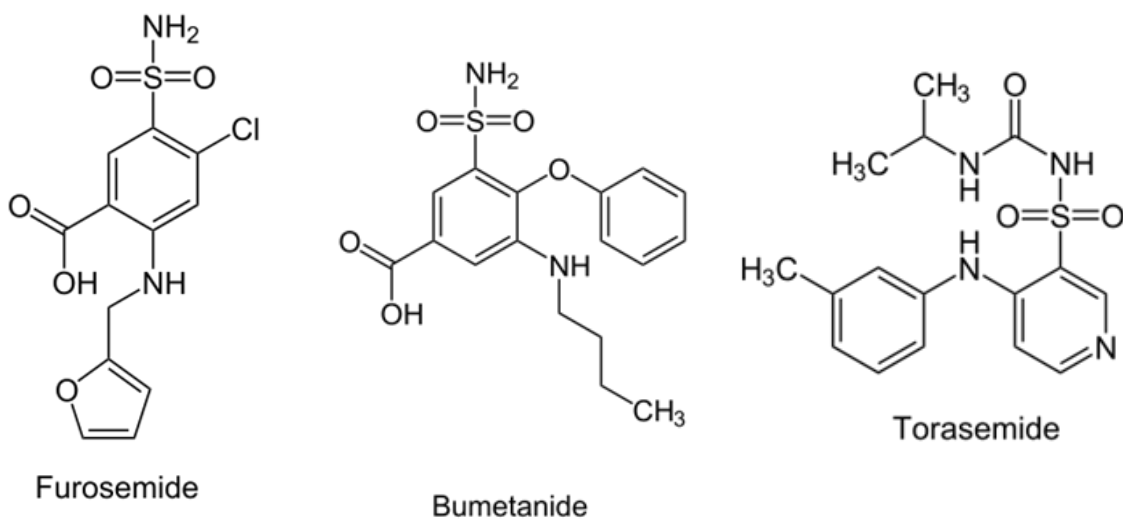


Рис. 1.1. Участки ре абсорции натрия и диуретического действия вдоль нефрона

Новый нестероидный блокатор минералокортикоидов, финеренон, в настоящее время проходит 3-ю фазу клинических испытаний. Блокаторы минералокортикоидов и, возможно, этакриновая кислота, более токсичный петлевой диуретик, действуют внутри клеток и не требуют секреции в просвет канальцев.

Фуросемид, буметанид и торасемид (рис. 1.2) всасываются относительно быстро после приема внутрь, достигая пиковых концентраций в течение 0,5–2 часов [9, 10]; при внутривенном введении их эффекты почти мгновенны.



**Рис. 1.2. Структурные формулы фуросемида, буметанида и торасемида**

Пероральная биодоступность буметанида и торасемида обычно превышает 80%, тогда как биодоступность фуросемида значительно ниже и составляет примерно 50% [11]. Хотя период полувыведения фуросемида короткий, продолжительность его действия больше при пероральном приеме, поскольку его всасывание в желудочно-кишечном тракте может быть медленнее, чем период полувыведения. Это явление называется «кинетика ограниченного всасывания» и может объяснить мнемоническую фразу о том, что действие этого препарата «длится 6 часов» [12]. Это не относится к буметаниду и торасемиду, которые быстро всасываются при пероральном приеме [13]. На основании пероральной биодоступности при переводе

пациента с внутривенного на пероральный петлевой диуретик дозу буметанида или торасемида следует сохранить, а дозу фуросемида следует удвоить [13]; другие факторы также влияют на эффективность диуретиков, и фиксированная конверсия внутривенного/перорального введения невозможна [14]. Петлевые диуретики имеют крутые кривые доза-реакция. Этому свойству в клинической практике часто пренебрегают, но оно имеет решающее значение для оптимального использования.

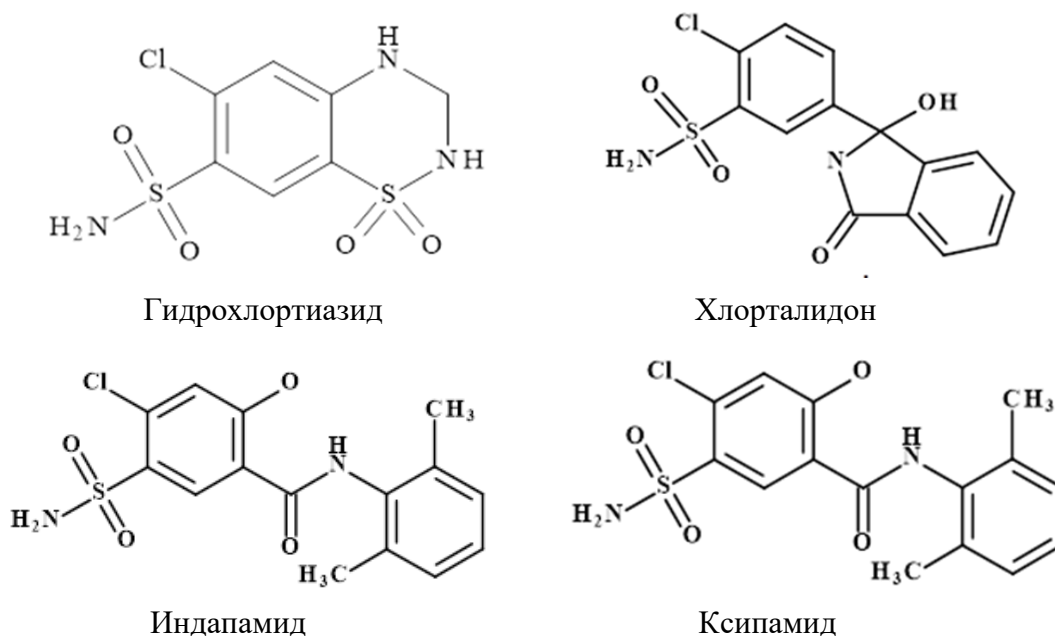
Доза диуретика должна превышать порог, чтобы быть эффективной; тем не менее, неспособность дать дозу, превышающую порог, является одной из наиболее распространенных ошибок при использовании диуретиков. Проблема в том, что пороговое значение нелегко оценить у человека, особенно с заболеванием почек или сердца. Хотя почти все здоровые люди реагируют на пероральный прием 20 мг фуросемида (или его эквивалента), здоровые люди обычно не лечатся. Состояния, предрасполагающие к увеличению объема внеклеточной жидкости и отеку, изменяют как фармакокинетику, так и фармакодинамику диуретиков. Неудивительно, что эмпирически подобранная доза может оказаться неэффективной. Тем не менее, соблюдение алгоритмов может привести к неэффективности диуретиков. Ограниченная биодоступность является проблемой фуросемида, Всасывание фуросемида варьируется изо дня в день у человека и между людьми [15, 16]. На абсорбцию также влияет прием пищи, в отличие от буметанида или торасемида [17, 18], хотя клиническая значимость этого эффекта вызывает сомнения. Более постоянная биодоступность торасемида по сравнению с фуросемидом и его относительно более длительный период полувыведения позволяют предположить, что он может быть лучшим петлевым диуретиком, что подтверждается двумя небольшими клиническими испытаниями [19–22]. Недавний ретроспективный анализ у пациентов с острой декомпенсированной сердечной недостаточностью показал, что пациенты с сердечной недостаточностью, выписанные на лечение торасемидом, могут иметь более низкую смертность [23]. Тем не менее, ни

одно из этих исследований не является достаточно мощным или тщательным, чтобы считаться окончательным, а некоторые другие исследования не предполагают такой пользы [24]. Всасывание в желудочно-кишечном тракте может быть замедлено, особенно во время обострений отечных расстройств, таких как сердечная недостаточность, хотя, опять же, это может быть оправдано в первую очередь для фуросемида [25]. Хотя общая биодоступность обычно сохраняется в этих ситуациях, натрийурез может быть нарушен при замедлении всасывания, особенно при сопутствующем повышении натрийуретического порога. Например, площади под кривыми для произвольных внутривенных и удвоенных пероральных доз фуросемида могут быть одинаковыми, но время превышения натрийуретического порога может быть разным, когда натрийуретический порог повышается в результате заболевания. Это, вероятно, объясняет распространенное наблюдение, что внутривенные дозы петлевых диуретиков, которые достигают более высоких пиковых уровней, могут быть эффективны, когда пероральные дозы теряют свою эффективность, особенно если повышен натрийуретический порог.

Петлевые диуретики составляют основу диуретической терапии при острой сердечной недостаточности и используются более чем у 90 % пациентов. Таким образом, адекватное дозирование с достаточными уровнями в плазме имеет решающее значение, поскольку при сердечной недостаточности часто снижается почечная перфузия, что приводит к уменьшению секреции петлевых диуретиков. Кроме того, снижение содержания белка в плазме может привести к снижению секреции петлевых диуретиков [26].

Тиазидные и тиазидоподобные диуретики относятся к большому классу препаратов, которые блокируют натрий-хлоридный ко транспортер (NCC) в дистальных извитых канальцах. Таким образом, с теоретической точки зрения, они могут частично компенсировать дистальную повышенную avidность натрия, сопровождающуюся хроническим использованием

петлевых диуретиков. Существуют большие различия в использовании тиазидоподобных диуретиков, при этом метолазон является наиболее часто используемым тиазидоподобным диуретиком в США. В отличие от петлевых диуретиков, метолазон и хлорталидон имеют медленную абсорбцию в желудочно-кишечном тракте (время достижения пика до 8 ч) и очень длительный период полувыведения, поэтому, если начинают принимать низкие пероральные дозы, их следует вводить за несколько часов до внутривенного введения петлевого диуретика, так как для достижения устойчивого состояния потребуется много времени. Однако хлоротиазид имеет короткий период полувыведения, поэтому его следует назначать ближе к петлевым диуретикам. У здоровых людей максимальный диуретический эффект тиазидов ограничен, вызывая диуретический ответ максимум на 30-40% от петлевых диуретиков при моно терапии [27]. Тиазиды также связываются с белками, что требует адекватного почечного кровотока для секреции в каналцы. Кроме того, тиазиды могут индуцировать значительный калийурез, так как при потере иона натрия экс ретируется 2–3 иона калия [28]. Этот эффект потери калия особенно выражен при состояниях с высоким уровнем альдостерона, таких как сердечная недостаточность [29]. Острая сердечная недостаточность основана на обнаружении повышенной avidности натрия в дистальных отделах нефрона в случае (длительного) введения петлевых диуретиков [30]. Действительно, данные на животных показывают, что гипертрофия дистальных отделов нефрона возникает после хронического введения петлевых диуретиков, что может в некоторой степени объяснить резистентность к петлевым диуретикам [31]. В отличие от традиционного лечения, более свежие данные подтверждают эффективность тиазидов у пациентов со сниженной скоростью клубочковой фильтрации. Химические структуры известных тиазидных диуретиков представлены на рис. 1.3

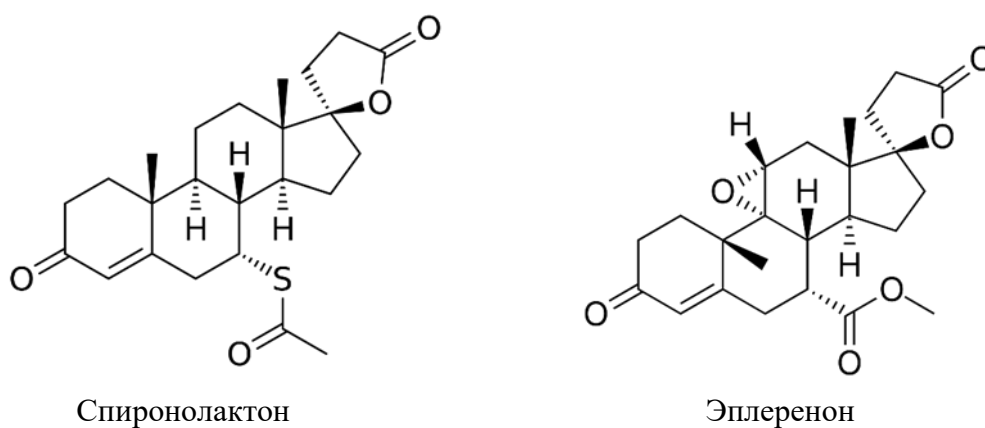


**Рис. 1.3. Химические структуры тиазидных диуретиков**

Антагонисты минералокортикоидных рецепторов (АМР) проявляют плейотропные эффекты, но их почечные эффекты заключаются в модуляции экспрессии/активности натриевых и калиевых каналов в дистальном отделе нефрона. АМР имеют рекомендацию класса I в качестве модифицирующего терапевтического агента при симптоматической хронической сердечной недостаточности (СН), противодействуя высвобождению альдостерона, вызванному гиперактивацией нейрогормонов. Стандартная терапия петлевыми диуретиками была протестирована в исследовании «Альдостерон-таргетная нейрогормональная терапия в сочетании с натрийурезной терапией при сердечной недостаточности» (ATHENA-HF) [32]. Терапия 100 мг спиронолактона в день не превосходила 25 мг в день по снижению увеличения диуреза через 96 часов. Однако, спиронолактон является про лекарством с началом действия только через 48–72 часа после перорального приема, что может объяснить наблюдаемый нулевой эффект. Однако высокие дозы АМР были безопасными, поскольку не приводили к гиперкалиемии или ухудшению функции почек. Более того, терапия спиронолактоном может быть полезна для компенсации гипокалиемического эффекта петлевых диуретиков, приводящих к потере калия, и тиазидных



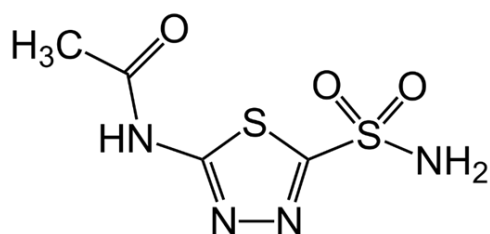
диуретиков [32–34]. Важно отметить, что данные указывают на заметное недостаточное использование антагонистов минералокортикоидных рецепторов АМР как класса препаратов, которые назначают при СН [35]. Группа экспертов считает, что начало применения АМР в обычной дозе (25 мг) может быть полезным для уменьшения гипокалиемии, вызванной лечением, и может привести к более высокой вероятности выписки пациентов с СН. Тем не менее, использование АМР в острых случаях должно быть индивидуализировано с временным прекращением в случае развития гиперкалиемии. Структуры известных антагонистов минералокортикоидных рецепторов АМР наведены на рис. 1.4.



**Рис. 1.4. Химические структуры антагонистов минералокортикоидных рецепторов АМР**

Из-за гемодинамических изменений при сердечной недостаточности со снижением почечного кровотока с соответствующим увеличением фракции фильтрации происходит значительное увеличение avidности натрия в проксимальных нефронах. Большая часть натрия не абсорбируется в проксимальном отделе нефрона, особенно при декомпенсированной сердечной недостаточности. Доставка хлоридов к клеткам *macula densa* (плотное пятно) снижает выработку ренина, уменьшая нейрогуморальную активацию. Обсервационное исследование у пациентов с декомпенсированной сердечной недостаточностью и выраженной объемной перегрузкой показало, что добавление ацетазоламида (рис. 1.4) (500 мг внутривенно поверх петлевого диуретика) улучшало реакцию петлевого

диуретика с выделением примерно 100 ммоль  $\text{Na}^+$  на 40 мг эквивалентной дозы фуросемида [36]. Кроме того, ацетазоламид эффективно усиливает диуретический ответ в сочетании с петлевыми диуретиками, как показано в одном небольшом рандомизированном исследовании, включавшем 24 пациента с острой объемной перегрузкой, рефрактерной к терапии петлевыми диуретиками [37]. Многоцентровое рандомизированное двойное слепое клиническое исследование IV фазы выявило диуретические эффекты ацетазоламида при декомпенсированной сердечной недостаточности с перегрузкой объемом.



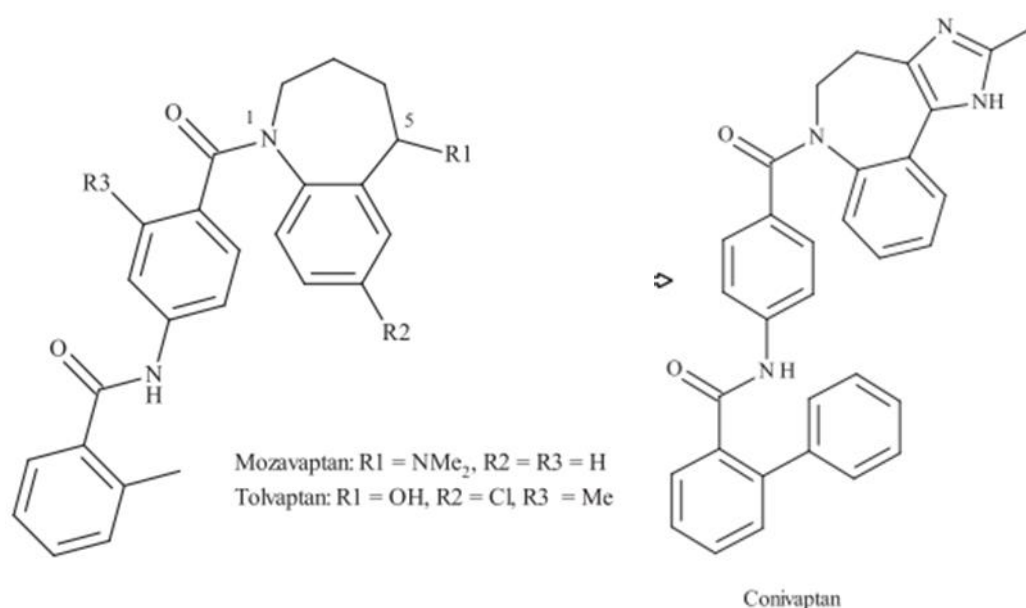
**Рис. 1.5. Химическая структура Ацетазоламида**

Кроме известных классов диуретиков на сегодня существует два новых класса веществ, которые увеличивают диурез, но не действуют на пути солевой ре абсорбции:

- акваретрики, блокирующие рецептор вазопрессина  $\text{V}_2$ , снижающие активацию водного канала аквапорина 2 (AQP2) антидиуретическим гормоном [38].
- ингибиторы переносчика натрия/глюкозы 2 (SGLT2), которые снижают всасывание глюкозы в проксимальных канальцах, вызывая осмотический диурез [39].

Получение не пептидных антагонистов вазопрессина, которые лишены агонистической активности (ваптаны), сделал возможным селективную блокаду подтипов рецепторов вазопрессина в терапевтических целях. Ваптан способствует акварезу, блокируя действие вазопрессина на рецепторы вазопрессина 2, расположенные в собирательных трубочках (рис. 1.1), тем самым блокируя резорбцию свободной воды при прохождении мочи через

собираательные трубочки. Некоторые препараты этого класса уже одобрены для лечения гипонатриемии [40]. На данный момент существуют и другие назначения ваптанов, а именно: застойная сердечная недостаточность (СН), цирроз печени и поликистозная болезнь почек [41]. Ваптанами называют класс диуретиков, которые применяют для лечения застойной сердечной недостаточности, например, кониваптан, толваптан, ликсиваптан и сатаваптан (рис. 1.5). Разработка сатаваптана (антагониста рецептора V2) компанией Санофи-Авентис была прекращена на этапе III в 2009 г. из-за неблагоприятного воздействия на печень, вызывая сильную гепатотоксичность [42]. Одобрению кониваптана в США предшествовало одобрение мозаваптана гидрохлорида в Японии в 2006 г. (для лечения гипонатриемии) [43]. В работе, приведшей к открытию мозаваптана, исследователи из Otsuka Pharmaceuticals сообщили, что 5-дездиметиламиномозаваптан проявляет сравнимое сродство к рецепторам как V1a, так и V2, и что замена концевого бензамидного фрагмента липофильными группами обычно усиливает связывание с рецептором вазопрессина. Изучение структуры мозаваптана показало важность аминогруппы бензазепинового кольца для пероральной биодоступности [44].



**Рис. 1.6. Химические структуры известных ваптанов**

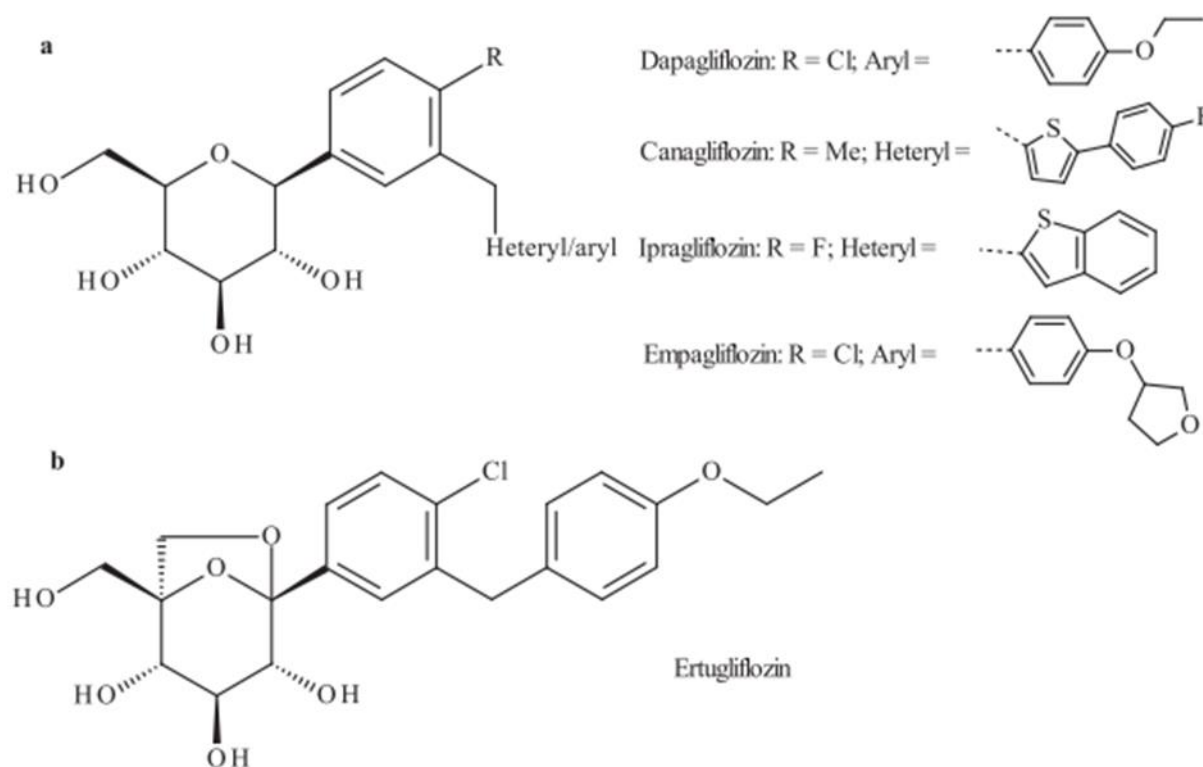
Исследования SAR показало, что введение хлора или метильной группы в положение С-3 внутреннего бензольного кольца увеличивает селективность связывания с рецепторами вазопрессина V2 человека, в то время как заместители (хлор или метоксигруппы) в положении С-2 мало влияют на активность и селективность по сравнению с незамещенными аналогами. Вариация положения хлор-, фтор-, метокси- и метильных заместителей в боковом фенильном кольце позволила выделить оптимальные заместители [45]. Поскольку рецепторы V1A и V2 участвуют в модуляции АД и функции почек, ваптанты представляют собой класс препаратов, которые решают проблемы задержки жидкости, гипонатриемии и почечной дисфункции при СН, и некоторые из них проходили клинические испытания. Так, кониваптан (торговая марка Vaprisol), антагонист рецепторов V1a и V2, был одобрен в 2004 г. для эводемической и гиперводемической гипонатриемии. Фактически кониваптан не был одобрен FDA для лечения застойной сердечной недостаточности. Тем не менее было показано, что кониваптан эффективен в снижении уровня натрия и внутрисердечного давления, а также в увеличении диуреза (особенно в сочетании с петлевыми диуретиками) у пациентов с СН [46]. Но он не был эффективен для лечения симптомов СН [47].

Селективный антагонист V2-рецепторов толваптан не привел к снижению заболеваемости или смертности в исследовании «Эффективность антагонизма вазопрессина в исследовании исходов сердечной недостаточности с толваптаном» (ЭВЕРЕСТ) у пациентов с острой сердечной недостаточностью при добавлении к стандартной терапии [48]. Это ограничивает его использование при сердечной недостаточности с застоем, так как расширение внеклеточного объема в основном обусловлено задержкой натрия. Однако на более поздних стадиях сердечной недостаточности неадекватно высокие уровни аргинин-вазопрессина способствуют расширению плазмы и дилуционной гипонатриемии. Совсем недавно раннее применение толваптана и его применение у пациентов с

резистентностью к диуретикам, почечной дисфункцией или гипонатриемией действительно приводило к большей потере веса, но не приводило к значительному облегчению одышки [49, 50]. В настоящее время антагонисты вазопрессина показаны только пациентам с тяжелой гипонатриемией и их широкое использование может быть ограничено высокой стоимостью лекарств. В Европе толваптан доступен, но официально не одобрен Европейским агентством по лекарственным средствам для лечения сердечной недостаточности.

Лечение гипертензии при диабете имеет решающее значение для снижения сердечно-сосудистой смертности и заболеваемости. Ингибиторы котранспортера натрия/глюкозы 2 (SGLT2), также называемые глифлозинами, новый класс пероральных сахар снижающих средств недавно был одобрен для лечения сахарного диабета II типа. Помимо контроля уровня сахара в крови, глифлозины оказывают значительное положительное влияние на сердечно-сосудистую систему у пациентов с сахарным диабетом 2 типа [51]. Последние результаты показывают, что осмотический диурез, вызванный ингибированием SGLT2, стимулирует компенсаторное потребление жидкости и реабсорбцию воды почками для поддержания объема жидкости в организме [52]. Первым представителем этой группы был флоридин. Он является халконовым производным как неспецифический ингибитор SGLT1 и SGLT2. Изучая его особенность действия было выявлено, что он вызывает малую абсорбцию глюкозы-галактозы как негативное влияние на желудочно-кишечный тракт, вследствие имеет плохую биодоступность при пероральном применении [53]. Для устранения данных проявлений были получены оптимизированные молекулы путем добавления заместителей к гликозидному ядру [54, 55], в результате такой модификации был открыт дапаглифлозин - первый ингибитор S-глюкозида SGLT2. Дальнейший поиск активных ингибиторов SGLT2 с использованием дапаглифлозина в качестве структурного каркаса привел к открытию канаглифлозина, эмпаглифлозина, ипраглифлозина. Выяснилось, что никаких

преимуществ с точки зрения активности или селективности не наблюдалось в сравнении с исходных дапаглифлозином. Структуры селективных ингибиторов SGLT2 представлены на рис. 1.6.

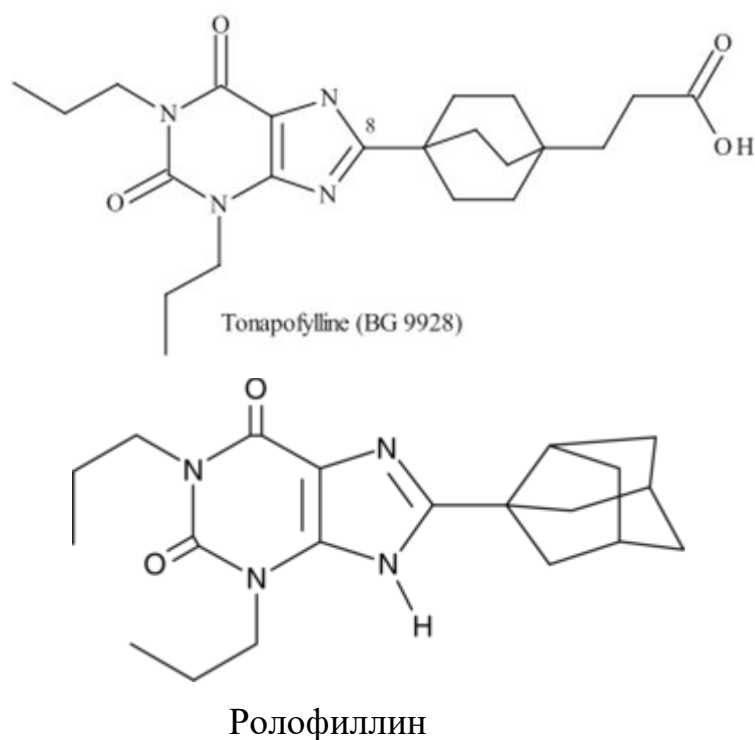


**Рис. 1.7. Ингибиторы ко транспортера натрия/глюкозы 2 (SGLT2)**

Исследования в области связи структура-активность установили, что допустимы только небольшие изменения агликона для поддержания высокой активности и достаточной селективности SGLT2/SGLT1; введение ароматического ядра, связанного с остатком сахара, имеет решающее значение для активности; существует определенный набор атомов, которые можно включить в агликоновый фрагмент (O, Cl, F и S) [56]. Исследования показывают, что замена радикала алкилом или галогеном обеспечивает лучшую эффективность. Введение фурана в качестве гетероароматического кольца вместо тиофена приводит к потере ингибирующей активности [57-58], а производные бензотиофена имеют лучшую селективность по сравнению с SGLT1 [59]. Модификация глюкозного фрагмента дапаглифлозина привела к открытию эртуглифлозина. Сравнительная характеристика фармакодинамических и кинетических параметров

эртуглифлозина и дапаглифлозином показали, что эртуглифлозин был более эффективен при добавлении к моно терапии метформином [60]. Резюмируя полученные данные испытаний канаглифлозин, эмпаглифлозин, дапаглифлозин и эртуглифлозин одобрены для лечения сахарного диабета II типа в США и Европе. В исследованиях канаглифлозина было обнаружено, что препарат снижает массу тела, систолическое и диастолическое АД [61]. Поэтому этот класс препаратов вызывает интерес для исследователей как потенциальных диуретических агентов.

Антагонисты аденозиновых A1-рецепторов приводят к ингибированию аденозином вазоконстрикции почечных артериол, увеличению диуреза и натрийуреза без ухудшения скорости клубочковой фильтрации и диуретической активности при резистентности к фуросемиду. Таким образом, антагонисты A1 являются перспективным классом препаратов для улучшения почечной функции у пациентов с сердечной недостаточностью СН [62]. К антагонистам рецептора A1 относят класс ксантинов (ролофиллин, тонапофиллин) и нексантиновые антагонисты (рис. 1.7) [63].



**Рис. 1.8. Антагонисты аденозиновых A1-рецепторов**

Были внесены некоторые изменения в структуре ксантинового каркаса: замещение в положении 8 арильными или циклоалкильными заместителями, бициклоалкильная группа представлена норадамантильным фрагментом (ролофиллин) и замещенным бицикло[2.2.2]октанильным каркасом (тонапофиллин) [64]. Несмотря на обнадеживающие данные ранней фазы, клиническое исследование ролофиллина у пациентов с острой декомпенсацией СН и объемной перегрузкой для оценки влияния лечения на застой и функцию почек показало, что этот антагонист аденозина не оказывает каких-либо положительных эффектов и был связан с повышенным риском судорог и инсульта [65, 66]. Структурный аналог ролофиллина тонапофиллин изучали у больных с СН и кардиоренальным синдромом. Исследование было прекращено досрочно из-за отсутствия явной эффективности [67]. Однако неудача ролофиллина в исследовании PROTECT и корректировка тонапофиллина с фазы III на фазу II [68, 69], а также прекращение разработки других антагонистов рецептора A1 вызвали некоторые опасения по поводу использования антагонистов A1 для лечения острой сердечной недостаточности.

Блокаторы транспортеров мочевины являются новыми и перспективными диуретическими агентами в восходящем отделе петли Генле, следовательно транспортеры мочевины (UT) в эпителиальных клетках канальцев (UT-A) и в эндотелии микрососудов (vasa recta) (UT-B), относятся к потенциальным мишеням для поиска новых кандидатов в диуретики. Образование концентрированной мочи почками включает противоточный механизм, которому способствуют AQP, NKCC2. Предполагается, что потеря функции мочевого пузыря нарушает способность к концентрации мочи, и, следовательно, мочевые пути являются потенциальными мишенями для разработки соль сберегающих диуретиков с четким механизмом действия и профилем клинических показаний [70, 71]. Сначала исследователи нацеливались на UT-B в первую очередь из-за доступности анализа с использованием эритроцитов. В результате с помощью



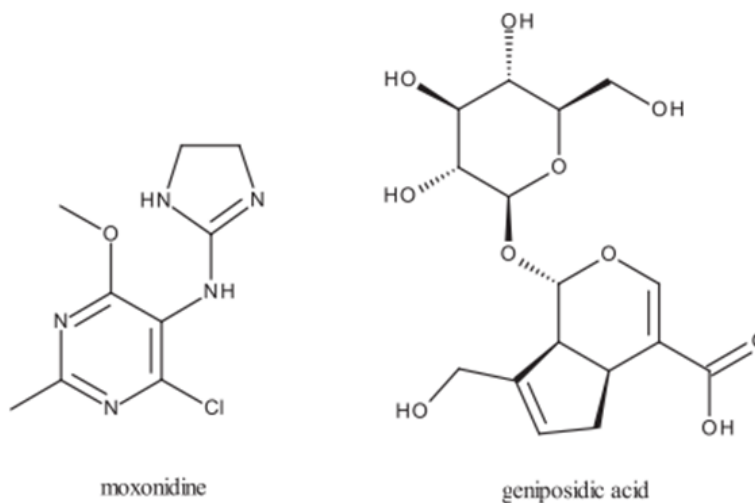
высокопроизводительного скрининга были идентифицированы ведущие молекулы из нескольких классов ингибиторов UT-B (тиенопиридины, тиенохинолины, триазолотиенопиримидины, 2,7-дизамещенные 1-фениламино-4-фенилфталазины и флуореноны. Ингибиторы UT-A могут быть эффективнее в качестве диуретиков, чем UT-B ингибиторы из-за не селективности блокировать источник мочевины во внутреннем мозговом веществе (UT A1 и UT-A3), так и противоточный обмен в сосудистых пучках (UT-A2) [72]. UT-A1, который не абсорбирует до 70% исходной отфильтрованной нагрузки мочевины, является основной изо формой белка семейства UT-A. Таким образом, предполагается, что это основная цель разработки ингибиторов [73], и, следовательно, это наиболее привлекательная цель для разработчиков диуретиков. Подавляя всасывание мочевины во внутреннем мозговом отделе собирательных трубочек, ингибиторы UT-A также увеличивают фракционное выделение мочевины. Это может иметь значение у пациентов с гипонатриемией вследствие сердечной недостаточности, у которых часто встречается азотемия [72].

В кортикальных собирательных трубочках почечный наружный медулярный калиевый канал (ROMK) играет роль в секреции калия, которая тесно связана с поглощением натрия посредством чувствительного к амилориду ENaC. В утолщенной восходящей петле Генле калиевый канал обеспечивает рециркуляцию калия через просветную мембрану, что необходимо для эффективного функционирования чувствительного к фуросемиду Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/2Cl<sup>-</sup>-канала. Отток калия через соответствующий канал усиливает роль транспортеров натриевых каналов, которые являются известными мишенями диуретиков [74]. В последние годы понимание физиологической роли калиевых каналов играет важную роль для разработки инновационного класса диуретиков для лечения артериальной гипертензии и сердечной недостаточности, а именно ингибиторов этой мишени [75]. Были найдены низкомолекулярные молекулы, которые обладали в экспериментальных скринингах такой способностью: нитрофенильные [76],

пиперазинсодержащие [77, 78], спироциклические [79, 80] вещества и ингибиторы на основе сульфаниламидов [81].

Рецепторы натрийуретического пептида (NPRs) регулируют уровень натрия в сосудах и представляют значительный интерес для лечения гипертензии и связанных с ней сердечно-сосудистых заболеваний. Натрийуретический пептид (ANP) или натрийуретический фактор (ANF) является первым эндогенным гормоном, выделенным из сердца в качестве мощного натрийуретического или диуретического и гипотензивного фактора. ANP вызывает глубокий натрийурез, гипотензию и ингибирование секреции альдостерона у млекопитающих и амфибий. У человека является важной мишенью для диагностики и лечения сердечной недостаточности СН. Ингибирование этого пептида приводит к чувствительной гипертензии [82]. Многие исследователи в области фармакологии считают, что это встроенные биомаркеры, отражающие состояние сердца [83]. Уларитид представляет собой синтетическую форму уродилатина, природного натрийуретического пептида человека. Уродилатин вырабатывается в почках и выводится с мочой и, таким образом, естественным образом присутствует в низких концентрациях в системном кровообращении. В 2017 году было представлено и опубликовано исследование III фазы уларитида как потенциального средства лечения пациентов с острой сердечной недостаточностью СН. Результаты этого исследования показывают, что терапия уларитидом может оказывать благоприятное влияние на гемодинамику и снижать нагрузку на сердечную стенку, но не уменьшает повреждения миокарда и не влияет на прогрессирование заболевания, на что указывает отсутствие изменений риска смерти от сердечно-сосудистых заболеваний [84]. Натрийуретические пептиды могут быть вовлечены в острые и хронические эффекты моксонидина, который является антигипертензивным препаратом нового поколения, агонистом альфа-2/имидазолиновых рецепторов [85]. Генипозидовая кислота, природный иридоидный глюкозид, также повышает уровень натрийуретического

пептида ANP в плазме, усиливая его секрецию кардиомиоцитами. Благодаря этому влиянию генипозидовая кислота значительно снижала АД у крыс [86].



**Рис. 1.9. Активаторы натрийуретического пептида**

Резистентность к диуретикам, комбинации диуретиков, способных влиять на разные сегменты нефрона и на пути, отличающиеся от традиционных, могут помочь улучшить эффективность диуретиков. Перспективными являются агенты, которые стимулируют диурез с минимальным салуретическим эффектом, таких как ингибиторы UT-A1. Показания к применению ингибиторов SGLT2 и антагонистов рецепторов вазопрессина различны и в настоящее время ограничиваются лечением сахарного диабета 2 типа, поликистозного заболевания почек и гипонатриемических синдромов. Агонисты натрийуретического пептида, являясь биомаркерами состояния сердца и сердечных заболеваний, также могут стать полезным компонентом лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Современные исследования, направленные на глубокое изучение функций каналов и транспортеров, исследования в сфере модификации активных базовых скаффолдов дадут возможность эффективного поиска нового диуретика.

## ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 1

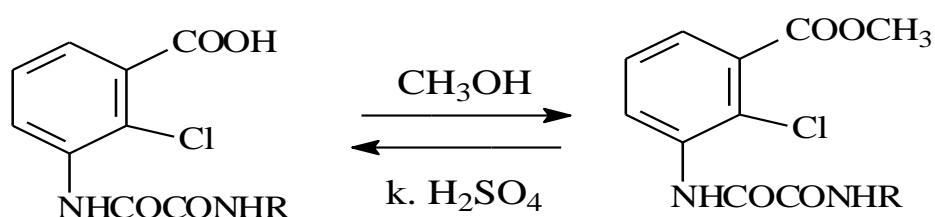
1. Систематизированы и обобщены данные литературных источников касательно фундаментальных исследований диуретиков и современных тенденций поиска новых кандидатов
2. Выявлены новые классы веществ, которые способны увеличивать диурез без влияния на пути солевой ре абсорбции, что в свою очередь может расширить показания к применению при сердечно-сосудистых заболеваниях, в частности застойной сердечной недостаточности (СН), отечных синдромах почечного происхождения, а также поликистозной болезни почек.
3. Проанализированные данные современных исследований, направленные на изучение функций каналов и транспортеров, а также исследований в сфере модификации активных базовых скаффолдов дают основания для эффективного поиска нового диуретика.

## РАЗДЕЛ 2. ХАРАКТЕРИСТИКА И АРГУМЕНТАЦИЯ ВЫБОРА ОБЪЕКТОВ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Характеристика объектов исследований.

Для виртуальной стыковки были использованы метиловые эфиры амидов 3-карбоксихлороксаниловой кислоты, полученные этерификацией по Фишеру на кафедре медицинской химии согласно схемы:

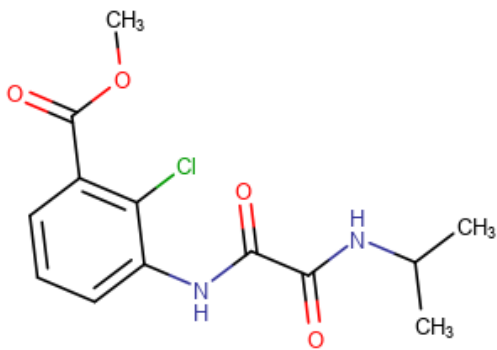
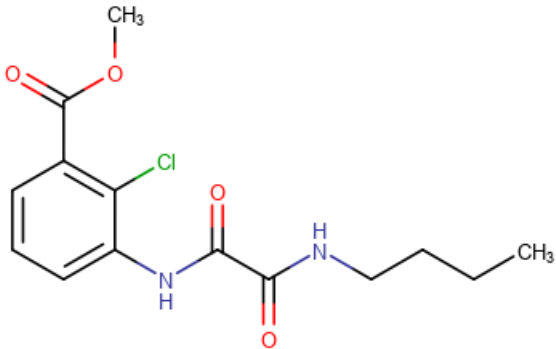
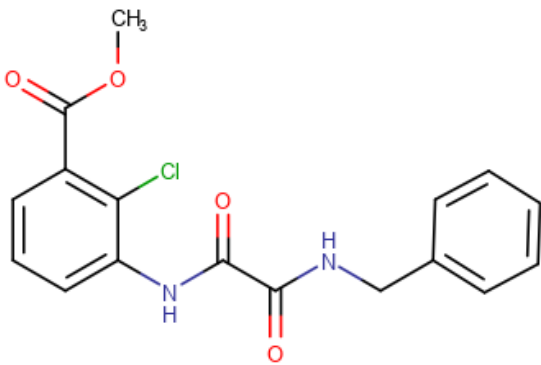
**Схема 2.1.**



Диуретическая активность и структурные формулы целевых молекул представлены в таблице 2.1

**Таблица 2.1 Диуретическая активность и структурные формулы  
целевых молекул**

Молекула	Структурная формула	Активность % (50 мг/кг)
Молекула 1		200

Молекула 2		80
Молекула 3		75
Молекула 4		142
Гипотиазид		212

Фармакологический скрининг на диуретическую активность показал, что метиловые эфиры 3-карбокси-2-хлороксаниловой кислоты в дозе 50 мг/кг

оказывают умеренное диуретическое действие. Среди них самый высокий показатель у соединения 1, но ни одно из веществ не превышает действие референс-препарата.

## **2.2. Характеристика и аргументация выбора метода *in silico* исследования**

Доминирующей стратегией разработки новых лекарств является изучение химических взаимосвязей между лекарством и его мишенью. Исследователь использует информацию, полученную от взаимодействий, характеризующих лекарства-кандидаты и их мишени, для поиска новой молекулы для разработки. Вычислительные методы сыграли важную роль в этих исследованиях, предоставив эффективные, точные и всеобъемлющие способы анализа и интерпретации массивных данных. Эти методы помогли компенсировать любые ограничения в экспериментальных методах, включая наличие биологических и технических шумов. Эти методы потенциально полезны для идентификации малых молекул в биологических исследованиях. Например, связывание лиганда в ферментативных реакциях, а затем их ингибирующее действие играет важную роль в широком спектре заболеваний при разработке новых лекарств [87].

Молекулярный докинг - это процедура решения задач оптимизации или моделирования, которая является важным инструментом поддержки принятия решений на ранних стадиях открытия лекарств. Этот метод может быть интегрирован с другими тактиками компьютерного дизайна лекарств, такими как моделирование фармакофоров и молекулярная динамика (МД), чтобы найти наилучшее соответствие комплексов лекарство-белок. Нами были собраны основные сведения о методах моделирования докинга, включая алгоритмы поиска и оценки, а также различные типы энергий взаимодействия, такие как электростатическая энергия, потенциал Ван-дер-Ваальса и водородные связи в комплексах лиганд-мишень (белок).

Биомолекулярное распознавание происходит на основе химических взаимодействий между лигандом и его специфическим рецептором (мишенью/белком) в живом организме. Белки продвинулись вперед, чтобы использовать «высокую специфичность» для связывания лигандов с тенденцией точно удовлетворять потребности клетки [88]. Наше понимание и знание химических взаимодействий регулярно улучшаются благодаря кристаллической структуре на уровне атомарного разрешения. В связи с этим существует множество биохимических баз данных и инструментов, которые в настоящее время представляют собой мощные системы для сбора, организации, хранения и анализа огромных объемов различных собранных данных. Кроме того, исследователи могут получить доступ к различным структурам PDB для изучения рецепторов или мишеней, участвующих в разработке лекарств. В связи с этим наука о данных представляет множество новых алгоритмов, архитектур, методов и средств аналитики для обработки сложных и разнообразных таких данных. Кроме того, эти инструменты могут извлекать скрытые знания и ценную информацию для облегчения принятия решений по выявлению и решению проблем [89]. Структурная информация о белках открывает новый способ использования различных инструментов, таких как виртуальный скрининг, для поиска других результатов и перехода к эффективному лекарству [90]. На ранних стадиях открытия лекарств исследователи тестируют тысячи природных продуктов или растительных экстрактов, небольших молекул и поиск потенциальной молекулы для разработки в качестве лекарства. Если они получают потенциального кандидата на попадание, они перемещают его на следующий этап оптимизации. Поэтому первым этапом важного проекта по поиску активных молекул является «идентификация попаданий». В этой практике идентифицируются хиты или небольшие химические соединения, которые связываются с белком и изменяют его задачу. Таким образом, попадания в идеале демонстрируют некоторую степень специфичности и эффективности по отношению к цели. Высококачественные начальные хиты получают более



быстрое движение с более низкими показателями истощения в плане поиска активных агентов [91].

Практика скрининга попадания состоит из высокопроизводительного скрининга (HTS), процесса с использованием автоматизированного лабораторного оборудования, которое может быстро исследовать взаимодействие между биологическими мишенями и лекарствами-кандидатами. Прогресс современных вычислений позволил средствам HTS ежедневно проверять много потенциальных лекарств. В дополнение к HTS, текущие программы разработки лекарств полагаются на вычислительный процесс *in silico*, такой как молекулярная стыковка. Таким образом, моделирование стыковки лиганда и рецептора является ранним методом изучения потенциальных новых хитов на этапах открытия лекарств.

Это похоже на концепцию фермента «замок и ключ», где ключом является небольшая молекула / лиганд, а замок - это рецептор с карманом для связывания белка. С вычислительной точки зрения, молекулярный докинг — это задача оптимизации для поиска наилучшего решения. Это равнозначно подгонке и/или настройке лиганда в положении кармана рецептора [92].

В частности нами рассмотрена стыковка лиганда с рецептором или приспособление лиганда к карману для связывания белка и взаимодействия, влияющие на оптимальное расположение комплексов белок-лиганд. Цель состоит в том, чтобы найти точное положение лиганда из нескольких возможных положений. Также указывается, какие типы межмолекулярных взаимодействий хорошо подходят для определения силы аффинности связывания и ее особенностей.

Молекулярное/биохимическое взаимодействие естественным образом происходит между молекулами в клетке в течение нескольких секунд. Процесс молекулярной стыковки моделирует эти биохимические взаимодействия, чтобы угадать, где и как две молекулы будут связываться. Результаты крупномасштабного моделирования стыковки молекул могут дать ценную информацию о взаимоотношениях между двумя молекулами.

Это можно рассматривать как полезный метод для биомедицинских исследователей перед выполнением тестов *in vivo* или *in vitro*. В области молекулярного моделирования термин «молекулярная стыковка» обсуждает основанный на компьютере метод, который предсказывает энергию взаимодействия между двумя молекулами на основе их трехмерных (3D) структур. Процесс молекулярной стыковки включает встраивание молекул в подходящей конформации для связи с мишенью. По сути, процесс докинга представляет собой поиск наиболее низкоэнергетической конформации кандидата в лекарство в активном центре макромолекулы (белков и иногда ДНК). Он использует как информацию, описывающую конформацию лиганда, так и информацию об ориентации кандидата в лекарство относительно активного центра. Этот процесс в основном объединяет такие алгоритмы, как генетический алгоритм, моделирование Монте-Карло, МД и системы поиска на основе фрагментов, которые находят наиболее подходящее лекарство-кандидат в полости белка. Таким образом, процесс докинга может идентифицировать конформацию связывания и предсказать аффинность связывания кандидата в лекарство в активном центре белка.

Белковый комплекс является фундаментальной функциональной единицей биологических процессов практически во всех клетках. Для выполнения различных клеточных задач белки могут неспецифическим образом связываться с нуклеиновыми кислотами, другими белками-партнерами и малыми молекулами или терапевтическими моноклональными антителами. Такие клеточные комплексы мало влияют на кинетику и/или термодинамику биохимических реакций или переводят клеточные системы из одного состояния в другое. Соответственно, подробное описание белковых взаимодействий важно для глубокого понимания биологических систем в отношении активности и эффективности лекарств. Установившееся равновесие между связанным и несвязанным состояниями комплекса лиганд-белок является следствием всех или некоторых взаимодействий, таких как дисперсионные взаимодействия, ван-дер-ваальсовские взаимодействия,

водородные связи, диполь-дипольные взаимодействия и ионные взаимодействия. Помимо этих нековалентных взаимодействий, белки могут быть ковалентно модифицированы в присутствии специфических химических фрагментов, которые образуют ковалентную связь с соответствующей аминокислотой в белке [93].

В типичной модели взаимодействия между двумя молекулами важны следующие энергии:

- Энергия (де)сольватации
- Гидрофобность
- Электростатика (не связывающие взаимодействия)
- Н-связь (отдача и принятие водородных связей)
- Ван-дер-Ваальса (не связывающие взаимодействия)
- Контакты (энергия контакта обозначает процесс де сольватации и, таким образом, в значительной степени зависит от растворителя).

Было разработано несколько методов, включая спектроскопию, биохимические/объемные методы, исследования отдельных молекул и структурный анализ для контроля взаимодействия между белками и лигандами. Кроме того, дополнительные вычислительные инструменты для поиска новых лигандов для определенного сайта связывания белка являются привлекательным выбором в фармацевтической промышленности и научных исследованиях. Моделирование МД или докинг белков можно использовать в качестве дополнительного способа прогнозирования макромолекулярных сборок в сетях белок-белковых взаимодействий (PPI) и ансамбля возможных взаимодействий [94].

Конечно, гибкость малой молекулы в процессе связывания заметно выше, а вычислительная стоимость ниже, чем необходимая для оценки PPI. Таким образом, стыковка малых молекул стала активной областью исследований в компьютерной разработке лекарств.

Здесь мы описываем эффективные взаимодействия при высокопроизводительном докинге (HTD), начиная со структуры типичного

целевого белка. В связи с этим разработан ряд программ и популярных программ. В большинстве случаев полезный поиск можно осуществить с помощью бесплатных программ. Таким образом, любые полученные хиты остаются в виртуальной форме до тех пор, пока не будут проверены экспериментально.

Электростатическая энергия в комплексах белок-лиганд играет важную роль в разработке лекарств, виртуальном скрининге и стыковке белок-белок. Когда лекарство связывается со своим белком-мишенью, наблюдается частое изменение состояния протонирования. При расчете энергии связи небольших органических молекул у нас есть возможность быстро оценить потенциал небольшой молекулы в «сайте связывания» белка-мишени. Кукич и Нильсен сделали обзор моделирования электростатических эффектов в комплексах белок-лиганд и белках. Они также обсудили несколько алгоритмов вычисления электростатической энергии в белках с использованием экспериментальных данных. Некоторые из доступных докинг-программ для изучения данных взаимодействий Molegro Virtual Docker, AutoDock4 и AutoDock Vina [95, 96].

Принимая во внимание эти программы и их оценочные функции, можно сказать, что уравнения оценочных функций суммируют различные типы взаимодействия белок-лиганд для моделирования аффинности связывания. Большинство оценочных функций учитывают электростатические взаимодействия между двумя молекулами во взаимодействиях белок-лиганд. В связи с этим, например, в парных исследованиях белков в области сетей PPI, ZDOCK, общий алгоритм стыковки, использует быстрое преобразование Фурье для глобального поиска, чтобы найти сайты стыковки с учетом комплементарности формы, статистических данных.

Как правило, типичная оценочная функция использует несколько приближений для описания межмолекулярных и внутримолекулярных взаимодействий в ассоциации рецептора и лиганда для определения

межмолекулярных энергетических взаимодействий. В результате отдельные функции оценки несовершенны, и исследователь должен разумно проверять или комбинировать другие функции, чтобы повысить ценность результатов стыковки.

Сила Ван-дер-Ваальсовских взаимодействий является фактором, способствующим образованию комплексов белок-лиганд. Эта сила может быть вычислена с помощью физических моделей, учитывающих потенциал Леннарда-Джонса, которые могут точно предсказать ван-дер-ваальсовы взаимодействия со сложным расчетом, что позволяет использовать ее для моделирования стыковки молекул и виртуального скрининга большой базы данных лигандов. Одной из самых сложных тем в структурной биологии является предсказание молекулярного связывания пар белок-лиганд или белок-белок [97]. Основные проблемы заключаются в следующем: надежная оценка свободных энергий связи для пристыкованных состояний; учет возможных ориентаций пристыковки в ситуации с высоким разрешением; учет структурных перемещений и перемещения стыковочных поверхностей. Механизм обычно реализуется за счет уточнения формы и не ковалентных интерфейсов (ван-дер-ваальсовых взаимодействий, водородных связей, солевых мостиков и т. д.) между ингибитором и остатками целевого сайта связывания. Некоторые эмпирические оценочные функции используют приблизительные взаимодействия Ван-дер-Ваальса с потенциалом Леннарда-Джонса для оценки взаимодействий белок-лиганд для конкретной биологической системы. Процессы стыковки для ковалентной связи отличаются от не ковалентной, даже при использовании одного и того же программного обеспечения. Особое внимание уделялось разработке основных методов докинга для оперативной оценки способов связывания не ковалентных ингибиторов.

Важной темой является значение Н-связей в аффинности связывания целевого лекарственного средства. На самом деле энергетический анализ и оценка потенциала водородных связей имеют особое значение при

разработке и разработке лекарственных средств из-за их присутствия и возможности взаимодействия белок-лиганд [98]. Н-связь стабилизирует белки во вторичной структуре белка и определяет альфа-спираль и бета-листы в белковых структурах. Таким образом, Н-связи присутствуют в природе повсюду и играют различную роль в некоторых природных процессах, таких как сворачивание белка, взаимодействие белок-лиганд, катализ. В каждом взаимодействии Н-связи мы можем представить диполь-дипольное взаимодействие как результат вносящих вклад акцепторных (А) и донорных (D) атомов. Н-связи повышают эффективность различных функций клеточной системы за счет усиления молекулярных взаимодействий. Следовательно, величина и механизм, с помощью которого водородные связи регулируют молекулярные взаимодействия, представляют большой интерес для понимания биомолекулярного взаимодействия из-за постоянной конкуренции между процессом водородных связей и объемной водой. Расположение атомов водорода в функциональной группе определяет способность к образованию водородных связей. Поэтому точных данных о местах Н-атомов в белках нет. Высокая подвижность атомов Н приводит к нескольким степеням свободы: состояниям протонирования, когда может изменяться число атомов Н в функциональной группе, изменениям кручения, когда положение атома Н вращается вокруг последней связи тяжелого атома в остаток и таутомерные состояния, в которых атом Н меняет своего партнера по связыванию [99].

Процесс связывания лиганда с белком представляет собой сложное явление, на которое влияют сольватация и де сольватация, когда ассоциированные элементы несколько десольватируются. Эта термодинамически обусловленная цепь событий побуждает к организации идеального взаимодействия между лигандом и белком, где гидрофобные контакты являются главными движущими силами. Гидрофобные фрагменты связывают партнеров вместе, чтобы уменьшить связи с оболочкой. На самом деле, гидрофобные взаимодействия являются основной движущей силой для

взаимодействия и/или образования белок-лиганд. Хорошо известно, что увеличение гидрофобных взаимодействий является ключевой проблемой для оптимизации свинца, поскольку это часто связано с увеличением молекулярной массы лиганда, вращающихся связей и липофильности, и все это нарушает свойства ADMET лигандов. Таким образом, разработка лигандов с высокой аффинностью связывания и удовлетворительными свойствами ADMET является серьезной и часто дорогостоящей задачей [100]. В связи с этим ранние исследования показали корреляцию между изменением теплоемкости при сворачивании или разворачивании белка и изменением сольватации полярной или гидрофобной поверхности с эффектами теплоемкости переноса небольших молекул углеводов в водный раствор.

Характеристика взаимодействия между малыми гидрофобными лигандами и белками методом прямой масс-спектрометрии (МС) обычно проблематична из-за нестабильности этого комплекса в газовой фазе. Сю и др. разработали непрямой метод оценки связывания малых гидрофобных лигандов с типичными белками путем сочетания МС с ионизацией электрораспылением и обменом водорода/дейтерия. Он исследует эффективность лиганд-белковых взаимодействий, используя мониторинг изменений в гибкости белка [101]. Было исследовано многоцелевое связывание малых молекул с низким сродством к соответствующим мишеням. Они изучили задачу аффинности связывания лекарственного средства с гидрофобным карманом киназы c-Src и c-Abl. Они проводили исследования силсил-докинга с использованием программных модулей ZDOCK, CDOCKER, LigandFit и Discovery Studio. Кроме того, они сравнили взаимодействия Н-связей состыкованных молекул с помощью программы LigPlot. Они показали, что аффинность связывания может быть преобразована путем интеграции конформационно предпочтительных функциональных групп в активный центр интерфейса лиганд-мишень. Их

результаты показали, что оптимизированные гидрофобные взаимодействия и водородные связи стабилизируют лиганды в месте связывания.

В настоящее время мы наблюдаем массовый рост успешных применений вычислительных стратегий в различных кампаниях по поиску лекарств. Молекулярный докинг часто используется, чтобы выяснить, как небольшая молекула взаимодействует с белком-мишенью. Молекулярный докинг прогнозирует поведение малых молекул в карманах связывания белков-мишеней и распознает правильное положение малых молекул в кармане связывания, а также предсказывает сродство между лигандом и белком. Несомненно, молекулярный докинг играет многообещающую роль в идентификации попаданий и оптимизации потенциальных кандидатов при открытии новых лекарств.



## ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 2

1. Для виртуальной стыковки были использованы метиловые эфиры амидов 3-карбоксит-2-хлороксаниловой кислоты, полученные этерификацией по Фишеру на кафедре медицинской химии. Фармакологический скрининг целевых молекул показал умеренную диуретическую активность, что послужило дальнейшему исследованию возможных механизмов связывания потенциальных молекул с соответствующим транспортером ионов.
2. Зафиксирован массовый рост успешных применений вычислительных стратегий в различных кампаниях по поиску лекарств, доминирующей стратегией которых является изучение химических взаимосвязей между лекарством и его мишенью. Установлено, что информация, полученная при молекулярной стыковки (докинга) о характере межмолекулярных взаимодействий с минимизацией энергетического потенциала лекарства-кандидата и соответствующей мишени, играет важную роль в широком спектре заболеваний при разработке новых лекарств.

### РАЗДЕЛ 3. ВИРТУАЛЬНАЯ СТЫКОВКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДИУРЕТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ АМИДОВ 3-КАРБОКСИ-2-ХЛОРОКСАНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

Для виртуальной молекулярной стыковки (докинга) использовали пакет программ Autodock 4.2. Подготовку лигандов проводили с помощью программы MGL Tools 1.5.6. Оптимизация лигандов в соответствующий формат PDB проводилась с помощью приложения Avogadro. Для проведения молекулярной стыковки исходные форматы исследуемых молекул и мишени в программе Autodock 4.2 были сконвертированы в специальный формат PDBQT. Программные приложения MGL Tools и AutoGrid использовались для создания карты рецептора. Из PDB файлов были удалены молекулы воды, ионы и лиганды.

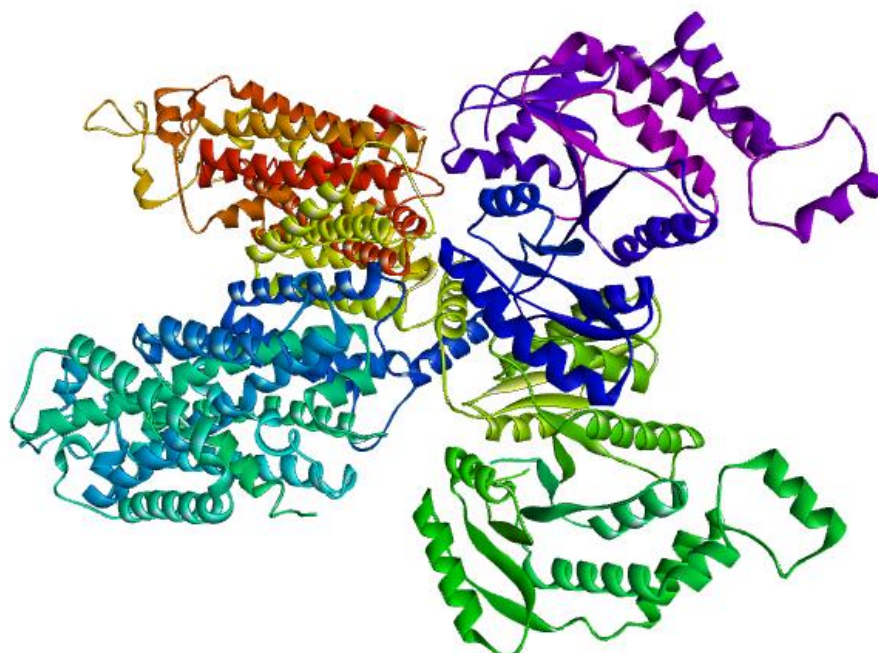
Все необходимые параметры, которые задают в Autodock 4.2. приведены в таблице 3.1

**Таблица 3.1. Параметры виртуальной молекулярной стыковки  
(докинга)**

Параметр	Значения
шаг поступательного движения	2 Å
толерантность кластера	2 Å
коэффициент торсионной свободы	0,2983
внешняя энергия решетки	1000
максимальная начальная энергия	0
максимальное количество попыток	10000
количество структур в популяции	150
максимальное количество генераций	27000
максимальное количество этапов оценки энергии	2500000
количество структур, переходящих в следующее поколение	1

уровень кроссовера	0.8
способ кроссовера	арифметический
$\beta$ -параметр распределения Гаусса	1
$\alpha$ -параметр распределения Гаусса	0
уровень генной мутации	0,02

Ко транспортер-1 Na-K-2Cl (NKCC1) является электронейтральным Na<sup>+</sup>-зависимым переносчиком, ответственным за одновременную транслокацию ионов Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> в клетки. В тканях человека NKCC1 играет критическую роль в регуляции объема цитоплазмы, потребления жидкости, гомеостаза хлоридов и клеточной полярности. Для изучения возможного механизма связывания и определения уровня аффинности полученных производных амидов 3-карбоксит-2-хлороксаниловой кислоты как потенциальных диуретических агентов была взята из PROTEIN DATA BANK кристаллографическая модель NKCC1 (PDB ID: 7MXO) (рис. 3.1.)



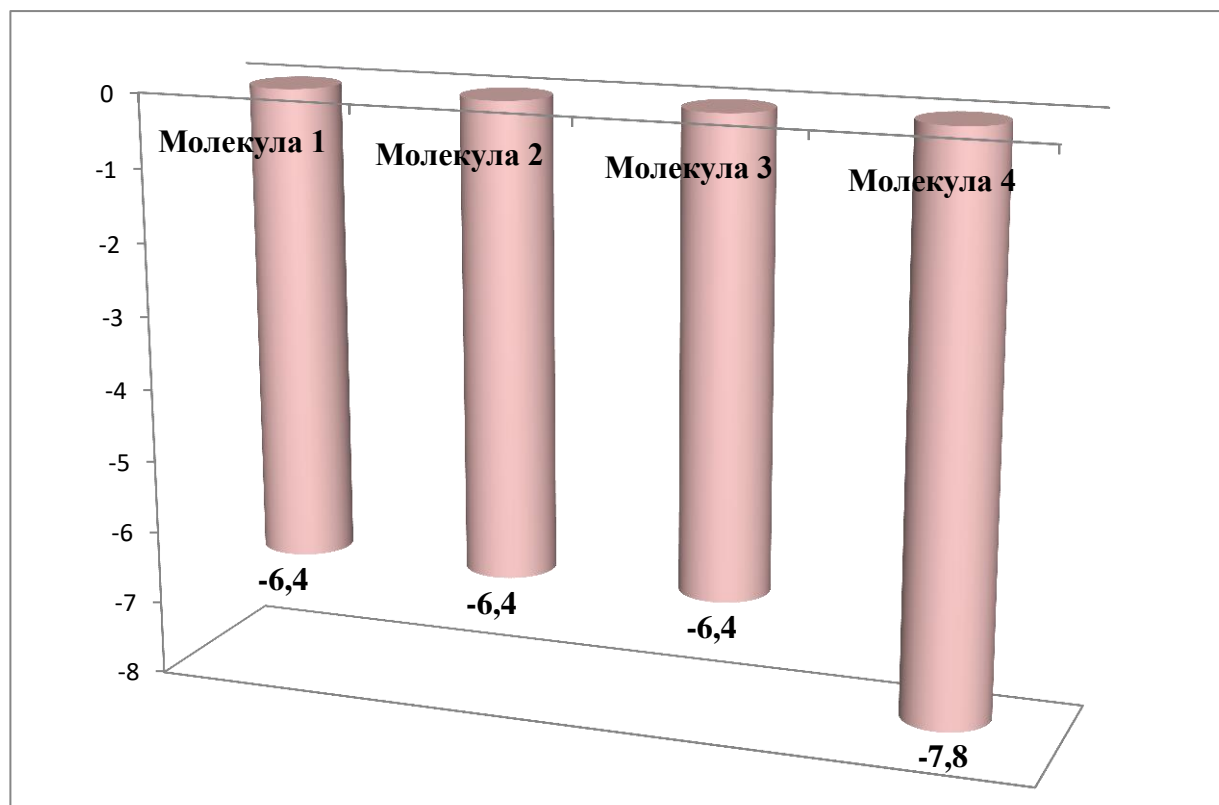
**Рис. 3.1. Кристаллографическая модель ко транспортера-1 Na-K-2Cl (NKCC1) (PDB ID: 7MXO)**

Здесь сообщается о четырех структурах НКСС1 человека (hNKCC1) как в отсутствие, так и в присутствии петлевого диуретика (буметанид или фуросемид), используя криоэлектронную микроскопию отдельных частиц. Эти структуры позволяют нам непосредственно наблюдать различные новые конформации димера hNKCC1. Они также обнаруживают два сайта связывания лекарственного средства, расположенные в трансмембранном и цитозольном карбоксильных концевых доменах соответственно. Результаты взаимодействия позволяют определить механизм ингибирования, который включает связанное движение между цитозольным и трансмембранным доменами hNKCC1 [102].

По результатам виртуальной стыковки были получены следующие оценочные значения:

- Скоринговая функция (Affinity DG). Данное значения определяет энтальпийную составляющую свободной энергии связывания. Значение данной функции дает прогноз наиболее вероятного связывания исследуемых молекул с выбранным рецептором.
- Свободная энергия связывания (EDoc ккал/моль). Дает оценку образованию комплекса между молекулой с лучшим конформационном положении и мишенью, а также прогнозирует устойчивость образованных комплексов
- Константа связывания (Ki). Данное значение имеет нано-, микро- и мили- молярный диапазоны измерений. Чем меньше концентрация вещества, необходимая для образования комплекса, тем вероятней избирательность действия на исследуемую мишень.

Величины оценочных значений виртуальной молекулярной стыковки имеют соответствующую корреляцию полученных измерений. На рис. 3.2 и табл. 3.2 представлены вычисленные значения скоринговой функции, энергии и констант связывания.



**Рис. 3.2.** Значения скоринговой функции (Affinity DG) с ко транспортером-1 Na-K-2Cl (NKCC1) (PDB ID: 7MXO)

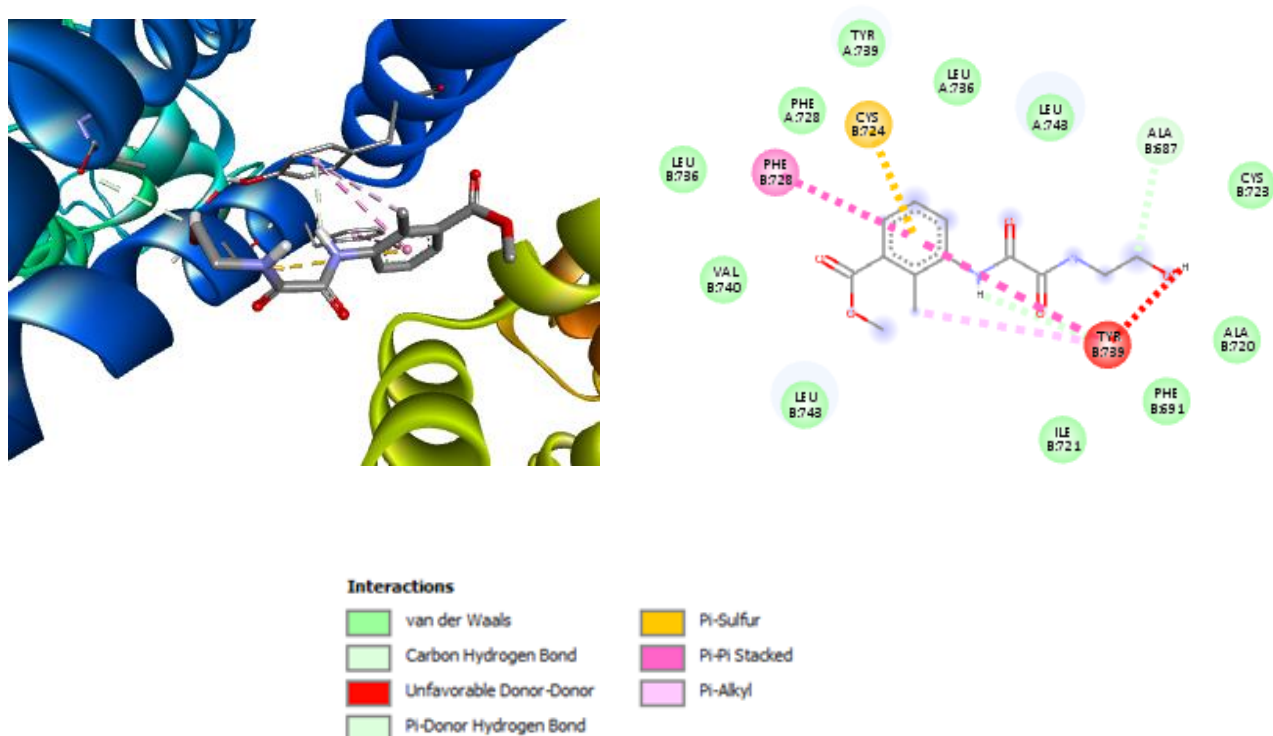
**Таблица 3.2.** Значения свободной энергии связывания и констант связывания с ко транспортером-1 Na-K-2Cl (NKCC1) (PDB ID: 7MXO)

Молекула	Оценочные значения	
	EDoc kcal/mol	Ki
Молекула 1	-4.87	270.66 $\mu$ M
Молекула 2	-4.73	339.29 $\mu$ M
Молекула 3	-4.83	275.29 $\mu$ M
Молекула 4	-6.29	24.69 $\mu$ M

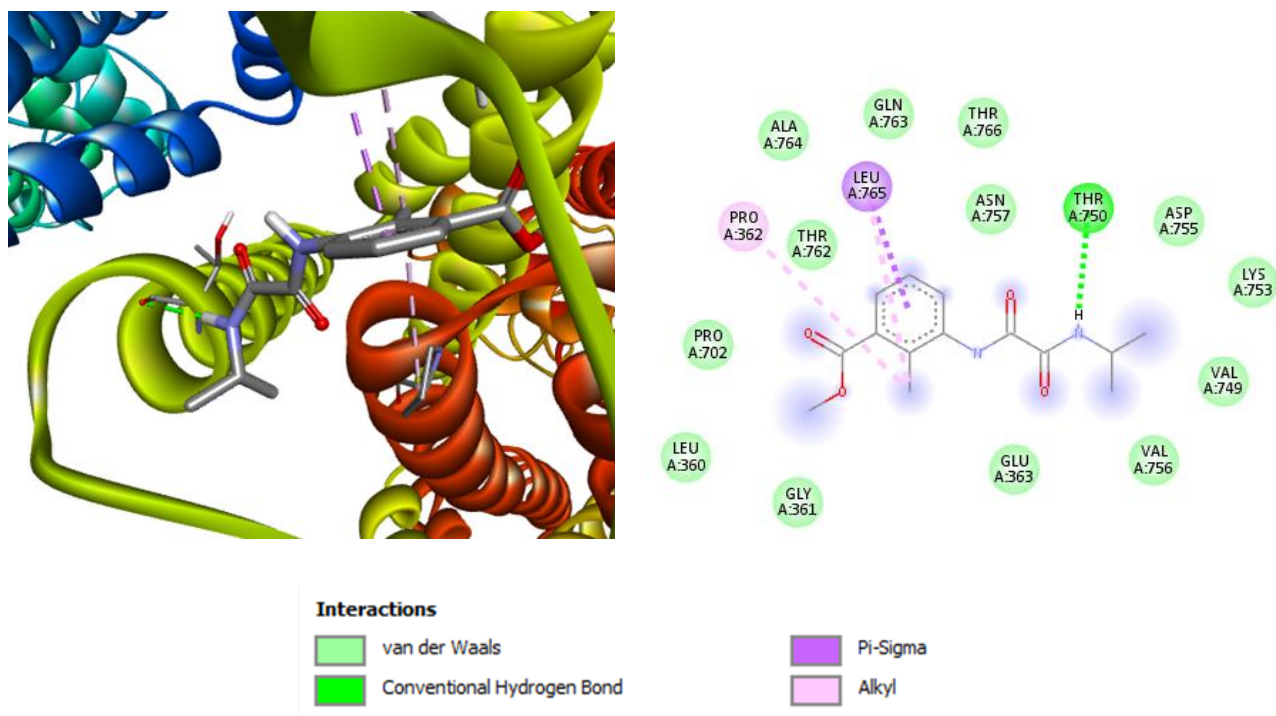
Рассчитанные значения указывают на умеренную активность по отношению к ко транспортеру-1 Na-K-2Cl (NKCC1).

Способность исследуемых молекул влиять на ко транспортер-1 Na-K-2Cl (NKCC1) может быть реализована за счет образования между ними комплексов, устойчивость которых обеспечивается за счет энергетически выгодного конформационного положения тестируемых молекул в активном сайте связывания. Возможность образования комплексов молекула-мишень возможна за счет межмолекулярных взаимодействий между ними: водородных связей, электростатических и гидрофобных контактов. Возможность образования устойчивых комплексов коррелирует с полученными оценочными значениями и данными экспериментального скрининга на диуретическую активность.

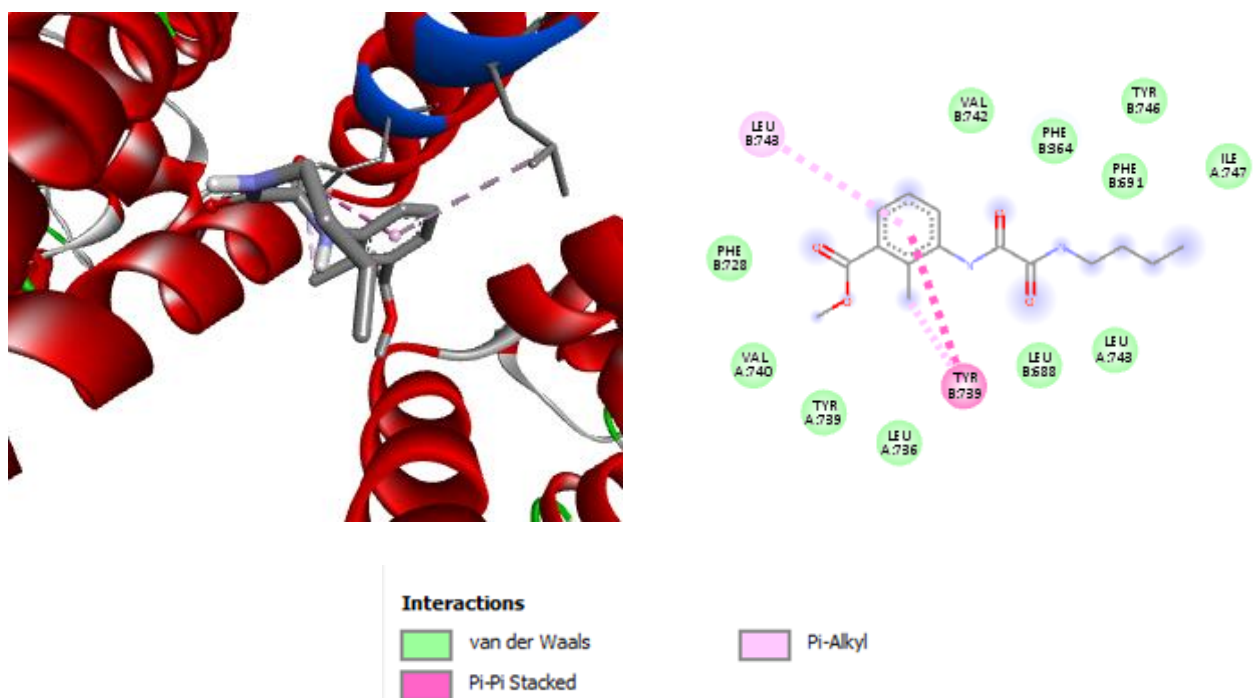
Визуализация образованных комплексов проводилась с помощью программы Discovery Studio Visualizer и представлена на рис. 3.3-3.6.



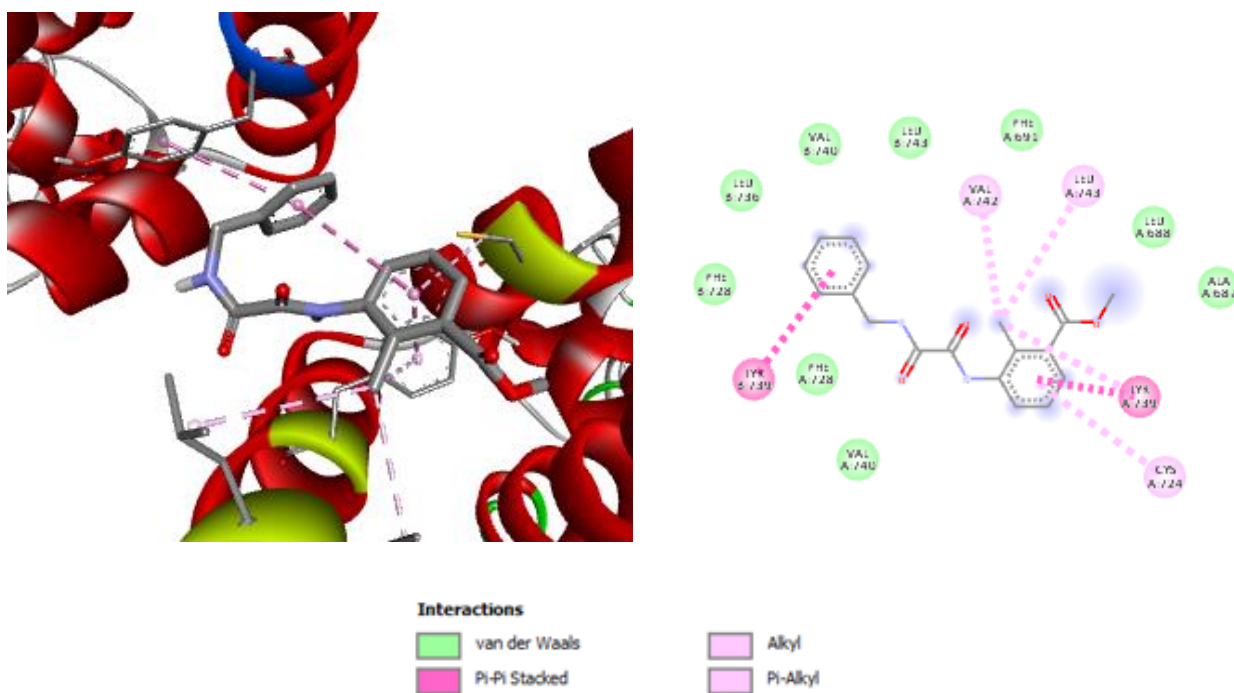
**Рис. 3.3. Диаграмма межмолекулярных взаимодействий и суперпозиция молекулы 1 в комплексе с ко транспортером-1 Na-K-2Cl (NKCC1) (PDB ID: 7MXO)**



**Рис. 3.4.** Диаграмма межмолекулярных взаимодействий и суперпозиция молекулы 2 в комплексе с ко транспортером-1 Na-K-2Cl (NKCC1) (PDB ID: 7MXO)



**Рис. 3.5.** Диаграмма межмолекулярных взаимодействий и суперпозиция молекулы 3 в комплексе с ко транспортером-1 Na-K-2Cl (NKCC1) (PDB ID: 7MXO)



**Рис. 3.6. Диаграмма межмолекулярных взаимодействий и суперпозиция молекулы 4 в комплексе с ко транспортером-1 Na-K-2Cl (NKCC1) (PDB ID: 7MXO)**

Проведенное моделирование стыковки исследуемых производных амидов 3-карбокси-2-хлороксаниловой кислоты и ко транспортера-1 Na-K-2Cl может быть использовано для изучения потенциальных новых диуретиков. Полученные оценочные значения и подробная визуализация образования комплексов может быть полезна также для оптимизации поиска новых кандидатов данного ряда.



### ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 3

1. Для изучения возможного механизма связывания и определения уровня аффинности полученных производных амидов 3-карбоксит-2-хлороксаниловой кислоты как потенциальных диуретических агентов была взята из PROTEIN DATA BANK кристаллографическая модель NKCC1 (PDB ID: 7MXO). Выбор биомимики связан с возможностью ко транспортера-1 Na-K-2Cl (NKCC1) осуществлять одновременную транс локацию ионов Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> в клетки и таким образом играть критическую роль в регуляции объема цитоплазмы, потребления жидкости, гомеостаза хлоридов и клеточной полярности.
2. По результатам виртуальной стыковки вычисленные значения скоринговых функции, свободной энергии и констант связывания указывает на умеренную активность по отношению к ко транспортёру-1 Na-K-2Cl.
3. Возможность образования комплексов молекула-мишень возможна за счет межмолекулярных взаимодействий между ними: водородных связей, электростатических и гидрофобных контактов и коррелирует с полученными оценочными значениям и данными экспериментального скрининга на диуретическую активность.
4. Визуализация геометрического расположения энергетически выгодного положения исследуемых производных в активных сайтах мишени свидетельствует о том, что в образовании комплексов участвуют одинаковый набор остатков аминокислотных с соответствующими ключевыми фрагментами исследуемых молекул.
5. Проведенное моделирование стыковки исследуемых производных амидов 3-карбоксит-2-хлороксаниловой кислоты и ко транспортера-1 Na-K-2Cl может быть использовано для изучения потенциальных новых диуретиков. Полученные оценочные значения и подробная визуализация образования комплексов может быть полезна также для оптимизации поиска новых кандидатов данного ряда.

## ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Систематизированы и обобщены данные литературных источников касательно фундаментальных исследований диуретиков и современных тенденций поиска новых кандидатов. Проанализированные данные современных исследований, направленные на изучение функций каналов и транспортеров, а также исследований в сфере модификации активных базовых скаффолдов дают основания для эффективного поиска нового диуретика.
2. Для виртуальной стыковки были использованы метиловые эфиры амидов 3-карбокси-2-хлороксаниловой кислоты с умеренной диуретической активностью что послужило дальнейшему исследованию возможных механизмов связывания потенциальных молекул с соответствующим транспортером ионов.
3. Для изучения возможного механизма связывания и определения уровня аффинности полученных производных амидов 3-карбокси-2-хлороксаниловой кислоты как потенциальных диуретических агентов была взята из PROTEIN DATA BANK кристаллографическая модель NKCC1 (PDB ID: 7MXO). Выбор биомишени связан с возможностью ко транспортер-1 Na-K-2Cl (NKCC1) осуществлять одновременную транс локацию ионов Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup> в клетки и таким образом играть критическую роль в регуляции объема цитоплазмы, потребления жидкости, гомеостаза хлоридов и клеточной полярности.
4. По результатам виртуальной стыковки вычисленные значения скоринговых функции, свободной энергии и констант связывания указывает на умеренную активность по отношению к ко транспортёру-1 Na-K-2Cl.
5. Возможность образования комплексов молекула-мишень возможна за счет межмолекулярных взаимодействий между ними: водородных связей, электростатических и гидрофобных контактов и коррелирует с полученными оценочными значениям и данными экспериментального скрининга на диуретическую активность.

6. Визуализация геометрического расположения энергетически выгодного положения исследуемых производных в активных сайтах мишени свидетельствует о том, что в образовании комплексов участвуют одинаковый набор остатков аминокислотных с соответствующими ключевыми фрагментами исследуемых молекул.
7. Проведенное моделирование стыковки исследуемых производных амидов 3-карбокси-2-хлороксаниловой кислоты и ко транспортера-1 Na-K-2Cl может быть использовано для изучения потенциальных новых диуретиков. Полученные оценочные значения и подробная визуализация образования комплексов может быть полезна также для оптимизации поиска новых кандидатов данного ряда.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Keller F., Hann A. Clinical pharmacodynamics: Principles of drug response and alterations in kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2018. 13. P. 1413-1420,
2. Sica D.A., Moser M. Diuretic therapy in cardiovascular disease. In hypertension, a companion to Braunwald's heart disease. Ed. HR Black and WJ Elliott. Saunders (Philadelphia). 2007. P. 213-230.
3. Jackson E. K. Diuretics. In Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 9th Ed. / J.G. Hardman, A Goodman Gilman, Lee E Limbird. McGraw Hill (New York). 1995. P. 685-714
4. Oates J.A. Antihypertensive agents and the drug therapy of hypertension. In Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 9th Ed / J.G. Hardman, A. Goodman Gilman, Lee E. Limbird. McGraw Hill (New York) 1995. P. 780-808.
5. Welling P.G. Pharmacokinetics of the thiazide diuretics. *Biopharm Drug Dispos.* 1986. 7. P. 501-535.
6. Hughes A.D. How do thiazide and thiazide-like diuretics lower blood pressure? *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2004. 5. P.155-160.
7. Duarte C.G., Winnacker J.L., Becker K.L. Thiazide-induced hypercalcemia. *N Engl J Med.* 1971. 284. P. 828-830.
8. Efficacy of eplerenone versus enalapril as monotherapy in systemic hypertension / G.H. Williams, E. Burgess, R.E. Kolloch et al. *Am J Cardiol.* 2004. 93. P. 990-996.
9. Hammarlund M.M., Paalzow L.K., Odling B. Pharmacokinetics of furosemide in man after intravenous and oral administration. Application of moment analysis. *Eur J Clin Pharmacol.* 1984. 26. P. 197-207,
10. Brater D.C., Day B., Burdette A. Bumetanide and furosemide in heart failure. *Kidney Int.* 1984. 26. P. 183-189.
11. Shankar S.S., Brater D.C. Loop diuretics: From the Na-K-2Cl transporterto clinicaluse. *AmJPhysiolRenalPhysio.* 2003. 284. P. F11-F21,

12. Everything we always wanted to know about furosemide but were afraid to ask / X Huang, E Dorhout, P Mees, Vos et al. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2016. 310. P. F958–F971.
13. Brater D.C. Diuretic pharmacokinetics and pharmacodynamics. In: *Diuretic Agents: Clinical Physiology and Pharmacology*, edited by Seldin DW, Giebisch G, San Diego, Academic Press. 1997.P. 189-208.
14. Brater D.C. Pharmacodynamic considerations in the use of diuretics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1983. 23. P. 45-62.
15. Variable furosemide absorption and poor predictability of response in elderly patients / M.D Murray, K.M. Haag, P.K. Black. *Pharmacotherapy*. 1997. 17. P. 98-106,
16. Bioavailability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of torsemide and furosemide in patients with congestive heart failure / D.L. Vargo, W.G. Kramer, P.K. Black et al. *Clin Pharmacol Ther*. 1995. 57. P. 601-609,
17. McCrindle J.L., Li Kam Wa T.C., Barron W. Effect of food on the absorption of frusemide and bumetanide in man. *Br J Clin Pharmacol*. 1996. 42. P. 743-746,
18. Kramer W.G. Effect of food on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of torsemide. *Am J Ther*. 1995. 2. P. 499-503,
19. Fewer hospitalizations for heart failure by using a completely and predictably absorbed loop diuretic / MD Murray, JA Ferguson, SJ Bennett et al. *J Gen Intern Med*. 1998. 16. P. 45-52.
20. Openlabel randomized trial of torsemide compared with furosemide therapy for patients with heart failure / M.D. Murray, M.M, Deer J.A. et al. *Ferguson, Am J Med*. 2001. 111. P. 513-520.
21. Partovian C, Coca SG, Kim N, Li SX, Testani JM, Khan U, Krumholz HM: Dominance of furosemide for loop diuretic therapy in heart failure: Time to revisit the alternatives? / B. Bikdeli, K.M. Strait, K. Dharmarajan et al. *J Am Coll Cardiol*. 2013. 61. P. 1549-1550.

22. DiNicolantonio J.J. Should torsemide be the loop diuretic of choice in systolic heart failure? *Future Cardiol.* 2012. 8. P. 707-728.
23. Torsemide versus furosemide in patients with acute heart failure (from the ASCENDHF trial) / R.J. Mentz, V. Hasselblad, A.D. DeVore. *Am J Cardiol.* 2016. 117. P. 404-411,
24. Vasavada N., Saha C., Agarwal R. A double-blind randomized crossover trial of two loop diuretics in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2003. 64. P. 632-640.
25. Furosemide absorption altered in decompensated congestive heart failure / M.R. Vasko, D.B. Cartwright, J.P. Knochel et al. *Ann Intern Med.* 1985. 102. P. 314-318.
26. Brater D.C. Pharmacokinetics of loop diuretics in congestive heart failure. *Br Heart J.* 1994. 72. P. S40–S43.
27. Knauf H., Mutschler E. Pharmacodynamic and kinetic considerations on diuretics as a basis for differential therapy. *Klin Wochenschr.* 1991. 69. 239-250.
28. Rapid dephosphorylation of the renal sodium chloride cotransporter in response to oral potassium intake in mice / M.V. Sorensen, S. Grossmann, M. Roesinger et al. *Kidney Int.* 2013. 83. P. 811-824.
29. The WNK kinase network regulating sodium, potassium, and blood pressure / E.J. Hoorn, J.H. Nelson, J.A. McCormick. *J Am Soc Nephrol.* 2011. 22. P. 605-614.
30. Compensatory distal reabsorption drives diuretic resistance in human heart failure / V.S. Rao, N. Planavsky, J.S. Hanberg et al. *J Am Soc Nephrol.* 2017. 28. P. 3414-3424.
31. Kaissling B., Bachmann S., Kriz W. Structural adaptation of the distal convoluted tubule to prolonged furosemide treatment. *Am J Physiol* 1985. 248(3 Pt 2). P. F374–F381.
32. National Heart Lung and Blood Institute Heart Failure Clinical Research Network. Efficacy and safety of spironolactone in acute heart failure: the

- ATHENA-HF randomized clinical trial / J. Butler, K.J. Anstrom, G.M. Felker et al. *JAMA Cardiol.* 2017. 2. P. 950-958.
33. Mineralocorticoid receptor antagonism in acutely decompensated chronic heart failure / J.P. Ferreira, M. Santos, S. Almeida et al. *Eur J Intern Med.* 2014. 25. P. 67-72.
34. Spironolactone to increase natriuresis in congestive heart failure with cardiorenal syndrome / F.H. Verbrugge, P. Martens, K. Ameloot et al. *Acta Cardiol.* 2018. P. 1-8.
- 35., Mineralocorticoid receptor antagonist pattern of use in heart failure with reduced ejection fraction: findings from BIOSSTAT-CHF / J.P. Ferreira, P. Rossignol, J.L. Machu et al. *Eur J Heart Fail.* 2017. 19. P. 1284-1293.
36. Determinants and impact of the natriuretic response to diuretic therapy in heart failure with reduced ejection fraction and volume overload / F.H. Verbrugge, M. Dupont, P.B. Bertrand. *Acta Cardiol.* 2015. 70. P. 265-273.
37. Knauf H., Mutschler E. Sequential nephron blockade breaks resistance to diuretics in edematous states. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1997. 29. P. 367-372.
38. Torres V.E. Vasopressin receptor antagonists, heart failure, and polycystic kidney disease, *Annu. Rev. Med.* 2015. 66. P. 195-210, <https://doi.org/10.1146/annurev-med-050913-022838>.
39. Oliva R.V., Bakris G.L. Blood pressure effects of sodium-glucose co-transport 2 (SGLT2) inhibitors, *J. Am. Soc. Hypertens.* 2014. 8. P. 330-339, <https://doi.org/10.1016/j.jash.2014.02.003>.
40. Tanindi A., Tore H.F. Use of “Vaptans” in treatment of hyponatremia, *Arch. Turkish Soc. Cardiol.* 2015. 43. P. 292-301, <https://doi.org/10.5543/tkda.2015.71508>.
41. Aditya S., Rattan A. Vaptans: a new option in the management of hyponatremia, *Int. J. Appl. Basic Med. Res.* 2012. 2. P. 77-83, <https://doi.org/10.4103/2229-516x.106347>.

42. Satavaptan - AdisInsight, n.d. <https://adisinsight.springer.com/drugs/800007591> (accessed June 10, 2020)
43. Tolvaptan-type vasopressin receptor ligands: important role of axial chirality in the active form / H. Tabata, T. Yoneda, T. Oshitari et al. *J. Med. Chem.* 2017. 60. P. 4503-4509, <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00422>.
44. Orally active, nonpeptide vasopressin V2 receptor antagonists: a novel series of 1-[4-(benzoylamino)benzoyl]-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzazepines and related compounds / H. Ogawa, H. Yamashita, K. Kondo. *J. Med. Chem.* 1996. 39. P. 3547-3555, <https://doi.org/10.1021/jm960133o>.
45. 5-Fluoro-2-methyl-N-[4-(5H-pyrrolo[2,1-c]-[1,4]benzodiazepin-10(11H)-ylcarbonyl)-3-chlorophenyl]benzamide (VPA-985): an orally active arginine vasopressin antagonist with selectivity for V2 receptors / J.D. Albright, M.F. Reich, E.G. Delos Santos et al. *J. Med. Chem.* 41. 1998. P. 2442-2444, <https://doi.org/10.1021/jm980179c>.
46. Efficacy and safety of the vasopressin V1A/V2-receptor antagonist conivaptan in acute decompensated heart failure: a dose-ranging pilot study / S.R. Goldsmith, U. Elkayam, W.H. Haught et al. *J. Card. Fail.* 2008. 14. P. 641-647, <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2008.06.003>.
47. Treatment with the V1a/V2-vasopressin receptor antagonist conivaptan increases cardiac output during exercise in patients with advanced heart failure / L. Balling, J.H. Thomsen, E. Wolsk et al. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2016. 67. P. 1319, [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(16\)31320-1](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(16)31320-1).
48. Efficacy of Vasopressin Antagonism in Heart Failure Outcome Study With Tolvaptan (EVEREST) Investigators. Effects of oral tolvaptan in patients hospitalized for worsening heart failure: the EVEREST Outcome Trial / M.A. Konstam, M. Gheorghide, J.C. Jr. et al. *Burnett. JAMA.* 2007. 297. P. 1319-1331.



49. Efficacy and safety of tolvaptan in patients hospitalized with acute heart failure / G.M. Felker, R.J. Mentz, R.T. Cole. *J Am Coll Cardiol.* 2017. 69. P. 1399-1406.
50. SECRET of CHF Investigators, Coordinators, and Committee Members. Short-term effects of tolvaptan in patients with acute heart failure and volume overload / M.A. Konstam, M. Kiernan, A. Chandler. *J Am Coll Cardiol.* 2017. 69. P. 1409-1419.
51. Sodium-glucose co-transporter 2 inhibitors and cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis / M.S. Usman, T.J. Siddiqi, M.M. Memon et al. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 2018. 25. P. 495-502, <https://doi.org/10.1177/2047487318755531>.
52. Osmotic diuresis by SGLT2 inhibition stimulates vasopressin-induced water reabsorption to maintain body fluid volume / T. Masuda, S. Muto, K. Fukuda et al. *Phys. Rep.* 2020. 8, <https://doi.org/10.14814/phy2.14360>.
53. SGLT inhibitors as antidiabetic agents: a comprehensive review / R.P. Kshirsagar, A.A. Kulkarni, R.S. Chouthe et al. *RSC Adv.* 2020. 10. P. 1733-1756, <https://doi.org/10.1039/c9ra08706k>.
54. Choi C.I. Sodium-Glucose Cotransporter 2 (SGLT2) inhibitors from natural products: discovery of next-generation antihyperglycemic agents, *Molecules* 2016. 21. P. 1136, <https://doi.org/10.3390/molecules21091136>.
55. In the search of  $\alpha$ -glycoside-based molecules as antidiabetic agents / A. Pałasz, D. Ciez, B. Trzewik et al. *Top. Curr. Chem.* 2019. 377. P. 19, <https://doi.org/10.1007/s41061-019-0243-6>.
56. Design of SGLT2 inhibitors for the treatment of type 2 diabetes: a history driven by biology to chemistry / W. Cai, L. Jiang, Y. Xie et al. *Med. Chem.* 2015. 11. P. 317-328, <https://doi.org/10.2174/1573406411666150105105529>.
57. Synthetic strategy and SAR studies of C-glycoside heteroaryls as SGLT2 inhibitor: a review / K. Haider, A. Pathak, A. Rohilla et al. *Eur. J. Med.*

- Chem. 2019. 184. P. 111773, <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111773>.
58. Discovery of canagliflozin, a novel C-glucoside with thiophene ring, as sodium-dependent glucose cotransporter 2 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes mellitus / S. Nomura, S. Sakamaki, M. Hongu et al. *J. Med. Chem.* 2010. 53. P. 6355-6360, <https://doi.org/10.1021/jm100332n>.
59. C-Glucosides with heteroaryl thiophene as novel sodium-dependent glucose cotransporter 2 inhibitors / Y. Koga, S. Sakamaki, M. Hongu et al. *Bioorg. Med. Chem.* 2013. 21. P. 5561-5572, <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.05.048>.
60. Ertugliflozin compared to other antihyperglycemic agents as monotherapy and add-on therapy in type 2 diabetes: a systematic literature review and network meta-analysis / A.M. McNeill, G. Davies, E. Kruger et al. *Diabetes Ther.* 2019. 10. P. 473-491, <https://doi.org/10.1007/s13300-019-0566-x>.
61. Efficacy, safety and regulatory status of SGLT2 inhibitors: focus on canagliflozin / B. Haas, N. Eckstein, V. Pfeifer et al. *Nutr. Diabetes.* 2014. 4, <https://doi.org/10.1038/nutd.2014.40> e143ee143.
62. Identification and optimization of substituted 5-aminopyrazoles as potent and selective adenosine A1 receptor antagonists / N. Griebenow, L. Bärnfacker, H. Meier et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010. 20. P. 5891-5894, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2010.07.095>.
63. Design and synthesis of novel, potent and selective hypoxanthine analogs as adenosine A1 receptor antagonists and their biological evaluation / S. Koul, V. Ramdas, D.A. Barawkar et al. *Bioorg. Med. Chem.* 2017. 25 P. 1963-1975, <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.02.029>.
64. Müller C.E., Jacobson K.A. Recent developments in adenosine receptor ligands and their potential as novel drugs, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 2011. 1808. P. 1290-1308, <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2010.12.017>.

65. The PROTECT pilot study: a randomized, placebo-controlled, dose-finding study of the adenosine A1 receptor antagonist rolofylline in patients with acute heart failure and renal impairment / G. Cotter, H.C. Dittrich, B. Davison Weatherley et al. *J. Card. Fail.* 2008. 14. P. 631-640, <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2008.08.010>.
66. Rolofoylline, an adenosine A1-receptor antagonist, in acute heart failure / B.M. Massie, C.M. O'Connor, M. Metra et al. *N. Engl. J. Med.* 2010. 363. P. 1419-1428, <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0912613>.
67. Ensor C.R., Russell S.D. Tonapofylline: a selective adenosine-1 receptor antagonist for the treatment of heart failure, *Expert Opin. Pharmacother.* 2010. 11. P. 2405-2415, <https://doi.org/10.1517/14656566.2010.514605>.
68. ClinicalTrials.gov, Oral tonapofylline (BG9928) in patients with heart failure and renal insufficiency, n.d. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00745316> (accessed June 10, 2020)
69. ClinicalTrials.gov, Phase 2b study to assess the safety and tolerability of IV tonapofylline in subjects with acute decompensated heart failure (ADHF) and renal insufficiency, n.d. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00709865> (accessed June 10, 2020)
70. A small molecule screen identifies selective inhibitors of urea transporter UT-A / C. Esteva-Font, P.W. Phuan, M.O. Anderson et al. *Chem. Biol.* 2013. 20. P. 1235-1244, <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2013.08.005>.
71. Esteva-Font C., Anderson M.O., Verkman A.S. Urea transporter proteins as targets for small-molecule diuretics, *Nat. Rev. Nephrol.* 2015. 11. 113e123, <https://doi.org/10.1038/nrneph.2014.219>.
72. M.A. Knepper, C.A. Miranda Urea channel inhibitors: a new functional class of aquaretics. *Kidney Int.* 2013. 83. P. 991-993, <https://doi.org/10.1038/ki.2013.94>.
73. Fenton R.A., Knepper M.A. Urea and renal function in the 21st century: insights from knockout mice, *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007. 18. P. 679-688, <https://doi.org/10.1681/ASN.2006101108>.

74. Valinsky W.C., Touyz R.M., Shrier A. Aldosterone and ion channels, in: Vitam. Horm. Academic Press Inc. 2019. P. 105-131, <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2018.10.004>.
75. The renal outer medullary potassium channel (ROMK): an intriguing pharmacological target for an innovative class of diuretic drugs / V. Calderone, A. Martelli, E. Piragine. *Curr. Med. Chem.* 2018. 25. P. 2627-2636, <https://doi.org/10.2174/0929867324666171012120937>.
76. Pore polarity and charge determine differential block of Kir1.1 and Kir7.1 potassium channels by small-molecule inhibitor VU590. S.V. Kharade, J.H. Sheehan, E.E. Figueroa. *Mol. Pharmacol.* – 2017. 92. P. 338-346, <https://doi.org/10.1124/mol.117.108472>.
77. Pharmacologic inhibition of the renal outer medullary potassium channel causes diuresis and natriuresis in the absence of kaliuresis / M.L. Garcia, B.T. Priest, M. Alonso-Galicia et al. *J. Pharmacol. Exp. Therapeut.* 2014. 348. 153-164, <https://doi.org/10.1124/jpet.113.208603>.
78. Discovery of MK-7145, an oral small molecule ROMK inhibitor for the treatment of hypertension and heart failure / H. Tang, Y. Zhu, N. Teumelsan et al. *ACS Med. Chem. Lett.* 2016. 7. 697-701, <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.6b00122>.
79. The design and synthesis of novel spirocyclic heterocyclic sulfone ROMK inhibitors as diuretics / H.R. Chobanian, Y. Guo, B. Pio et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2017. 27. P. 1109-1114, <https://doi.org/10.1016/J.BMCL.2016.10.032>.
80. Improvement of hERG-ROMK index of spirocyclic ROMK inhibitors through scaffold optimization and incorporation of novel pharmacophores / S. Dong, K. Vangelder, Z. Shi et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2017. 27. 2559-2566, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.03.086>.
81. Discovery and in vitro optimization of 3-sulfamoylbenzamides as ROMK inhibitors / M.F. Sammons, S.V. Kharade, K.J. Filipinski et al. *ACS Med.*

- Chem Lett. 2018. 9. P. 125-130, <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.7b00481>.
82. Takei Y. Subchapter 32A - atrial natriuretic peptide, in: Y. Takei, H. Ando, K.B.T.-H. of H. Tsutsui (Eds.), *Handb. Horm. Comp. Endocrinol. Basic Clin. Res.*, Academic Press, San Diego. 2016. P. 281e286, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801028-0.00183-5>.
83. Natriuretic peptides in human heart: novel insight into their molecular forms, functions, and diagnostic use / A. Matsuo, C. Nagai-Okatani, M. Nishigori *Peptides*. 2019. 111. P. 3-17, <https://doi.org/10.1016/J.PEPTIDES.2018.08.006>.
84. New therapies for the treatment of heart failure: a summary of recent accomplishments / F. Machaj, E. Dembowska, J. Rosik. *Therapeut. Clin. Risk Manag.* 2019. 15. P. 147-155, <https://doi.org/10.2147/TCRM.S179302>.
85. Mukaddam-Daher S., Gutkowska J. Imidazoline receptors in the heart: a novel target and a novel mechanism of action that involves atrial natriuretic peptides, *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2004. 37. P. 1239-1245.
86. Geniposidic acid upregulates atrial natriuretic peptide secretion and lowers blood pressure in spontaneously hypertensive rats / K. Nakamura, S. Hosoo, S. Yamaguchi et al. *J. Funct. Foods*. 2018. 40. P. 634-638, <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.10.037>.
87. de Ruyck J., Brysbaert G., Blossey R. Molecular docking as a popular tool in drug design, an in silico travel. *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry*. 2016. 9. P.1.
88. The fragment molecular orbital method reveals new insight into the chemical nature of GPCR–ligand interactions / A. Heifetz, E.I. Chudyk, L. Gleave. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2016. 56(1). P. 159-172.

89. Big data as a driver for clinical decision support systems: A learning health systems perspective / A. Dagliati, V. Tibollo, L. Sacchi. *Frontiers in Digital Humanities*. 2018. 5. P. 8.
90. Abdolmaleki A., Shiri F., Ghasemi J.B. Computational multi-target drug design. In: *Multi-target drug design using chem-bioinformatic approaches*. Springer. 2018. P. 51-90.
91. Kalyaanamoorthy S., Chen Y.P.P. Structure-based drug design to augment hit discovery. *Drug Discovery Today*. 2011. 16(17–18). P. 831–839.
92. Recent progress of molecular docking simulations applied to development of drugs / L. Santana Azevedo, F. Preto Moraes, M. Morrone Xavier et al. *Current Bioinformatics*. 2012. 7(4). P. 352-365.
93. Aljoundi A., Bji I., El Rashedy A., Covalent versus non-covalent enzyme inhibition: Which route should we take? A justification of the good and bad from molecular modelling perspective. *The Protein Journal*. 2020. P. 1-9.
94. Putting the pieces together: Integrative modeling platform software for structure determination of macromolecular assemblies / D. Russel, K. Lasker, B. Webb et al.. *PLoS Biology*. 2012.
95. Kusumaningrum S, Budianto E, Kosela S, Sumaryono W, Juniarti F. The molecular docking of 1, 4-naphthoquinone derivatives as inhibitors of Polo-like kinase 1 using Molegro virtual docker. *Journal of Applied Sciences* . 2014;4:47–53.
96. Morris G.M., Huey R., Lindstrom W. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*. 2009. 30(16). P. 2785-2791.
97. Fahmy A., Wagner G. TreeDock: A tool for protein docking based on minimizing van der Waals energies. *Journal of the American Chemical Society*. 2002. 124(7). P. 1241-1250.

98. Bitencourt-Ferreira G., Veit-Acosta M., de Azevedo W.F. Hydrogen bonds in protein-ligand complexes. In: Docking screens for drug discovery. Springer-107.
99. Laskowski R.A, Swindells M.B. LigPlot+: Multiple ligand–protein interaction diagrams for drug discovery. ACS Publications. 2011.
100. Chen Y. C. Beware of docking! Trends in Pharmacological Sciences. 2015. 36(2). P. 78-95.
101. Xiao H., Kaltashov I.A., Eyles S.J. Indirect assessment of small hydrophobic ligand binding to a model protein using a combination of ESI MS and HDX/ESI MS. Journal of the American Society for Mass Spectrometry. 2003. 14(5). P.506-515.
102. Inhibition mechanism of NKCC1 involves the carboxyl terminus and long-range conformational coupling / M.A. Moseng, C.C. Su, K. Rios et al. Sci Adv. 2022. 8. P. eabq0952-eabq0952.

**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**

**Бтихаль ЭЛЬ БАРКА**

1. Тема квалификационной работы: «In silico исследование потенциальных диуретических агентов в ряду производных амидов 3-карбоксии-2-хлороксаниловой кислоты», руководитель квалификационной работы: Маргарита СУЛЕЙМАН, к.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: in silico исследования потенциальных диуретических агентов в ряду производных амидов 3-карбоксии-2-хлороксаниловой кислоты.
4. Содержание расчетно-пояснительной записки (перечень вопросов, которые необходимо разработать): 1) обосновать выбор производных амидов 3-карбоксии-2-хлороксаниловой кислоты как потенциальных диуретиков для виртуальной стыковки; 2) предложить оптимальную кристаллографическую модель диуретической мишени для стыковки исследуемых молекул; 3) провести молекулярный докинг потенциальных диуретиков и на основании вычисленных значений установить их активность по отношению к выбранной мишени; 4) провести визуализацию виртуальной стыковки с целью оптимизации поиска новых кандидатов данного ряда и предоставить возможный механизм образования комплекса «молекула-мишень» потенциальных агентов.
5. Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей): схем – 1, таблиц – 3, рисунков – 15.



6. Консультанты разделов квалификационной работы

Раздел	Имя, ФАМИЛИЯ, должность консультанта	Подпись, дата	
		задание выдал	задание принял
1	Маргарита СУЛЕЙМАН, доцент заведения высшего образования кафедры медицинской химии	сентябрь 2022	сентябрь 2022
2	Маргарита СУЛЕЙМАН, доцент заведения высшего образования кафедры медицинской химии	декабрь 2022	декабрь 2022
3	Маргарита СУЛЕЙМАН, 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	Фундаментальные исследования диуретиков: современные тенденции поиска новых кандидатов (обзор литературы). Написание раздела 1.	сентябрь-ноябрь 2022 г.	<b>выполнено</b>
2	Характеристика и аргументация выбора объектов и методов исследования. Написание раздела 2.	декабрь 2022 г.- январь 2023г.	<b>выполнено</b>
3	Виртуальная стыковка потенциальных диуретических агентов в ряду производных амидов 3-карбоксо-2-хлороксаниловой кислоты	февраль 2023 г.	<b>выполнено</b>
4	Анализ полученных вычислений и геометрического расположения исследуемых молекул в сайте мишени	март 2023 г.	<b>выполнено</b>
5	Написание раздела 3 и выводов. Оформление квалификационной работы и представление в ЭК.	апрель 2023 г.	<b>выполнено</b>

Соискатель высшего образования \_\_\_\_\_ Бтихаль ЭЛЬ БАРКА

Руководитель квалификационной работы \_\_\_\_\_ Маргарита СУЛЕЙМАН

**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>				
Ель Барка Бтіхаль	<i>In silico</i> дослідження потенційних діуретичних агентів в ряду похідних амідів 3-карбокси-2-хлороксанілової кислоти	<i>In silico</i> study of potential diuretic agents in a series of amide derivatives of 3-carboxy-2-chloroanilic acid	доц. Сулейман М.М.	доц. Северіна Г.І.

Підстава: подання ~~заявки~~ від ректора

Ректор

Вірно. Секретар



**ВИСНОВОК**

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

№ 112685 від « 28 » квітня 2023 р.

Проаналізувавши випускню кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Ель Барка Бтіхаль, 5 курсу, \_\_\_\_\_ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «*In silico* дослідження потенційних діуретичних агентів в ряду похідних амідів 3-карбокси-2-хлороксанілової кислоти / *In silico* study of potential diuretic agents in a series of amide derivatives of 3-carboxy-2-chloroxanilic acid», 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**

2%  
30%

**ОТЗЫВ**

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

**Бтихаль ЭЛЬ БАРКА**

**на тему: «*In silico* исследование потенциальных диуретических агентов в ряду производных амидов 3-карбоксит-2-хлороксаниловой кислоты».**

**Актуальность темы.** Использование традиционных салуретиков, которые блокируют реабсорбцию солей, может быть ограничено из-за гипогиперкалиемии и гиперкальциемии. У пациентов с хроническим заболеванием почек и все более низкой скоростью клубочковой фильтрации эффективность лекарств может быть снижена, что требует увеличения доз или альтернативных методов терапии. Эффективность диуретиков, которые блокируют пути всасывания солей, ограничивается пластичностью почечных канальцев и их способностью стимулировать рост и активность нижестоящих сегментов, что способствует возникновению устойчивости к гипертензии. Дисбаланс электролитов, устойчивости к диуретикам и другие проблемы их клинического применения делают поиск новых мишеней и нового класса диуретиков перспективным направлением фармацевтических исследований.

**Практическая ценность выводов, рекомендаций и их обоснованность.**

Проведенное моделирование стыковки исследуемых производных амидов 3-карбоксит-2-хлороксаниловой кислоты и ко транспортера-1 Na-K-2Cl может быть использовано для изучения потенциальных новых диуретиков. Полученные оценочные значения и подробная визуализация образования комплексов может быть полезна также для оптимизации поиска новых кандидатов данного ряда.

**Оценка работы.** Соискателем самостоятельно осуществлен обзор научной литературы в области фундаментальных исследований диуретиков и

современных тенденций поиска новых кандидатов. Под руководством руководителя выполнена экспериментальная часть работы: проведен молекулярный докинг потенциальных новых диуретических агентов в ряду производных амидов 3-карбоксит-2-хлороксаниловой кислоты, на основании полученных результатов дана оценка относительно сродства к испытываемой биомишени. Автор самостоятельно интерпретировал результаты исследования и формулировал соответствующие выводы.

**Общий вывод и рекомендации о допуске к защите.** Работа выполнена на высоком уровне с практической значимостью полученных результатов. Работа по тематике, уровню выполнения, обоснованностью выводов соответствует требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам, и может быть представлена к защите в Экзаменационной комиссии.

Научный руководитель \_\_\_\_\_ Маргарита СУЛЕЙМАН

«07» апреля 2023 г.

**РЕЦЕНЗИЯ**

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

**Бтихаль ЭЛЬ БАРКА**

**на тему: «*In silico* исследование потенциальных диуретических агентов в ряду производных амидов 3-карбоксии-2-хлороксаниловой кислоты».**

**Актуальность темы.** Известные категории диуретиков, таких как петлевые, тиазидные, ингибиторы карбоангидразы остаются основным выбором для лечения заболеваний с увеличением отеков сердечного и почечного происхождения. Эффективность диуретиков, которые блокируют пути всасывания солей, ограничивается пластичностью почечных канальцев и их способностью стимулировать рост и активность нижестоящих сегментов, что способствует возникновению устойчивости к гипертензии. Дисбаланс электролитов, устойчивости к диуретикам и другие проблемы их клинического применения делают поиск новых мишеней и нового класса диуретиков перспективным направлением исследований.

**Теоретический уровень работы.** Выпускная работа состоит из вступительной части, обзора литературы, раздела экспериментальных *in silico* исследований. Цель и задачи исследования сформированы четко и направлены на комплексное решение исследуемой проблемы. Был проведен молекулярный докинг потенциальных диуретических агентов в ряду производных амидов 3-карбоксии-2-хлороксаниловой кислоты, на основании полученных результатов дана оценка относительно сродства к испытываемой биомишени. В работе четко интерпретированы результаты исследования и сформулированы соответствующие выводы.

**Предложения автора по теме исследования.** Полученные оценочные значения и подробная визуализация образования комплексов может быть использована при оптимизации поиска новых кандидатов данного ряда.

**Практическая ценность выводов, рекомендаций и их обоснованность.** По результатам виртуальной стыковки вычисленные значения скоринговых функции, свободной энергии и констант связывания указывает на умеренную активность по отношению к ко транспортеру-1 Na-K-2Cl. Возможность образования комплексов молекула-мишень возможна за счет межмолекулярных взаимодействий между ними: водородных связей, электростатических и гидрофобных контактов и коррелирует с полученными оценочными значениям и данными экспериментального скрининга на диуретическую активность. Визуализация геометрического расположения энергетически выгодного положения исследуемых производных в активных сайтах мишени свидетельствует о том, что в образовании комплексов участвуют одинаковый набор остатков аминокислотных с соответствующими ключевыми фрагментами исследуемых молекул.

**Недостатки работы.** В работе представлена слишком подробная методология стыковки и встречаются небольшое количество грамматических ошибок. Представленные замечания не принципиальны и существенно не влияют на практическую ценность квалификационной работы.

**Общий вывод и оценка работы.** Квалификационная работа Бтихаль ЭЛЬ БАРКА на тему: «*In silico* исследование потенциальных диуретических агентов в ряду производных амидов 3-карбоксит-2-хлороксаниловой кислоты». может быть рекомендована к официальной защите в экзаменационной комиссии Национального фармацевтического университета, а ее автор заслуживает положительной оценки.

Рецензент \_\_\_\_\_

доц. Анна СЕВЕРИНА

«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-02 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Бтіхаль ЕЛЬ БАРКА на тему: «*In silico* дослідження потенційних діуретичних агентів в ряду похідних амідів 3-карбоксі-2-хлороксанілової кислоти».

**СЛУХАЛИ:** доповідь здобувача вищої освіти факультету з підготовки іноземних громадян Фм18(5,0д)і-02 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Бтіхаль ЕЛЬ БАРКА на тему: «*In silico* дослідження потенційних діуретичних агентів в ряду похідних амідів 3-карбоксі-2-хлороксанілової кислоти».

**УХВАЛИЛИ:** рекомендувати кваліфікаційну роботу Бтіхаль ЕЛЬ БАРКА 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 Бтіхаль ЕЛЬ БАРКА до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «In silico дослідження потенційних діуретичних агентів в ряду похідних амідів 3-карбоксі-2-хлороксанілової кислоти».

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

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

**Висновок керівника кваліфікаційної роботи**

Здобувач вищої освіти Бтіхаль ЕЛЬ БАРКА 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

\_\_\_\_\_

Маргарита СУЛЕЙМАН

«07» квітня 2023 р.

**Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу**

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Бтіхаль ЕЛЬ БАРКА 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

\_\_\_\_\_ /Олег ШПИЧАК /