

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

КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

**на тему: «*IN SILICO* ПРОГНОЗ НООТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ И
ФАРМАКОКИНЕТИКИ НОВЫХ ГАЛОГЕН ЗАМЕЩЕННЫХ
АНАЛОГОВ НЕБРАЦЕТАМА»**

Выполнила: соискатель высшего образования группы
Фм19(5,0д)i-08

специальности: 226 Фармация, промышленная фармация
образовательной программы Фармация

Руан Маруа Мелак

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

Рецензент: профессор заведения высшего образования
кафедры фармацевтической химии, д.фарм.н., проф.
Анна СЕВЕРИНА

Харьков – 2024 год

АННОТАЦИЯ

Работа посвящена использованию *in silico* технологий с целью прогнозирования ноотропной активности и фармакокинетики новых галоген-замещенных аналогов Небрацетама. Полученные результаты исследований могут быть полезны для проектирования структур потенциальных ноотропов и экспериментального скрининга. Работа состоит из введения, трех разделов, выводов, списка использованной литературы, который содержит 46 наименования. Содержание работы изложено на 47 страницах машинописного текста и содержит 5 таблицы и 24 рисунок.

Ключевые слова: рацетами, аналоги Небрацетама, параметры фармакокинетики (ADME), ноотропная активность, мускариновый рецептор, молекулярный докинг.

ANNOTATION

The work is devoted to the use of *in silico* technologies to predict the nootropic activity and pharmacokinetics of new halogen-substituted analogues of Nebracetam. The obtained research results can be useful for designing the structures of potential nootropics and experimental screening. The work consists of an introduction, three sections, conclusions, and a list of references, which contains 46 titles. The content of the work is presented on 47 pages of typewritten text and contains 5 tables and 24 figures.

Key words: racetams, Nebracetam analogues, pharmacokinetic parameters (ADME), nootropic activity, muscarinic receptor, molecular docking.

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ	4
РАЗДЕЛ 1. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПОИСКА НОВЫХ НООТРОПОВ: ОБЗОР АССОРТИМЕНТА ИЗВЕСТНЫХ НООТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ. (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	
1.1. Ноотропные препараты: механизм действия, показания к применению, общие подходы ноотропного лечения.....	7 10
1.2. Классические ноотропные средства.....	10
ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 1	29
РАЗДЕЛ 2. ХАРАКТЕРИСТИКА И АРГУМЕНТАЦИЯ ВЫБОРА ОБЪЕКТОВ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.	
2.1. Объекты исследований: моделирование фармакофорной матрицы.	30
2.2. Онлайн платформа pkCSM и программный пакет Autodock Vina – эффективные <i>in silico</i> инструменты для прогнозирования фармакокинетических параметров и активности. Аргументация выбора биологической мишени.....	32 32
ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 2	36
РАЗДЕЛ 3. <i>IN SILICO</i> ПРОГНОЗ НООТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ И ФАРМАКОКИНЕТИКИ НОВЫХ ГАЛОГЕН ЗАМЕЩЕННЫХ АНАЛОГОВ НЕБРАЦЕТАМА	
3.1. Прогноз фармакокинетических параметров исследуемых галоген замещенных аналогов Небрацетама	37 37
3.2. Молекулярный докинг новых аналогов Небрацетама	40
ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 3.....	45
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	46
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	48
ПРИЛОЖЕНИЯ	54

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Ноотропы или когнитивные усилители являются препаратами для лечения когнитивных нарушений у пациентов, страдающих синдромом дефицита внимания, гиперактивности, деменцией, болезнью Альцгеймера, шизофренией, инсультом. Ноотропы обычно улучшают снабжение мозга глюкозой и кислородом, оказывают антигипоксическое действие и защищают ткань мозга от нейротоксичности. Рацетамы – широкая категория синтетических ноотропов, которые имеют общие пирролидоновые ядра. На сегодняшний день существует достаточное количество данных их клинической эффективности, касающейся фармакокинетики, фармакодинамики, механизма действия и побочных эффектов. Механизмы действия ноотропов этого класса остаются загадкой. Как правило, рацетамы-ноотропы повышают регуляцию и сохраняют адекватные уровни ацетилхолина. Многие исследования подтвердили их влияние на подтипы глутаматных рецепторов; регуляцию поступления кальция в нейрональные клетки; связывание с другими нейротропными рецепторами и т.д. Таким образом, поиск эффективных рацетамов с оптимальными показателями фармакокинетики и лучшим аффинитетом к общепринятым ноотропным мишеням является актуальной задачей исследователей.

Целью исследования является *in silico* прогноз ноотропной активности и фармакокинетики новых галоген замещенных аналогов Небрацетама.

Задачи исследования:

- провести структурную модификацию Небрацетама заместителями галогеновой природы для дальнейших *in silico* исследований;
- провести прогноз фармакокинетических параметров полученных аналогов с помощью онлайн инструмента pkCSM;
- провести молекулярный докинг исследуемых молекул относительно мускариновой ацетилхолиновой мишени;

- проанализировать результативность молекулярной стыковки (скоринговая функция, режим связывания в рецепторе) для оценки возможной ноотропной активности.

Объекты исследования. Галоген замещенные аналоги Небрацетама, ноотропная активность, мускариновый ацетилхолиновый рецептор, параметры фармакокинетики, докинговые исследования.

Предмет исследования – прогноз параметров ADME, гибкий молекулярный докинг.

Методы исследования. *In silico* методы: онлайн программа pkCSM, молекулярный докинг.

Элементы научных исследований. С целью получения потенциальных ноотропов проведена модификация базового Небрацетама (4-(аминометил)-1-бензилпирролидин-2-он) путем введения в бензильный фрагмент заместителей галогеновой природы. По результатам прогнозирования фармакокинетических параметров (адсорбция-распределение-метаболизм-выведение) установлено, что все исследуемые молекулы имеют благоприятные фармакокинетические характеристики, за исключением субстратности молекул 1 и 3 к OCT2. Такое свойство молекул может привести к неблагоприятному исходу с одновременно применяемыми ингибиторами OCT2. Результаты молекулярного докинга исследуемых молекул с мускариновым ацетилхолиновым рецептором свидетельствуют о том, что среди протестированных молекул были обнаружены вещества с лучшими значениями аффинитета в качестве агонистов и аллостерических модуляторов. Установлено, что расположение энергетически выгодных позиций зависело от конформации энантиомеров. В результате анализа вычислительных данных и способа связывания с рецептором была выявлена перспективная молекула-агонист 2-S, которая по всем указанным параметрам превышает стандартный препарат Небрацетам. Полученные результаты фармакокинетики и молекулярного докинга могут использоваться при

планировании экспериментального скрининга, а также для рекомендаций при поиске эффективных рацетамовых ноотропов.

Апробация результатов исследования и публикации. Результаты исследований были представлены в виде тезисов на XXX международной научно практической конференции молодых учёных и студентов «Актуальні питання створення нових лікарських засобів», по результатам конференции были получены Сертификат участника и Грамота за участие в секционном заседании студенческого научного общества кафедры медицинской химии.

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 47 стр. Работа иллюстрирована, 5 таблицами, 24 рисунками. Список использованной литературы включает 46 наименования.

РАЗДЕЛ 1. ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПОИСКА НОВЫХ НООТРОПОВ: ОБЗОР АССОРТИМЕНТА ИЗВЕСТНЫХ НООТРОПНЫХ ПРЕПАРАТОВ. (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Ноотропы или когнитивные усилители – это препараты для лечения когнитивных нарушений у пациентов, страдающих синдромом дефицита внимания и гиперактивности или старением, болезнью Альцгеймера, шизофренией, инсультом. Термин «ноотропы» был придуман в 1972 году, когда в клинических испытаниях были обнаружены свойства пирацетама, улучшающие память [1]. В известном смысле они вмешиваются в метаболизм нейрональных клеток центральной нервной системы (ЦНС). Название состоит из двух греческих слов: *nōos*, что означает мышление, и *trophein*, что означает вести. Нет единого подхода к классификации этих соединений. Одни авторы различают классические ноотропы и вещества, усиливающие мозговой метаболизм, другие объединяют эти две группы или используют термин когнитивный эффект, а не ноотроп. Тем временем сотни лекарств прошли клинические испытания или доклинические эксперименты. Однако, для классификации соединений предложена концепция отнесения лекарственных средств к 19 категориям в зависимости от механизма действия, в частности лекарственные средства, взаимодействующие с рецепторами, ферментами, ионными каналами, факторами роста нервов, транспортерами обратного захвата, антиоксидантами, хелаторами металлов, и лекарства, модифицирующие заболевание, то есть малые молекулы, вакцины и моноклональные антитела, взаимодействующие с амилоидом- β и тау. Лекарственные средства, механизм действия которых неизвестен, классифицируются либо по структуре, например, пептиды, либо по происхождению, например, натуральные продукты [1]. В этом обзоре будут рассмотрены некоторые представители ноотропных средств, согласно общепринятой классификации.

1.1. Ноотропные препараты: механизм действия, показания к применению, общие подходы ноотропного лечения

Механизмы действия. Ноотропы обычно не действуют путем высвобождения нейромедиаторов или как лиганды рецепторов, но улучшают снабжение мозга глюкозой и кислородом, оказывают антигипоксическое действие и защищают ткань мозга от нейротоксичности [1]. Они также оказывают положительное влияние на нейрональный синтез белков и нуклеиновых кислот и стимулируют метаболизм фосфолипидов в нейрогормональных мембранах. Также известно, что некоторые представители оказывают антиагрегантное действие, оказывают влияние на элиминацию свободных радикалов кислорода, улучшают пластичность эритроцитов. Таким образом, это приводит к улучшению реологических свойств крови и улучшения кровоснабжения головного мозга. Эти вещества метаболически активны, но большинство ноотропов не оказывают быстрого эффекта после однократной дозы, требуя длительного периода использования для достижения результативности лечения. Главной особенностью «умных» лекарственных молекул является возможность проникать через гематоэнцефалический барьер, чтобы улучшить метаболизм мозга. Также для достижения стабильных изменений необходимо длительное их использование [2].

Показания. Ноотропы используются при острых или подострых состояниях для лечения расстройств памяти, сознания и обучения. Их рекомендуют при первичных поражениях головного мозга, которые проявляются умственной отсталостью, потерей памяти, качественными изменениями сознания и т. д. Такое состояние обычно называют острым психоорганическим синдромом. Такое явления в большинстве случаев является обратимым, но в некоторых – может прогрессировать до деменции. Этот синдром может быть вызван инфекцией, травмой головного мозга, инсультом или отравлением (алкоголь, препараты с центральным антихолинергическим эффектом или угарный газ). Другие показания могут

включать хронические нарушения когнитивных функций, такие как нарушение памяти или умственная отсталость [3]. В этих случаях часто назначают ноотропы, но их польза, особенно при более тяжелой деменции, может быть не настолько эффективной, как хотелось бы. Они более эффективны у пациентов с легкими когнитивными расстройствами, когда есть только замедление функции активности мозга без развития деменции [4]. Ноотропы иногда применяются при расстройствах внимания и памяти в результате истощения и усталости. Они также показаны детям с синдромом минимальной мозговой дисфункции и пациентами с энцефалопатией, также проверено их влияние на синдром хронической усталости [5]. В качестве усилителей когнитивных функций ноотропы назначают пациентам с болезнью Альцгеймера, шизофренией, старческой деменцией или гиперкинетическим расстройством [6].

Ноотропы благодаря их способности улучшать память, когнитивные функции и повышать интеллект привлекают внимание, в частности, студентов университетов. Среди них они известны как «умные наркотики». Поскольку большинство ноотропов имеют природное происхождение, студенты могут получить их как пищевые добавки или лекарства, не требующие рецепта. Но следует знать, что использование ноотропов здоровыми людьми вызывает большое беспокойство из-за отсутствия клинических доказательств их безопасности, эффективности и социальных последствий, особенно при длительном использовании [7].

Ноотропное лечение. Ноотропы обычно очень хорошо переносятся. Их эффективность зависит от дозировки, так как на практике введение слишком низкой дозы является типичной ошибкой. Лечение следует продолжать не менее 2–3 недель после исчезновения нарушения памяти и когнитивных расстройств. Для оценки глубины и продолжительности нарушения разработана специальная клиническая шкала. Необходимо оценивать вербальную производительность, моторную реакцию и открытие глаз. Они записываются и последовательно оцениваются согласно

полученным диаграммам. Побочные эффекты ноотропов встречаются редко и редко серьезны. Кроме индивидуальной непереносимости, иногда может возникать повышение активности, расстройство сна, повышение либидо. Также ноотропы противопоказаны при гиперчувствительности к активному ингредиенту, беременности и кормлении грудью [8, 9].

1.2. Классические ноотропные средства

Деанол (химическое название 2-(диметиламино)этан-1-ол), а химическая структура наведена на рис. 1.1. Данная молекула физиологически присутствует в мозге человека. Входит в состав Деанол натуральных пищевых добавок. Многие пищевые добавки содержат Деанол в форме соли винной кислоты (тарtratной соли). Также этот ингредиент содержится в большинстве морепродуктов, особенно в лососе и моллюсках. Деанол является предшественником холина, который позволяет мозгу оптимизировать выработку ацетилхолина, основного нейромедиатора, участвующего в обучении и памяти [10].

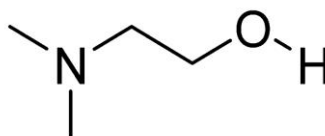


Рис. 1.1. Химическая структура Деанола

В результате многих фармакологических исследований следует, что диметиламиноэтанол пироглутамат повышал внеклеточные уровни холина и ацетилхолина в префронтальной коре головного мозга. Как следствие, это улучшало пространственную память и уменьшало дефицит памяти, вызванный скополамином. Диметиламиноэтанол циклогексилкарбоксилатфумарат значительно повысил эффективность рабочей памяти у крыс в радиальном лабиринте [11].

Согласно анализу электроэнцефалограммы, пищевые добавки, сочетающие витамины, минералы и Деанол, у людей в течение трех месяцев показали повышенную бдительность, внимание и общее улучшение

настроения. Эта молекула также улучшала качество сна и смогла вызывать осознанные сновидения. Его применение было опробовано при детском гиперкинетическом синдроме и синдроме минимальной мозговой дисфункции]. Однако, есть некоторые противопоказания к применению добавок, содержащих Деанол, а именно: прием во время беременности, лактации и больным шизофренией [12].

Меклофеноксат. Молекула меклофеноксата состоит из двух синтетического ауксина или 4-хлорфеноксиуксусной кислоты. Данная комбинация подобна природному ауксину индолуксусной кислоты, которая содержится в растительных клетках и участвует в обмене углеводов. Вторая часть молекулы состоит из уже упомянутого 2-(диметиламино)этан-1-ола или деанола [13].

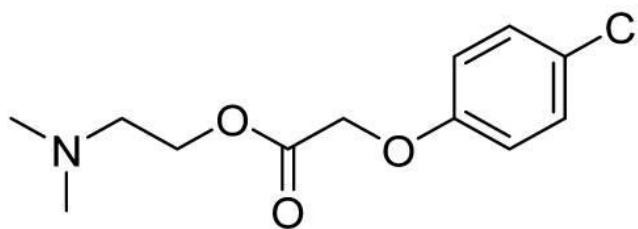


Рис. 1.2. Химическая структура Меклофеноксата

Меклофеноксат хорошо всасывается при парентеральном введении. В исследованиях на крысах установлено, что применение этого вещества способствовало повышению уровня холина в ЦНС. В гиппокампе это увеличение холина также сопровождалось повышением уровня ацетилхолина. Таким образом, его влияние на уровне холина и ацетилхолина в мозге подобно эффекту Деанола, однако эффективность наблюдалась выше в два раза. Пероральное введение меклофеноксата крысам (100 мг/кг ежедневно в течение 37 дней) значительно улучшало нарушение памяти и позволяло снизить повреждения нейронов, уровни про воспалительных медиаторов и окислительный стресс. Способность облегчить дефицит памяти и повреждение нейронов может принести пользу при цереброваскулярной деменции [13].

По результатам испытаний RNA-Seq тканей мозга *Nothobranchius guentheri*, получавшего меклофеноксат почти всю жизнь, установило, что, хотя меклофеноксат компенсирует зависимую от возраста пониженную регуляцию генов нейронной активности, его влияние на транскрипт стареющего мозга все еще нельзя считать однозначно положительным. В двойном слепом исследовании меклофеноксат также повысил умственную активность и консолидацию новой информации в долговременной памяти у пожилых людей [14]. Данный аспект может быть полезным для потенцирования угнетенных холинергических нейронов и лечения дискинезии, вызванной нейролептиками. Также Меклофеноксат улучшает состояние качественно измененного сознания, оказывает антигипоксическое действие, используется для купирования общего замедления речи, мышления и умственной деятельности, вызванной интоксикацией и поражением ЦНС. Он также был протестирован для лечения болезни Альцгеймера и сосудистой деменции. Возможные побочные эффекты часто вызываются передозировкой, и включают такие симптомы, как головокружение, беспокойство, тошноту и головные боли [14].

Ницерголин – алкалоид спорыньи, также известный как ницерголин (химическая структура наведена на рис. 1.3), который используется в клинической практике с 1970 года. Ницерголин первоначально был разработан как сосудорасширяющее средство, предназначенное для лечения цереброваскулярных расстройств. На данный момент он используется для лечения синдромов дегенеративного или сосудистого происхождения, характеризующихся когнитивными нарушениями с понижением интеллекта, а также соматическими и поведенческими расстройствами. В частности, он используется для потери памяти, снижения способности к концентрации, бдительности, головокружения, перепадов настроения, усталости и вестибулярных расстройств [15].

Ницерголин обладает широким спектром действия. Он защищал культивируемые нейроны от β -амилоидной токсичности *in vitro*, что не мало

важно при болезни Альцгеймера. Стало известно, что ницерголин является эффективным препаратом для предотвращения уязвимости нейронов и улучшает функцию холинергических и катехоламинергических нейромедиаторов у крыс *in vivo*. Он действует как антагонист $\alpha 1$ -адрено рецепторов, способен усиливать артериальную циркуляцию крови путем подавления агрегации тромбоцитов, имеет ярко выраженную метаболическую активность и обладает нейротрофическими и антиоксидантными свойствами [16].

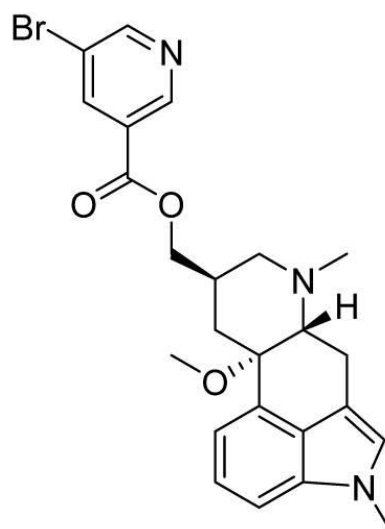


Рис. 1.3. Химическая структура Ницерголина

Ницерголин способен индуцировать вазодилатацию и усиливать церебральный кровоток. Его эффективность также продемонстрирована у пациентов с сосудистой деменцией. Ницерголин продемонстрировал комплексное положительное действие на разные уровни церебральной, системной и сердечной гемодинамики у пациентов с ишемическим инсультом. Согласно исследованию электроэнцефалограммы у пациентов с мульти инфарктной деменцией и болезнью Альцгеймера, ницерголин улучшал бдительность и обработку информации на нейрофизиологическом уровне, что привело к клиническому улучшению на уровне поведения обоих дегенеративных заболеваний. Побочные эффекты возникают редко и обычно включают головокружение, тошноту, обмороки, диарею и головные боли. В

связи с отсутствием опыта применения ницерголина беременным женщинам он не рекомендован во время беременности и кормления грудью [17].

Пиритинол. Хорошо известен как дисульфид пиридоксина или пиритиоксин (рис. 1.4). Был получен путем соединения двух молекул витамина В₆ (пиридоксина) с помощью дисульфидного мостика. ЦНС является основной системой, в которой пиритинол оказывает заметные фармакологические эффекты. Пиритинол проникает через гематоэнцефалический барьер и накапливается в гиппокампе, ядрах головного мозга, мозжечке и коре головного мозга [90].

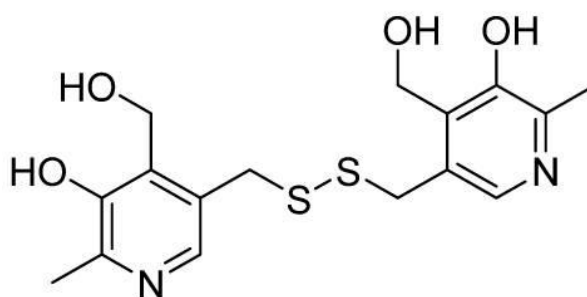


Рис. 1.4. Химическая структура Пиритинола

Исследования на животных продемонстрировали влияние на разные нейромедиаторы. Исследования *in vivo* выявили повышенную активность холинацетилтрансферазы, что приводит к накоплению холина в холинергических нейронах. Пиритинол играет вспомогательную роль в восстановлении возрастного дефицита мозга. Так в исследованиях *in vivo* метаболиты пиритинола повышали концентрацию кортикального ацетилхолина и улучшали метаболизм нуклеиновых кислот в мозге. Пиритинол также способен поглощать свободные радикалы кислорода, таким образом действуя, как антиоксидант, улучшая мозговое кровообращение. Он также способен восстанавливать пониженную концентрацию первичного возбуждающего нейромедиатора N-метил-D-аспартата и может быть полезен при расстройствах обучения и памяти, вызванных недоеданием и депривацией [18].

Благодаря статусу пиритинола как пищевой добавки его можно безопасно использовать в качестве дополнения к любому стандартному лечению заболеваний ЦНС, таких как дисфазия развития и другие когнитивные расстройства, для которых текущие терапевтические возможности ограничены [18]. Пиритинол является безопасным ноотропом, так, как не наблюдалось накопления вещества даже после повторного приема, а токсические концентрации не достигались даже у пациентов с нарушением функции почек. Распространенными побочными эффектами являются воспаление слизистой полости рта, неспецифические высыпания, головные боли, острый панкреатит, тошнота, диарея и потеря аппетита. Пиритинол проникает через плаценту, но исследования на мышах и крысах не показали тератогенного или эмбриотоксического действия. Следует заметить, что минимальное количество пиритинола выделяется в женском молоке, но все равно следует провести тщательную оценку перед дозировкой во время беременности и лактации [18].

Вещества, ускоряющие мозговой метаболизм. Эта группа веществ (Виноцетин и Нафтидрофурил) оказывает одновременное ноотропное, гемореологическое и сосудорасширяющее действие.

Виноцетин (рис. 1.5) является полусинтетическим производным алкалоида винкамина, который встречается в барвинке малом, *Vinca minor* [107].

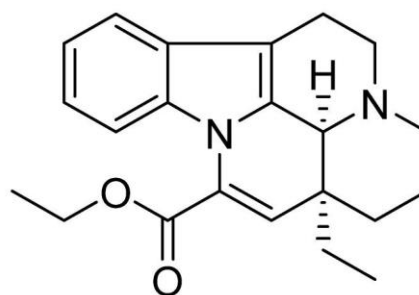


Рис. 1.5. Химическая структура Виноцетина

Виноцетин действует как селективный ингибитор Ca^{2+} /кальмодулин-зависимой циклической нуклеотидфосфодиэстеразы типа I, способен блокировать потенциалзависимые натриевые каналы и усиливать

церебральный кровоток [19]. В экспериментах *ex vivo* Винпоцетин увеличил потребление глюкозы и кислорода тканью мозга и улучшил толерантность клеток мозга к гипоксии. *In vitro* Винпоцетин взаимодействовал с рецепторами глутамата, сдвинул метаболизм глюкозы к более энергоэффективным аэробным процессам и повысил уровень аденозинтрифосфата (АТФ) в мозге. Таким образом, Винпоцетин способен обеспечивать нейропротекцию головного мозга. Этот вазоактивный алкалоид прописывается как дополнение к вазодилататорам и ноотропам для улучшения памяти. Он также считается активным веществом при лечении инсульта и других заболеваний, включая нарушение мозгового кровообращения и способен улучшать трофику и усиливать кровообращения в сетчатке. Для него характерны некоторые побочные эффекты, хотя они встречаются очень редко, а именно: тошнота, сухость во рту, головокружение, головная боль и изжога. Применение винпоцетина противопоказано во время лактации и беременности [20].

Нафтидрофурил (эфир 2-(1-нафталенилметил)-3-(2-оксоланил)пропановой кислоты и 2-(диэтиламино)этанола) (рис. 1.6). Нафтидрофурил является сосудорасширяющим средством с реологическим действием на кровь и используется для лечения перемежающейся хромоты [21].

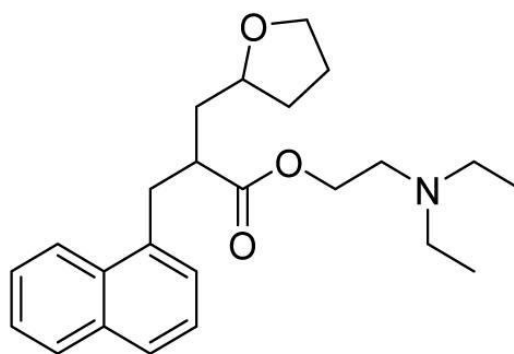


Рис. 1.6. Химическая структура Нафтидрофурила

Нафтидрофурил *in vitro* продемонстрировал регуляторное влияние на поглощение дезоксиглюкозы и утилизацию глюкозы, а также ингибировал

индуцированное гипоксией снижение уровня АТФ в фибробластах и эндотелиальных клетках, блокировал вызванную серотонином и адреналином агрегацию тромбоцитов. В исследованиях *in vivo* он продемонстрировал антагонистическое действие на рецепторы 5-НТ₂ гладкомышечных клеток сосудов и тромбоцитов и подавлял индуцированное серотонином сокращение кровеносных сосудов. Рецепторы 5-НТ₂ являются подсемейством рецепторов 5-НТ, которые связывают эндогенный нейромедиатор серотонин, который важен в вазоконстрикции и агрегации тромбоцитов. Нафтидрофурил оказывает антиатеросклеротическое действие на различных животных моделях, а также увеличивает хранение пространственной информации и оказывает ноотропное действие [22].

Клинические испытания на здоровых добровольцах показали, что Нафтидрофурил увеличил деформативность эритроцитов и кровотока. Снижение соотношения лактат/пируват у здоровых добровольцев во время физических упражнений свидетельствует о том, что он повышает эффективность аэробного метаболизма в тканях, а также оказывает положительное влияние на энергетический обмен нейронов. Нафтидрофурил показан для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, старческой деменции и болезни Альцгеймера. Метаболизм нафтидрофурила может быть снижен у пациентов пожилого возраста. Таким образом, может потребоваться снижение дозы для этих пациентов. Нефтидрофурил хорошо переносится, побочные эффекты возникают редко, такие как диспепсия, сухость во рту, тошнота, рвота, возможно гепатотоксичен [23].

Холинергические средства. В состав веществ этой группы обычно входят предшественники ацетилхолина или кофакторы его образования. Ацетилхолин является главным посредником в действиях, связанных с памятью, мышлением и вниманием. Важными представителями этой группы являются ацетил-L-карнитин, являющийся источником предшественников ацетилхолина, производных ацетила, холина, лецитина и пирролидина [24]. Эти вещества классифицируются как когнитивные вещества,

преимущественно влияющие на холинергическую нейротрансмиссию в мозге.

Фосфатидилхолин относится к группе соединений, называемых фосфолипидами. Фосфолипиды являются важными составляющими клеточных мембран, и имеют очень высокую скорость оборота, которая включает непрерывный синтез этих соединений для обеспечения адекватного функционирования клеток [25]. Химическая структура фосфолипида представляет собой этерификацию полиспирта (глицерина или сфингозина) двумя длинноцепочечными жирными кислотами и молекулой фосфорной кислоты, которая, этерифицирована азотированными основаниями (холин, этаноламин) и аминокислотами (серин). Основными фосфолипидами в организме человека являются фосфатидилхолин, фосфатидилетаноламин, фосфатидилинозит и сфингомиелин. Основные функции фосфолипидов заключаются в связи между рецептором и внутриклеточным сигналом, в поддержке гомеостаза и компартментализации клеток, а также ферментативной активности, связанной с мембранными системами. Дополнительные специфические функции нейрональной мембраны основаны на проведение нервных импульсов и передачу их нейронам [25]. В центральной нервной системе структурные фосфолипиды нейрональной мембраны необходимы для адекватного созревания мозга. Фосфатидилхолин был предложен как важная молекула для роста нейритов и регенерации нейронов. Существуют различные состояния, при которых происходит утрата либо понижение синтеза фосфолипидов, что приводит к нарушению функций клеток. Нарушения клеточной мембраны и метаболизма фосфолипидов лежат в основе патофизиологии отека мозга и черепно-мозговой травмы [26], а также церебральной ишемии и церебральной гипоксии. Также существуют определенные изменения в нейрональных мембранах и метаболизме структурных фосфолипидов, связанных со старением мозга и определенными нейродегенеративными заболеваниями. К ним можно отнести эксайтотоксическая агрессия, когнитивные нарушения,

сосудистая деменция, нарушение механизмов нейропластичности и нейротрансмиссии [26].

Предполагаемый механизм действия фосфатидилхолина показывает, что холин медленно высвобождается из лецитина в качестве предшественника для синтеза ацетилхолина. Хотя механизм действия лецитина кажется ясным, результаты испытаний его эффективности оказались менее убедительными. Результаты эксперимента *in vivo* показали, что введение фосфатидилхолина мышам в модели деменции увеличивало концентрацию ацетилхолина в мозге и улучшало память [27]. Однако, результаты рандомизированных исследований *in vivo* не показали пользы от лецитина при лечении пациентов с болезнью Альцгеймера и Паркинсона. Добавки фосфатидилхолина могут неравномерно улучшать память, что свидетельствует о том, что параметры дозы и времени, необходимые для достижения терапевтического эффекта могут зависеть от переменных, присущих отдельным субъектам. Студенты, имеющие субнормальный уровень эндогенного холина, могут наблюдать больший прирост от добавок фосфатидилхолина, что приводит к заметному улучшению памяти по сравнению со здоровыми пациентами с нормальным уровнем эндогенного холина [28].

Цитиколин – по химической структуре является цитидин-5'-дифосфохолином (CDP-холином), является идентичным естественному внутриклеточному предшественнику фосфолипида фосфатидилхолина.

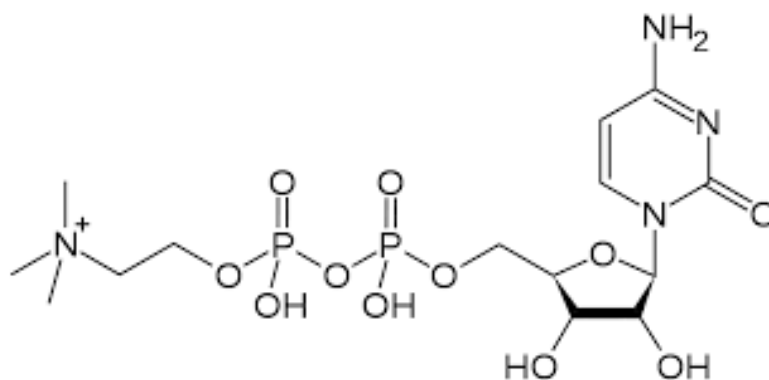


Рис. 1.7 . Химическая структура Цитиколина

CDP-холин является моонуклеотидом, состоящий из рибозы, цитозина, пирофосфата и холина, химическая структура которого соответствует 2-окси-4-аминопиримидину (рис. 1.7) [29].

CDP-холин принимает участие как важный промежуточный продукт в синтезе структурных фосфолипидов клеточных мембран. Таким образом, образование этого соединения из фосфорилхолина является лимитирующей стадией этого биосинтетического пути. Цикл CDP-холина интегрирован в большую метаболическую сеть, и его прерывание может повлиять на распределение связанных с липидами метаболитов. CDP-холин (цитиколин) является экзогенным источником холина и цитидина. Холин является предшественником и метаболитом ацетилхолина и является важным компонентом различных мембранных фосфолипидов. Фракция цитидина, после превращения в уридин, используется для синтеза ДНК и РНК, а также для синтеза компонентов мембраны и гликозилирования, также оказывая важное влияние на пуринергические рецепторы [29]. Цитиколин может стимулировать парасимпатическую нервную систему и оказывать кратковременное гипотензивное действие. В свою очередь длительное применение цитиколина не сопровождалось проявлением токсического действия, независимо от способа введения препарата. Также отсутствуют возрастные ограничения относительно перорального применения препарата. Доказательств риска для плода в период беременности при применении препарата не получено. Также отсутствует информация о возможности применения в период лактации.

Ингибиторы холинэстеразы. Согласно холинергической гипотезе, основной причиной болезни Альцгеймера (БА) является снижение синтеза ацетилхолина (ACh). Поэтому одной из потенциальных терапевтических стратегий является повышение уровня ацетилхолина в мозге путем угнетения биологической активности ацетилхолинэстеразы (AChE). Фермент холинэстеразы (ChE) является важной терапевтической мишенью для лечения БА. Ухудшение холинергических нейронов в мозге и потеря

нейротрансмиссии являются основными причинами снижения когнитивных функций у пациентов с БА. Ингибиторы AChE способны повышать функцию нейронных клеток путем повышения концентрации ACh [30].

Прогрессивный синтез и агрегация β -амилоида ($A\beta$), протеолитического фрагмента, полученного из белка-предшественника амилоида, являются дополнительными критическими факторами, вовлеченными в патогенез БА. Таким образом, были разработаны двойные ингибиторы на основе такрина и донепезила для ингибирования активности как AChE, так и агрегации $A\beta$ [30].

Донепезил, галантамин и ривастигмин являются основными препаратами, используемыми для лечения БА, которые сейчас доступны на рынке. Химические структуры основных ингибиторов представлены на рис. 1.8.

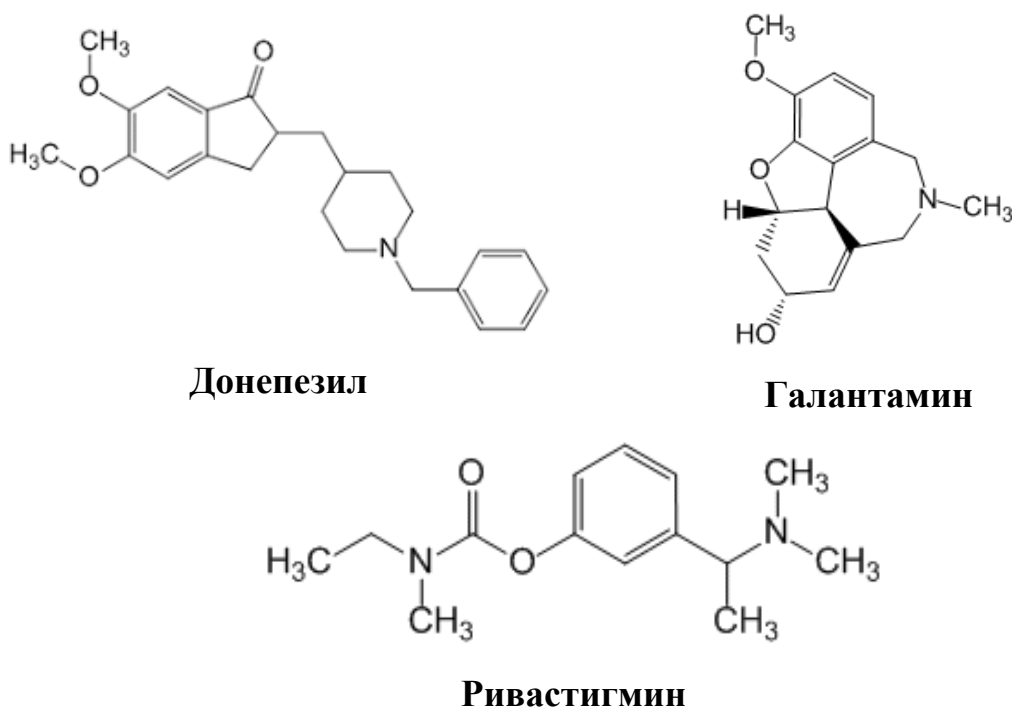


Рис. 1.8. Химические структуры известных ингибиторов ацетилхолинэстеразы (AChE)

Однако эффективность этих препаратов ограничена, и эти препараты показали различные доз зависимые побочные эффекты, особенно при более высоких дозировках. Галантамин и донепезил являются ингибиторами AChE,

тогда как ривастигмин является обратимым ингибитором как ацетилхолинэстеразы (AChE), так и бутирилхолинэстеразы (BchE). Следует отметить, что донепезил высокоселективен в отношении AChE по сравнению с BchE [30].

Рацетамовые ноотропы. Рацетамы – широкая категория синтетических ноотропов, имеющих общие пирролидоновые ядра. Многие из них, включая пирацетам, считаются ноотропами. Некоторые, такие как оксирацетам и фенилпирацетам, также являются стимуляторами. Другие, такие как леветирацетам и селетрацетам, являются противосудорожными средствами. Как правило, рацетамы-ноотропы повышают регуляцию и сохраняют адекватные уровни ацетилхолина.

Пирацетам. Это циклическое производное гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) и ацетамида (химическое название – 2-(2-оксопирролидин-1-ил)ацетамид.) (рис. 1.9). Считается, что пирацетам влияет на нейротрансмиссию мозга через модуляцию ионных каналов (Ca^{2+} и K^{+}), что приводит к неспецифическому повышению возбудимости нейронов [31].

Он усиливал функцию нейромедиатора ацетилхолина через мускариновые рецепторы и воздействовал на рецепторы N-метил-D-аспартата в моделях крыс *in vivo*, повышая проницаемость клеточной мембраны [32]. Схема холинергической и глутаматергической нейротрансмиссии представлен на рис. 1.10.

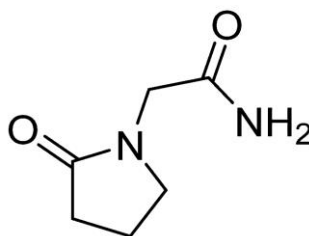


Рис. 1.9. Химическая структура Пирацетама

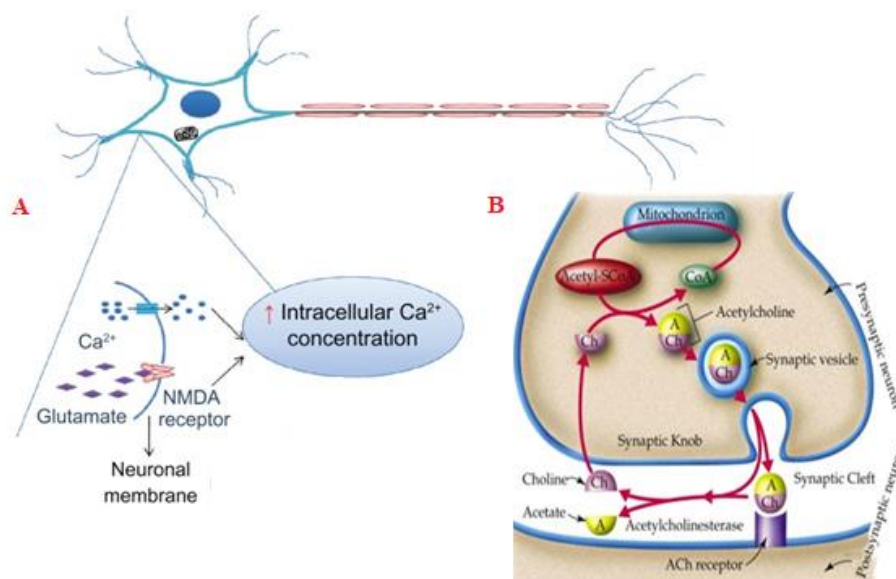


Рис. 1.10 Схема глутаматергической (А) и холинергической нейротрансмиссии (В)

Также пирацетам увеличивает потребление кислорода в мозге и в связи с метаболизмом аденозинтрифосфата путем повышения активности аденилаткиназы *in vivo* в мозге крыс [32]. Есть предположение, что пирацетам увеличивает синтез цитохрома b5, который участвует в механизме транспорта электронов в митохондриях. Такие свойства способны уменьшать интенсивность индуцированного гипоксией повреждения нервных клеток и улучшать межполушарную передачу и метаболизм глюкозы в мозге. Пирацетам показан при инсульте, потере сознания, лечении абстинентного синдрома от алкоголизма и профилактике гипоксии, вызванной алкоголем [33].

Помимо метаболического эффекта на ткани мозга, пирацетам усиливает пластичность эритроцитов и, как следствие, мозговую перфузию [34]. Он использовался клинически для профилактики и лечения психической, посттравматической когнитивной дисфункции, а также для улучшения функции обучения и памяти при дислексии у детей. Пирацетам также был протестирован для лечения болезни Альцгеймера в сочетании с лецитином, но, к сожалению, результаты исследований не показали пользы для пациентов. Обычно пирацетам хорошо переносится при длительном

применении. Основными побочными эффектами являются бессонница, раздражительность, повышение либидо [35]. Нет достаточного клинического опыта его применения во время беременности и лактации. Исследования на животных не выявили тератогенных или других эмбриотоксических эффектов.

Структурными аналогами пирацетама являются оксирацетам, анирацетам, прамирацетам, фенилпирацетам и небрацетам. Эти вещества действуют подобно пирацетаму, но с разной эффективностью [35].

Оксирацетам. Наличие гидроксильной группы в оксопирролидоновом цикле оксирацетама (рис. 1.11) демонстрирует благоприятный фармакокинетический профиль и биодоступность при пероральном приеме.

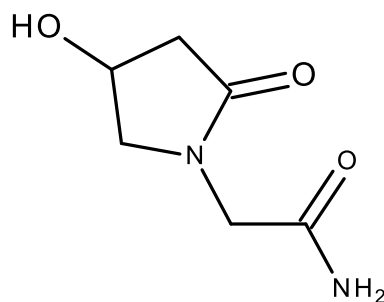


Рис. 1.11. Химическая структура Оксирацетама

Наблюдается небольшое проникновение через гематоэнцефалический барьер с концентрациями в мозге при достижении 5% концентрации в крови. В исследовании на здоровых добровольцах в соответствующей дозе – улучшал вызванное скополамином ухудшение нейропсихологической деятельности. В связи с этим его применение в течение 6 месяцев у пожилых людей улучшило их когнитивные дефициты неспецифической этиологии, однако, не принесло пользы пациентам с болезнью Альцгеймера. Несколько исследований показывают, что вещество безопасно даже при длительном применении высоких доз [36].

Прамирацетам. Наличие в молекуле пирацетама амидной дипропан-2-ил-аминоэтиловой группы, прамирацетам (рис. 1.12) демонстрирует высокую биодоступность при его пероральном приеме.

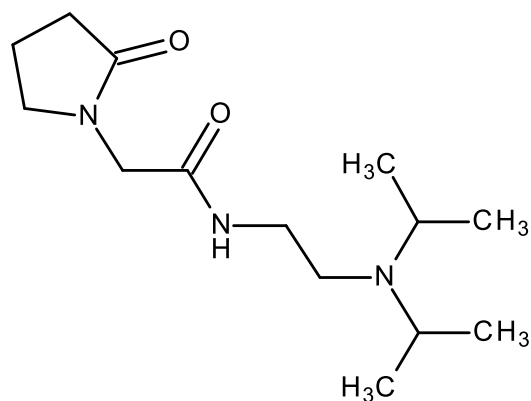


Рис. 1.12. Химическая структура Прамирацетама

Прамирацетам обладает высоким действием на ЦНС, что дает возможность использования в меньших дозах, чем пирацетам. Механизм действия прамирацетама окончательно не изучен, но утверждается, что он повышает активность нейронов и имеет высокую степень сродства к холину, действуя в холинергических структурах головного мозга. Прамирацетам усиливает скорость натрий зависимого высоко аффинного поглощения холина в синапсах гиппокампа крыс *in vitro*. Об этом свидетельствует его влияние на когнитивные функции путем ускорения потока холинергических нейронных импульсов в септально-гиппокампальной области [37].

Результаты исследования на добровольцах, которые имели когнитивные проблемы после травмы головы, установили, что прамирацетам улучшил некоторые виды памяти, особенно отсроченное упоминание (30–50%) в течение 18 месяцев терапии. Также исследователи продемонстрировали уменьшение индуцированных скополамином амнестических эффектов у здоровых лиц, включая тесты на немедленное и отсроченное словесное припоминание [38]. В Украине было проведено два небольших исследования, которые касались цереброваскулярных заболеваний и сотрясения мозга. В первом исследовании утверждается, что вербальные и зрительные воспоминания улучшились у младших пациентов с хроническими цереброваскулярными и постинсультными когнитивными симптомами, однако – в меньшей степени у пожилых людей. Результаты

второго испытания установили, что прамирацетам был эффективнее пирацетама в дезориентации у пациентов с легкой черепно-мозговой травмой и восстановлении памяти. Прамирацетам, как и другие препараты из группы рацетамов, как правило, хорошо переносится. В клинических испытаниях, в котором участвовали пациенты с болезнью Альцгеймера установлено, что переносимость препарата была адекватной. Несколько добровольцев сообщили о головных болях, проявлениях сонливости, снижении аппетита и головокружениях [38].

Фенипирацетам является фенильным производным пирацетама (рис. 1.13).

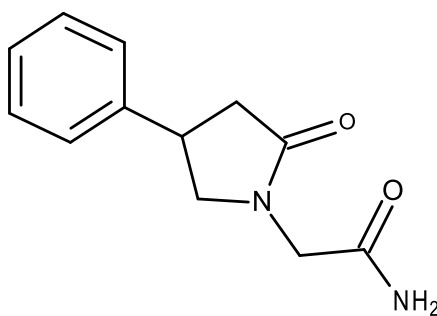


Рис. 1.13. Химическая структура Фенилпирацетама

Фенильная группа играет важную роль в улучшении фармакокинетических свойств пирацетама, а именно - может улучшать проникновение препарата через гематоэнцефалический барьер, имеет высокую всасываемость и хорошую биодоступность при пероральном приеме. Так, исследования на крысах показали время абсорбции 400 мг/день в комплексе с физиотерапией и поливитаминными средствами [39]. Существует доказательство, что Фенилпирацетам способен оказывать противоэпилептическое действие: эффективная доза (300 мг/кг) на 50% уменьшила судорожный приступ, вызванный метрозолом (вещество, которое используется для стимуляции кровообращения и дыхания). Фенилпирацетам назначался пациентам в комплексной терапии с эталонными противоэпилептическими средствами (карбамазепин, ламотриджин, вальпроиламид, топирамат, фенobarбитал).

В исследовании по связыванию лиганда *in vitro* показано, что фенилпирацетам имеет высокий аффинитет к никотиновым рецепторам ацетилхолина (nACh), но не имеет сродства к подтипам глутамата (NMDA). Однако в эксперименте на крысах установлено, что инъекция фенилпирацетама (100 мг/кг, внутривенная) увеличивает количество как никотиновых, так и глутаматных рецепторов. Также было установлено, что он снижает аффинность к дофаминовым и серотониновым рецепторам в ткани мозга. По этой причине фенилпирацетам используется при ишемическом инсульте, у пациентов с острым церебральным инсультом [39, 40]. Недавнее исследование выявило его роль в качестве нейропротекторного агента для задержки или предотвращения гибели ганглиальных клеток. Нейропатия зрительного нерва и апоптоз клеток ганглиев может быть частой причиной стремительной потере зрения у пациентов с глаукомой. Исходя из этого, фенилпирацетам назначали пациентам с нестабильной открытоугольной глаукомой после нормализации глазного давления [40]. В основном фенилпирацетам хорошо переносится, однако, есть некоторые побочные эффекты: психомоторное возбуждение, гиперемия кожных покровов, ощущение тепла, повышение артериального давления.

Небрацетам. Небрацетам (химическое название (RS)-4-(Аминометил)-1-бензилпирролидин-2-он рис. 1.14) является холинергическим средством, которые изучали в Японии 1980-х годах.

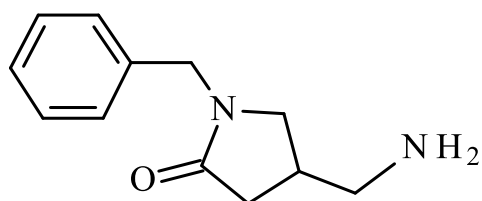


Рис. 1.14. Химическая структура Небрацетама

Механизм действия был изучен в исследованиях на крысах и является агонистом мускаринового (M1) ацетилхолинового рецептора. Позже на основании исследования с человеческими лейкоцитами Т-клетками подтвердилось, что он действует как агонист человеческих M1-

мускариновых рецепторов. У лабораторных животных он оказывал нейропротекторное действие за счет усиления холинергических и лимбических норадренергических функций гиппокампа. По данным гистологии было установлено, что он обладает протективным свойством относительно нейрональных клеток в гиппокампе крыс, подверженных инсульту. Клинические испытания на здоровых добровольцах были проведены с целью определения влияния на связанные с действиями церебральные потенциалы и визуальное пространственное внимание. Полученные данные показали, что небрацетам не оказал существенного влияния на производительность памяти, хотя другое небольшое исследование продемонстрировало многообещающее улучшение при деменции [41, 42].

ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 1

1. Систематизированы и обобщены данные литературных источников касательно классических ноотропных средств (механизмы действия, показания к применению, общие подходы ноотропного лечения).
2. Проанализированные данные клинической эффективности выявили перспективный класс синтетических ноотропов из группы рацетамов.
3. Обобщая данные научной литературы, установлено, что усовершенствование структуры рацетамовых ноотропов заместителями разной электронной природы может привести к улучшению фармакокинетического потенциала и аффинитета к ноотропным мишеням.

РАЗДЕЛ 2. ХАРАКТЕРИСТИКА И АРГУМЕНТАЦИЯ ВЫБОРА ОБЪЕКТОВ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объекты исследований: моделирование фармакофорной матрицы.

В данном исследовании в качестве основной фармакофорной матрицы для последующей модификации был выбран Небрацетам (физиологически активная часть молекулы – 4-(аминометил)-1-бензилпирролидин-2-он). По данным литературного обзора известно, что он способен улучшать языковое обучение и память у пациентов с деменцией. Проектирование новых молекул осуществляли с помощью программы Marvin Sketch 20.5. По нашему мнению введение в структуру Небрацетама по бензильному кольцу заместителей галогеновой природы может дополнительно влиять на формирование стабилизационных контактов с ноотропными мишенями (рис. 2. 1).

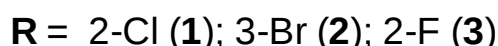
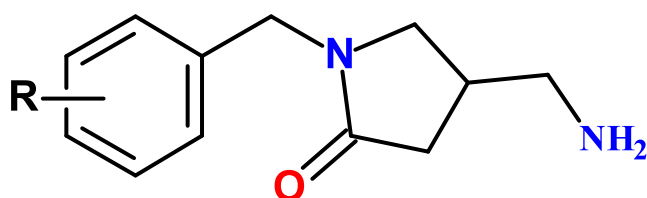


Рис. 2.1. Химические структуры полученных молекул

Конструированные молекулы и препарат сравнения Небрацетам содержат асимметричный атом карбона. В связи с этим они могут существовать в виде двух энантиомеров R и S. Разделение молекул на отдельные энантиомеры является решающим для дальнейших докинговых исследований, а именно для оптимизации структуры и создания соответствующих конформаций. На рис. 2.1 представлены структуры соответствующих энантиомеров.

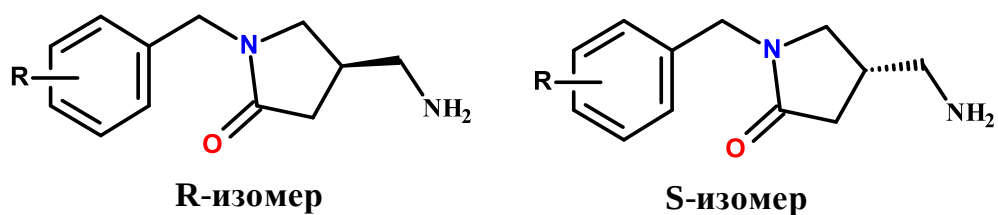
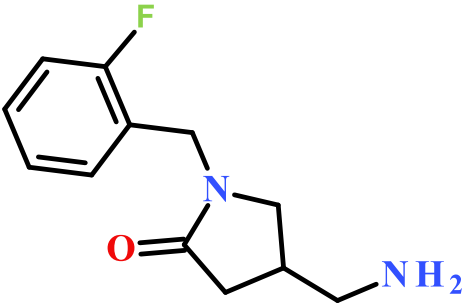
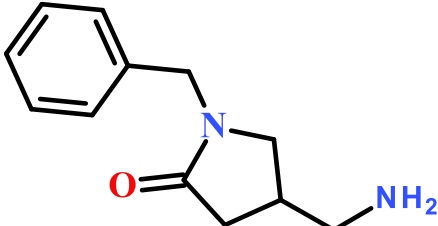


Рис. 2.2. R и S структуры исследуемых молекул

В таблице 2.1 представлены структуры, химические названия и smile форматы исследуемых молекул.

Таблица 2.1. Структуры, химические названия и smile форматы исследуемых молекул

структура	химические названия и smile форматы исследуемых молекул
	<chem>NCC1CN(Cc2ccccc2Cl)C(=O)C1</chem> (RS) 4-(аминометил)-1-(2-хлорфенил)метил)пирролидин-2-он (1)
	<chem>NCC1CN(Cc2ccccc2Br)C(=O)C1</chem> (RS) 4-(аминометил)-1-(3-бромфенил)метил)пирролидин-2-он (2)

	<chem>NCC1CN(Cc2ccccc2F)C(=O)C1</chem> (RS) 4-(аминометил)-1-(2-фторфенил)метил)пирролидин-2-он (3)
	(RS) Небрацетам

2.2. Онлайн платформа pkCSM и программный пакет Autodock Vina – эффективные *in silico* инструменты для прогнозирования фармакокинетических параметров и активности. Аргументация выбора биологической мишени

Разработка новых лекарств становится все более сложной и рискованной задачей с низким уровнем успеха. Подавляющее большинство лекарств, прошедших клинические испытания, не поступают на рынок из-за недостаточной эффективности и неприемлемых побочных эффектов. Разработка лекарств представляет собой тонкий баланс оптимизации свойств лекарственного средства для максимизации эффективности и фармакокинетики. Многие программы по разработке лекарственных молекул на ранних стадиях сосредоточены на выявлении молекул, которые связываются с соответствующей биологической мишенью. Хотя эффективность является движущим фактором на этих ранних стадиях, в конечном итоге фармакокинетические свойства определяют, будет ли потенциальная молекула повышать свою эффективность. Таким образом

взаимодействие между фармакокинетикой и эффективностью имеет решающее значение для эффективного поиска лекарств [43].

Фармакокинетический профиль веществ определяет его свойства абсорбции, распределения, метаболизма и выведения (ADME). Хотя оптимальные свойства связывания нового препарата с биологической мишенью имеют решающее значение, для его внедрения в клинику важно гарантировать, что молекула может достичь своей цели в установленных концентрациях для безопасного оказания фармакологического эффекта. Для расчета таких параметров была использована онлайн платформа pkSCM. Эта платформа является новым методом прогнозирования и оптимизации фармакокинетических свойств малых молекул, который основан на сигнатурах графика, основанных на расстоянии. В этой программе адаптирована концепция Cutoff Scanning для представления структуры и химического состава малых молекул. С помощью этого инструмента можно предсказать основных фармакокинетические свойства, созданные из 20 предикторов [43]. Основными предикторами для прогноза фармакокинетики, которые будут рассчитаны в исследовании, являются:

- Абсорбция (растворимость в воде, проницаемость Caco-2, всасывание в кишечнике, Р-гликопротеин (субстрат/ингибитор);
- Распределение (объем распределения (VDss), не связанная фракция, BBB (ГЭБ) проницаемость, CNS (ЦНС) проницаемость);
- Метаболизм (CYP3A4, CYP2D6, CYP2C19, CYP1A2 CYP2C9, субстрат/ингибитор);
- Выведение (общий клиренс, почечный ОСТ2 субстрат) [43].

Молекулярный докинг - это вычислительная процедура, которая пытается эффективно предсказать не ковалентное связывание макромолекул или, чаще, макромолекулы (рецептора) и небольшой молекулы (лиганда), начиная с их несвязанных структур, структур, полученных в результате МД-моделирования или моделирования гомологии и т. д. Цель состоит в том,

чтобы предсказать связанные конформации и аффинность связывания. Прогнозирование связывания малых молекул с белками имеет особое практическое значение, поскольку оно используется для скрининга виртуальных библиотек молекул, подобных лекарствам, с целью получения потенциальных возможностей для дальнейшей разработки лекарств. Программы стыковки обычно используют оценочную функцию, которую можно рассматривать, как попытку аппроксимировать стандартные химические потенциалы системы. Когда в оценочной функции используются физические термины, такие как взаимодействия Ван-дер-Ваальса и кулоновские энергии, их необходимо эмпирически взвесить для того, чтобы учесть эту разницу между энергиями и свободными энергиями [44, 45].

Представлена новая программа для молекулярного стыковки и виртуального скрининга AutoDock Vina. Vina использует сложный метод градиентной оптимизации в своей процедуре локальной оптимизации. Вычисление градиента дает алгоритм оптимизации «чувство направления» на основе одной оценки. Используя многопоточность, Vina может еще больше ускорить выполнение, используя преимущества нескольких процессоров или ядер процессора. Оценка скорости и точности Vina во время гибкой пере стыковки 190 комплексов рецептор-лиганд, составляющих обучающий набор AutoDock 4, показала улучшение скорости примерно на два порядка и одновременно значительно лучшую точность прогнозирования режима связывания [44, 45].

Исходя из анализа литературных источников (обзор литературы) Небрацетам являются ноотропным M1-мускариновым агонистом, индуцирует повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} . Таким образом для докинг-исследований была выбрана кристаллографическая модель M1-мускаринового ацетилхолинового рецептора (PDB ID: 5CXV), со кристаллизованная с обратным агонистом Тиотропиумом [46].

Согласно результатам фармакологических исследований сайт связывания агонистов/антагонистов перекрывает сайт, с которым

связывается ацетилхолин, а также вовлекает в свой состав гидрофобные участки белковой молекулы рецептора и окружающей клеточной мембраны. Такой сайт рецептора называется ортостерическим. Несмотря на то, что ортостерические центры играют важную роль в активации рецептора, не менее важна аллостерическая модуляция, которая имеет соответствующие участки связывания для аллостерических модуляторов. У мускариновых рецепторов это большой внеклеточный вестибюль. Он является хорошо задокументированный участком связывания положительных аллостерических модуляторов [46]. На рис. 2. Наведена кристаллографическая модель M1 рецептора.



Рис. 2.3. Кристаллографическая модель мускаринового ацетилхолинового рецептора PDB ID: 5CXV

ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 2

1. С целью получения потенциальных ноотропов проведена модификация базового Небрацетама (4-(аминометил)-1-бензилпирролидин-2-он) путем введения в бензильный фрагмент заместителей галогеновой природы.
2. Аргументирован выбор методов и программного обеспечения (онлайн программа pkCSM и программный пакет Autodock Vina). Установлено, что они являются современными и эффективными *in silico* инструментами для прогнозирования фармакокинетических параметров и активности.
3. Для докинговых исследований выбрана кристаллографическая модель мускаринового ацетилхолинового рецептора. Установлены возможные сайты связывания для проявления возможной ноотропной активности путем холинергической нейротрансмиссии.

РАЗДЕЛ 3. *IN SILICO* ПРОГНОЗ НООТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ И ФАРМАКОКИНЕТИКИ НОВЫХ ГАЛОГЕН ЗАМЕЩЕННЫХ АНАЛОГОВ НЕБРАЦЕТАМА

3.1. Прогноз фармакокинетических параметров исследуемых галоген замещенных аналогов Небрацетама

С помощью онлайн инструмента pkCSM были рассчитаны параметры фармакокинетики ADME (абсорбция-распределение-метаболизм-выведение) для исследуемых молекул.

Первая группа параметров – параметры абсорбции, к которым относятся: растворимость в воде, проницаемость Caco-2, всасывание в кишечнике, Р-гликопротеин субстрат, Р-гликопротеин ингибитор (рис. 3.1).

Таблица 3.1. Рассчитанные значения параметров абсорбции

Название параметра	Прогнозируемые значения		
	Молекула 1	Молекула 2	Молекула 3
растворимость в воде ¹	-1.8	-2.04	-1.1
проницаемость Caco-2 ²	1.27	1.26	1.24
всасывание в кишечнике, %	91.6	92.4	73.8
Р-гликопротеин субстрат, (да или нет)	Нет	Нет	Нет
Р-гликопротеин I/II ингибитор (да или нет)	Нет/Нет	Нет/Нет	Нет/Нет

Примечание: единицы измерения ¹log mol/L, ²log Papp 10⁻⁶ см/с.

Исходя из полученных результатов прогноза абсорбции, исследуемые молекулы имеют хорошую растворимость в воде (результаты входят в диапазон оптимальных значений от 0 до -8). Иными словами молекулы будут

хорошо всасываться при пероральном приеме. Полученные результаты всасывания в кишечнике свидетельствуют о хорошей абсорбции в ЖКТ (оптимальное значение не должно быть меньше 60%). Рассчитанные показатели проницаемости C_{aco-2} не являются высокими, так как высокая проницаемость имела бы значения более 8×10^{-6} см/с. Р-гликопротеин является АТФ-чувствительным насосом, основной функцией которого является выброс во внеклеточное пространство ксенобиотиков (лекарственных средств). Исследуемые молекулы не являются субстратами и ингибиторами Р-гликопротеина, поэтому вероятнее всего будут иметь хорошую биодоступность и безопасность.

По результатам прогноза параметров распределения следует, что молекулы имеют высокий VD_{ss} , так как $\log VD_{ss} > 0,45$. Из этого следует, что молекулы больше распределяются в тканях, а не в плазме. Что касается параметров не связанной фракции, проникновения через ГЭБ и ЦНС, то возможно все тестируемые молекулы будут равномерно распределяться и проникать в ЦНС (табл. 3.2).

Таблица 3.2. Рассчитанные значения параметров распределения

Название параметра	Прогнозируемые значения		
	Молекула 1	Молекула 2	Молекула 3
VD_{ss} объем распределения ¹	0.68	0.73	0.55
Не связанная фракция	0.42	0.43	0.46
BBB (ГЭБ) проникновение ²	0.14	0.07	-0.07
ЦНС проникновение ³	-2.15	-2.17	-2.16

Примечание: единицы измерения ¹log L/kg, ²log BB, ³log PS

По результатам прогнозирования метаболизма исследуемых молекул следует, что все соединения будут поддаваться биотрансформации с участием изофермента CYP3A4. Также следует, что молекулы 1 и 2 являются ингибиторами изофермента CYP2D6. Поэтому следует привязываться к рекомендациям по несовместимости тестируемых веществ с препаратами, которые метаболизируются через CYP2D6.

Таблица 3.3. Расчитанные значения параметров метаболизма

Название параметра	Прогнозируемые значения		
	Молекула 1	Молекула 2	Молекула 3
CYP2D6 субстрат	Нет	Нет	Нет
CYP3A4 субстрат	Да	Да	Да
CYP1A2 ингибитор	Нет	Нет	Нет
CYP2C19 ингибитор	Нет	Нет	Нет
CYP2C9 ингибитор	Нет	Нет	Нет
CYP2D6 ингибитор	Да	Да	Нет
CYP3A4 ингибитор	Нет	Нет	Нет

Положительные значения общего клиренса свидетельствуют о том, что исследуемые молекулы имеют возможность быстрой экскреции из организма почками (табл. 3.3). Субстраты OCT2 (молекула 1 и 3) имеют потенциал для неблагоприятного взаимодействия с одновременно применяемыми ингибиторами OCT2. Оценка потенциала молекул для транспортировки с

помощью ОСТ2 предоставляет полезную информацию о противопоказаниях, возможных лекарственных взаимодействиях.

Таблица 3.4. Расчитанные значения параметров выведения

Название параметра	Прогнозируемые значения		
	Молекула 1	Молекула 2	Молекула 3
Общие клиренс log CLTOT, log ml/min/kg	0.84	0.76	0.81
Почечный субстрат ОСТ2	Да	Нет	Да

3.2. Молекулярный докинг новых галоген замещенных аналогов Небрацетама

Для молекулярного докинга использован пакет программ Autodock Vina. Лиганды готовили с помощью программы MGL Tools 1.5.6. Оптимизацию лигандов в формат PDB проводили с помощью программы Avogadro. Исходные форматы исследуемых молекул и рецептора в программе Autodock были сконвертированы в формат PDBQT. Карты рецептора готовили в программах MGL Tools и AutoGrid. Из PDB файлов ID: 5CXV были удалены молекулы воды, ионы и лиганды. Визуализация образованных комплексов исследуемых молекул в сайте мускаринового рецептора была получена с помощью программы Discovery Studio Visualizer.

Результаты молекулярного докинга исследуемых молекул с мускариновым ацетилхолиновым рецептором свидетельствуют о том, что среди протестированных молекул были обнаружены вещества с лучшими значениями сродства в качестве агонистов и аллостерических модуляторов. Расположение энергетически выгодных позиций зависело от конформации

энантиомеров. На рис. 3.1 и 3.2 наведены значения скоринговой функции в ортостерическом и аллостерическом сайте рецептора.

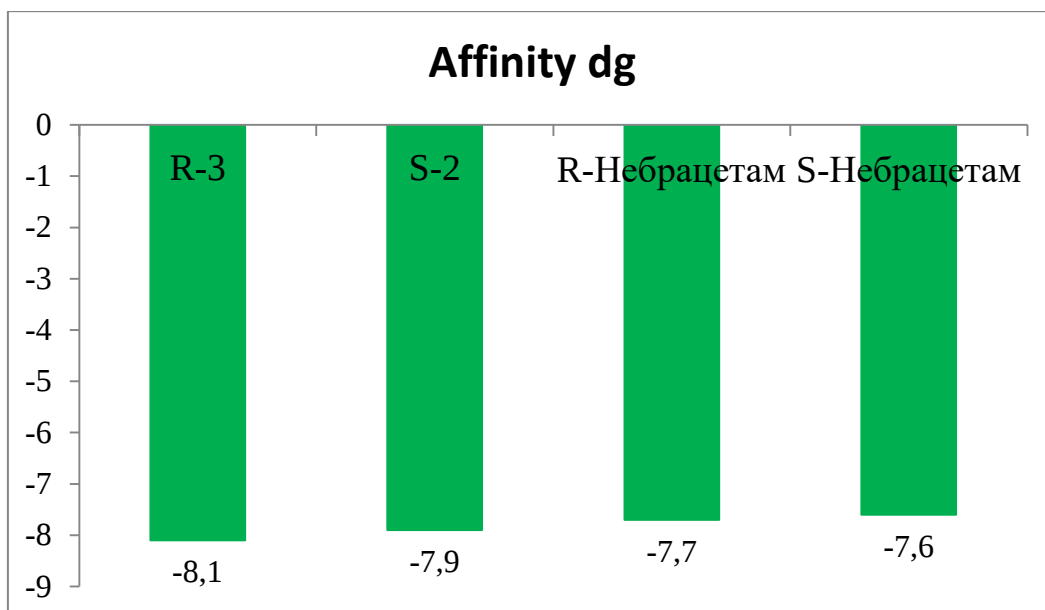


Рис. 3.1 Значения скоринговой функции (Affinity dg) энантиомеров в ортостерическом сайте мускаринового рецептора

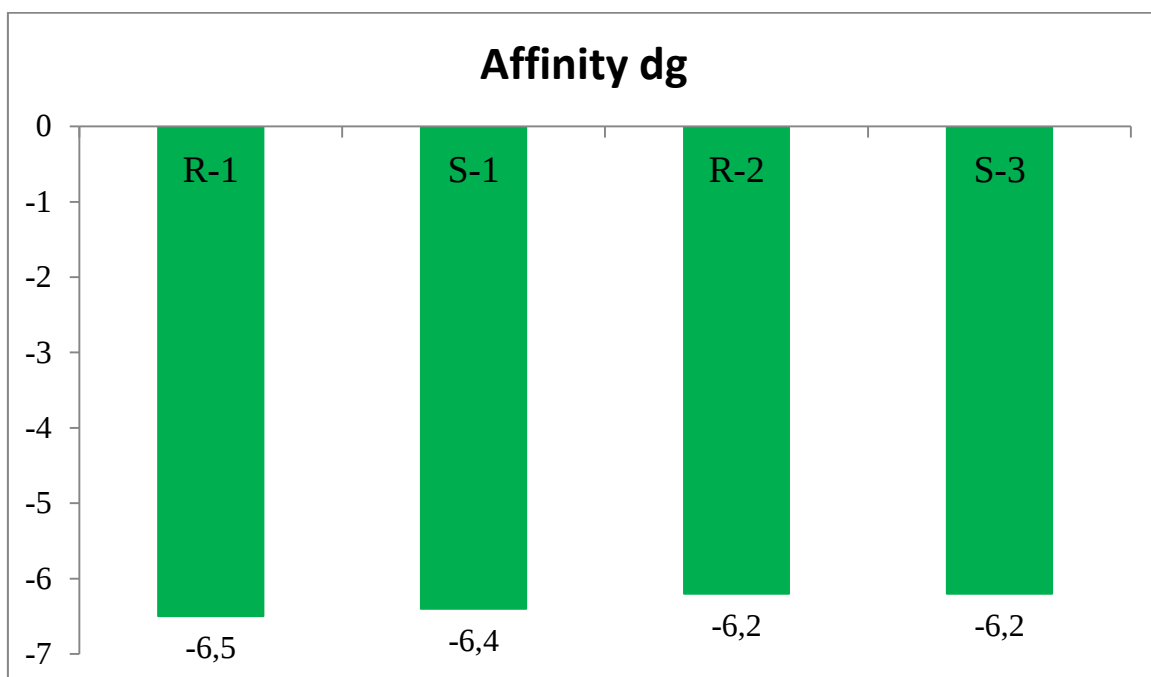


Рис. 3.2. Значения скоринговой функции (Affinity dg) энантиомеров в аллостерическом сайте (внеклеточный вестибюль) мускаринового рецептора

Молекула 3 (R-изомер) имела более высокое сродство (-8,1 ккал/моль), чем препараты сравнения Небрацетам. Его противоположный энантиомер занимал энергетически выгодное положение во внеклеточном вестибюле в пределах прилежащих участков к ортостерическому центру, а именно сети аминокислотных остатков, которая обеспечивает энергетическую связь между центрами и опосредует конформационные изменения во внеклеточном вестибюле (рис. 3.3). Визуализация взаимодействий R-изомера в ортостерическом сайте показала, что при образовании комплекса происходит неблагоприятное donor-donor взаимодействие между аминогруппой и остатком Thr192 (рис. 3.4). Это может отрицательно повлиять на активацию ответа рецептора.

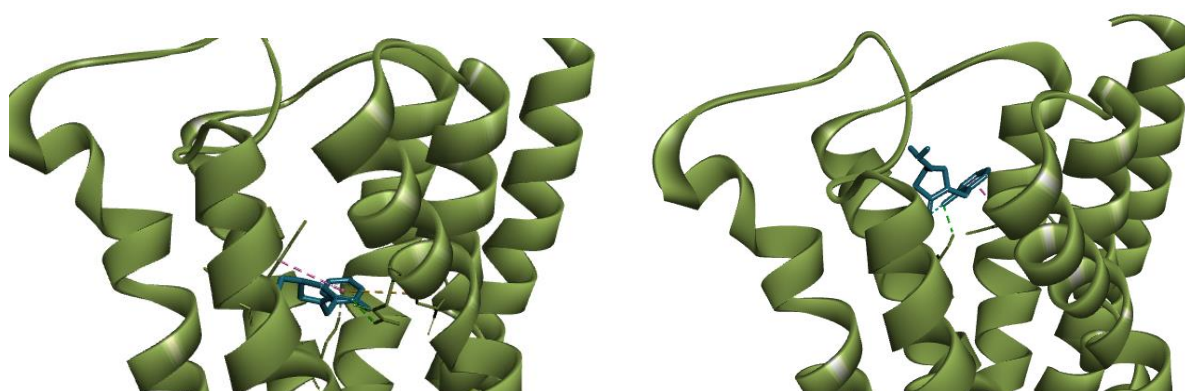


Рис. 3.3. Суперпозиции R и S изомеров молекулы 3 в ортостерическом и аллостерическом сайте мускаринового рецептора

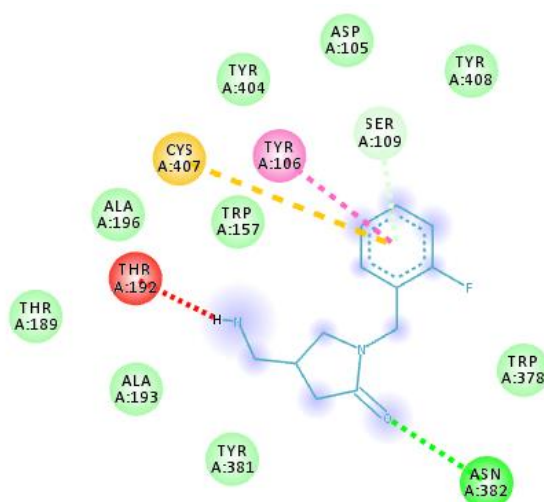


Рис. 3.4. Диаграмма межмолекулярных взаимодействий молекулы 3 (R) в ортостерическом сайте мускаринового рецептора

У молекулы 2-S, аффинитет был выше, чем у Небрацетама. В образовании комплекса принимали участия благоприятные межмолекулярные взаимодействия (рис. 3.5)

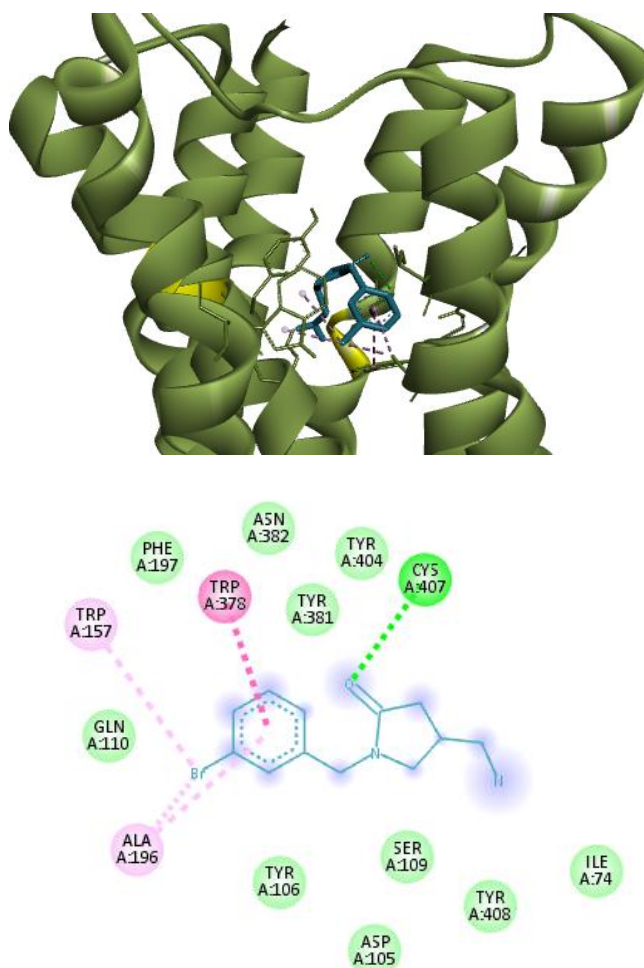


Рис. 3.5. Суперпозиция и диаграмма межмолекулярных взаимодействий молекулы 2-S в ортостерическом сайте мускаринового рецептора

Остальные молекулы имели умеренный аффинитет к мускариновому рецептору. Энергетически выгодные позиции молекул были локализованы в аллостерическом сайте (внеклеточном вестибюле), который является хорошо задокументированным участком связывания позитивных аллостерических модуляторов. Образованию комплексов способствовали благоприятные межмолекулярные взаимодействия (водородные связи, гидрофобные и электростатические взаимодействия), кроме молекулы 1-S, которая имела неблагоприятное donor-donor взаимодействие с сайтом рецептора. Возможность образования комплексов коррелирует с полученными

значениями скоринговой функции. На рис 3.6-3.7 наведены суперпозиции соответствующих энантиомеров молекул относительно заявленной мишени.

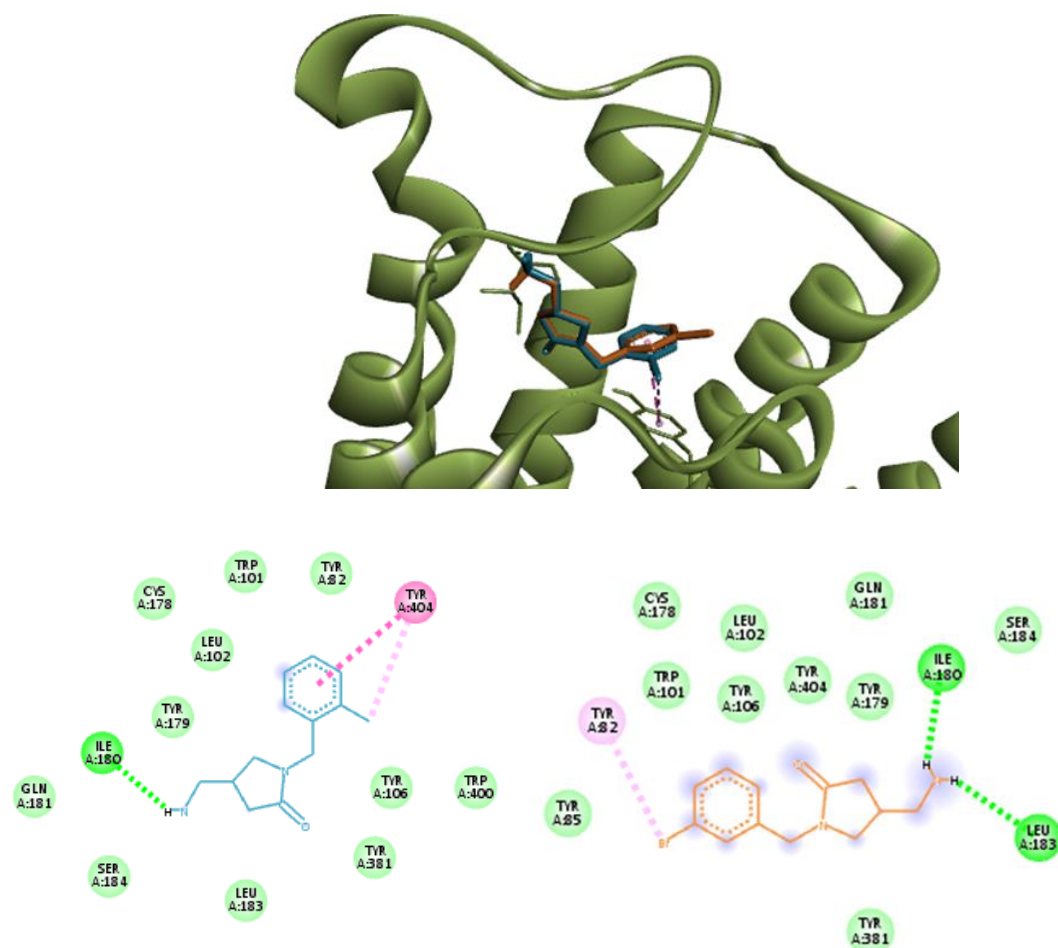


Рис. 3.6. Суперпозиции и диаграммы межмолекулярных взаимодействий молекулы 1-R и 2-R в аллостерическом сайте мускаринового рецептора

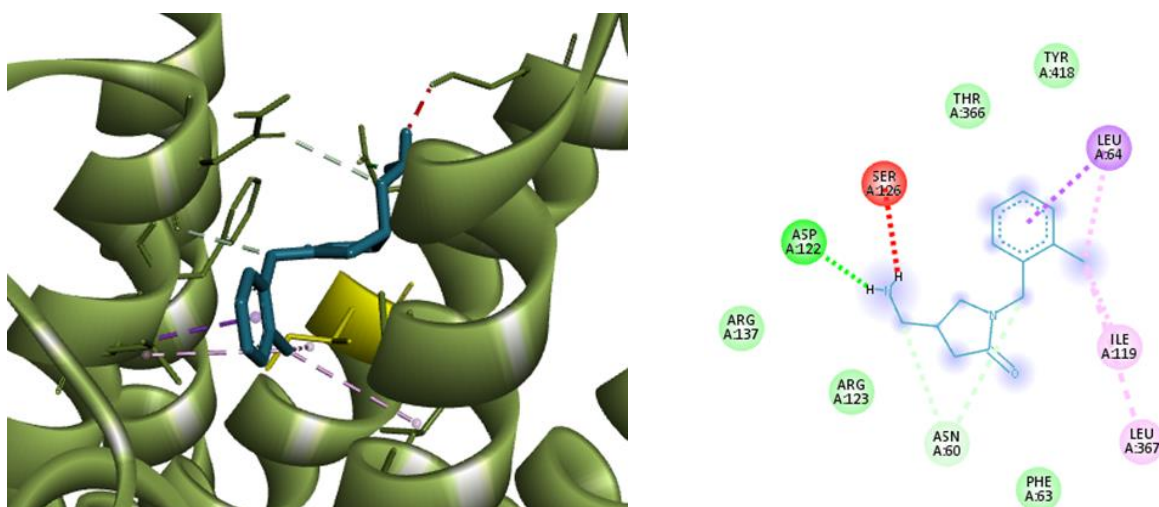


Рис. 3.7. Суперпозиция и диаграмма межмолекулярных взаимодействий молекулы 1-S в аллостерическом сайте мускаринового рецептора

ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 3

1. По результатам прогнозирования фармакокинетических параметров (адсорбция-распределение-метаболизм-выведение) установлено, что все исследуемые молекулы имеют благоприятные фармакокинетические характеристики, за исключением субстратности молекул 1 и 3 к ОСТ2. Такое свойство молекул может привести к неблагоприятному исходу с одновременно применяемыми ингибиторами ОСТ2.
2. Результаты молекулярного докинга исследуемых молекул с мускариновым ацетилхолиновым рецептором свидетельствуют о том, что среди протестированных молекул были обнаружены вещества с лучшими значениями аффинитета в качестве агонистов и аллостерических модуляторов. Установлено, что расположение энергетически выгодных позиций зависело от конформации энантиомеров.
3. В результате анализа вычислительных данных и способа связывания с рецептором была выявлена перспективная молекула-агонист 2-S, которая по всем указанным параметрам превышает стандартный препарат Небрацетам.
4. Полученные результаты фармакокинетики и молекулярного докинга могут использоваться при планировании экспериментального скрининга, а также для рекомендаций при поиске эффективных рацетамовых ноотропов.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Систематизированы и обобщены данные литературных источников касательно классических ноотропных средств (механизмы действия, показания к применению, общие подходы ноотропного лечения). Проанализированные данные клинической эффективности выявили перспективный класс синтетических ноотропов из группы рацетамов.
2. С целью получения потенциальных ноотропов проведена модификация базового Небрацетама (4-(аминометил)-1-бензилпирролидин-2-он) путем введения в бензильный фрагмент заместителей галогеновой природы.
3. Аргументирован выбор методов и программного обеспечения (онлайн программа pkCSM и программный пакет Autodock Vina) для компьютерных исследований. Для докинга выбрана кристаллографическая модель мускаринового ацетилхолинового рецептора. Установлены возможные сайты связывания для проявления возможной ноотропной активности.
4. По результатам прогнозирования фармакокинетических параметров (адсорбция-распределение-метаболизм-выведение) установлено, что все исследуемые молекулы имеют благоприятные фармакокинетические характеристики, за исключением субстратности молекул 1 и 3 к OCT2. Такое свойство молекул может привести к неблагоприятному исходу с одновременно применяемыми ингибиторами OCT2.
5. Результаты молекулярного докинга исследуемых молекул с мускариновым ацетилхолиновым рецептором свидетельствуют о том, что среди протестированных молекул были обнаружены вещества с лучшими значениями аффинитета в качестве агонистов и аллостерических модуляторов. Установлено, что расположение энергетически выгодных позиций зависело от конформации энантиомеров.

6. В результате анализа вычислительных данных и способа связывания с рецептором была выявлена перспективная молекула-агонист 2-S, которая по всем указанным параметрам превышает стандартный препарат Небрацетам.
7. Полученные результаты фармакокинетики и молекулярного докинга могут использоваться при планировании экспериментального скрининга, а также для рекомендаций при поиске эффективных рацетамовых ноотропов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Screening of nootropics: An overview on preclinical evaluation techniques / A. Mali et al. *Int. J. Pharm.* 2012. Vol. 2, № 1. P. 159–180.
2. Joshi P. A review on natural memory enhancers (Nootropics). *Unique. J. Eng. Adv. Sci.* 2013. Vol. 1. P. 8–18.
3. Pepeu G., Spignoli G. Nootropic drugs and brain cholinergic mechanisms. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 1989. Vol. 13. P. S77–S88. DOI: 10.1016/0278-5846(89)90112-7 (Date of access: 07.09.2023).
4. Cognitive impairment in people living with HIV: consensus recommendations for a new approach / S. Nightingale et al. *Nat Rev Neurol*. 2023. Vol. 19, № 7. P. 424–433. DOI: 10.1038/s41582-023-00813-2 (Date of access: 07.09.2023).
5. The effects of anti-dementia and nootropic treatments on the mortality of patients with dementia: A population-based cohort study in Taiwan / C. Y. Wu et al. *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10, № 6. P. 993. DOI: 10.1371/journal.pone.0130993 (Date of access: 07.09.2023).
6. Piracetam in the treatment of schizophrenia: Implications for the glutamate hypothesis of schizophrenia / A. Noorbala et al. *J. Clin. Pharm. Ther.* 1999. Vol. 24, № 5. P. 369–374. DOI: 10.1046/j.1365-2710.1999.00238 (Date of access: 07.09.2023).
7. The Psychonauts' World of Cognitive Enhancers / F. Napoletano et al. *Front. Psychiatry*. 2020. Vol. 11. P. 546796. DOI: 10.3389/fpsy.2020.546796 (Date of access: 07.09.2023).
8. Giurgea C. The “nootropic” approach to the pharmacology of the integrative activity of the brain. *Cond Reflex*. 1973. Vol. 8, № 2. P. 108–115. DOI: 10.1007/BF03000311 (Date of access: 07.09.2023).
9. Yamada M. Anti-Dementia Drugs (Anti-Alzheimer's Disease Drugs). *Brain Nerve*. 2023. Vol. 75, № 5. P. 464–469. DOI: 10.11477/mf.1416202360. PMID: 37194514 (Date of access: 07.09.2023).

10. New insights on dimethylaminoethanol (DMAE) features as a free radical scavenger / G. Malanga et al. *Drug Metab. Lett.* 2012. Vol. 6, № 1. P. 54–59. DOI: 10.2174/187231212800229282 (Date of access: 07.09.2023).
11. Effects of dimethylaminoethanol pyroglutamate (DMAE p-Glu) against memory deficits induced by scopolamine: Evidence from preclinical and clinical studies / O. Blin et al. *Psychopharmacology (Berl)*. 2009. Vol. 207, №2. P. 201–212. DOI: 10.1007/s00213-009-1648-7 (Date of access: 07.09.2023).
12. Dimpfel W., Wedekind W., Keplinger I. Efficacy of dimethylaminoethanol (DMAE) containing vitamin-mineral drug combination on EEG patterns in the presence of different emotional states. *Eur. J. Med. Res.* 2003. Vol. 8, № 5. P. 183–191.
13. Liao Y., Wang R., Tang X. C. Centrophenoxine improves chronic cerebral ischemia induced cognitive deficit and neuronal degeneration in rats. *Acta Pharmacol. Sin.* 2004. Vol. 25, № 12. P. 1590–1596.
14. Antagonic-stress superiority versus meclofenoxate in gerontopsychiatry (alzheimer type dementia) / R. Popa et al. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 1994. Vol. 19, № 1. P. 197–206. DOI: 10.1016/S0167-4943(05)80065-2 (Date of access: 07.09.2023).
15. Therapeutic Use of Nicergoline / B. Winblad et al. *Clin. Drug Investig.* 2008. Vol. 28, № 9. P. 533–552. DOI: 10.2165/00044011-200828090-00001 (Date of access: 07.09.2023).
16. Ameliorative effect of nicergoline on cognitive function through the PI3K/AKT signaling pathway in mouse models of Alzheimer's disease / G. Zang et al. *Mol. Med. Rep.* 2018. Vol. 17, № 5. P. 7293–7300. DOI: 10.3892/mmr.2018.8786 (Date of access: 07.09.2023).
17. A systematic review and meta-analysis assessing adverse event profile and tolerability of nicergoline / M. Fioravanti et al. *BMJ Open.* 2014. Vol. 4, № 7. P. 5090. DOI: 10.1136/bmjopen-2014-005090 (Date of access: 07.09.2023).

18. Singh A., Purohit V. A critical review of pyritinol. *Drugs Ther. Perspect.* 2019. Vol. 35. P. 278–282. DOI: 10.1007/s40267-019-00623-x (Date of access: 26.02.2024).
19. Role of vinpocetine in cerebrovascular diseases / S. Patyar et al. *Pharmacol. Rep.* 2011. Vol. 63, № 3. P. 618–628. DOI: 10.1016/S1734-1140(11)70574-6 (Date of access: 26.02.2024).
20. Systemic exposure of vinpocetine in pregnant Sprague Dawley rats following repeated oral exposure: An investigation of fetal transfer / S. Waidyanatha et al. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2018. Vol. 338. P. 83–92. DOI: 10.1016/j.taap.2017.11.011 (Date of access: 26.02.2024).
21. Goldsmith D. R., Wellington K. Naftidrofuryl: a review of its use in the treatment of intermittent claudication. *Drugs Aging.* 2005. Vol. 22, № 11. P. 967–977. DOI: 10.2165/00002512-200522110-00006 (Date of access: 26.02.2024).
22. Naftidrofuryl for intermittent claudication: Meta-analysis based on individual patient data / T. De Backer et al. *BMJ.* 2009. Vol. 338. P. 603. DOI: 10.1136/bmj.b603 (Date of access: 26.02.2024).
23. Naftidrofuryl-induced liver injury / E. Cholongitas et al. *Am. J. Gastroenterol.* 2003. Vol. 98, № 6. P. 1448–1450. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07506.x (Date of access: 26.02.2024).
24. White H. L., Scates P. W. Acetyl-L-carnitine as a precursor of acetylcholine. *Neurochem. Res.* 1990. Vol. 15, № 6. P. 597–601. DOI: 10.1007/BF00973749 (Date of access: 26.02.2024).
25. Benefits and Harms of ‘Smart Drugs’ (Nootropics) in Healthy Individuals / F. Schifano et al. *Drugs.* 2022. Vol. 82, № 6. P. 633–647. DOI: 10.1007/s40265-022-01701-7 (Date of access: 26.02.2024).
26. Chary M., Yi D., Manini A. F. Candyflipping and Other Combinations: Identifying Drug–Drug Combinations from an Online Forum. *Front. Psychiatry.* 2018. Vol. 9. P. 135. DOI: 10.3389/fpsy.2018.00135 (Date of access: 26.02.2024).

27. Administration of Phosphatidylcholine Increases Brain Acetylcholine Concentration and Improves Memory in Mice with Dementia / S. Y. Chung et al. *J. Nutr.* 1995. Vol. 125, № 6. P. 1484–1489. DOI: 10.1093/jn/125.6.1484 (Date of access: 26.02.2024).
28. Sommer S. A., LaBerge S., Toscano W. Effect of phosphatidylcholine on explicit memory / S. L. Ladd et al. *Clin. Neuropharmacol.* 1993. Vol. 16, № 6. P. 540–549. DOI: 10.1097/00002826-199312000-00007 (Date of access: 26.02.2024).
29. Secades J. J., Gareri P. Citicoline: pharmacological and clinical review, 2022 update. *Rev Neurol.* 2022. Vol. 75, № 5. P. 1–89. DOI: 10.33588/rn.75s05.2022311 (Date of access: 26.02.2024).
30. Sharma K. Cholinesterase inhibitors as Alzheimer's therapeutics (Review). *Mol Med Rep.* 2019. Vol. 20, № 2. P. 1479–1487. DOI: 10.3892/mmr.2019.10374 (Date of access: 26.02.2024).
31. Stoll L., Schubert T., Müller W. E. Age-related deficits of central muscarinic cholinergic receptor function in the mouse: Partial restoration by chronic piracetam treatment. *Neurobiol. Aging.* 1992. Vol. 13, № 1. P. 39–44. DOI: 10.1016/0197-4580(92)90006-J (Date of access: 26.02.2024).
32. Piracetam improves cognitive performance by restoring neurochemical deficits of the aged rat brain / K. Scheuer et al. *Pharmacopsychiatry.* 1999. Vol. 32, № 1. P. 10–16. DOI: 10.1055/s-2007-979231 (Date of access: 26.02.2024).
33. Brandao F., Paula-Barbosa M. M., Cadete-Leite A. Piracetam impedes hippocampal neuronal loss during withdrawal after chronic alcohol intake. *Alcohol.* 1995. Vol. 12, № 3. P. 279–288. DOI: 10.1016/0741-8329(94)00107-O (Date of access: 26.02.2024).
34. Müller W., Eckert G., Eckert A. Piracetam: Novelty in a unique mode of action. *Pharmacopsychiatry.* 1999. Vol. 32, № 1. P. 2–9. DOI: 10.1055/s-2007-979230 (Date of access: 26.02.2024).

35. Gouliaev A. H., Senning A. Piracetam and other structurally related nootropics. *Brain Res. Rev.* 1994. Vol. 19, № 2. P. 180–222. DOI: 10.1016/0165-0173(94)90011-6 (Date of access: 26.02.2024).
36. Effects of acute doses of oxiracetam in the scopolamine model of human amnesia / L. Preda et al. *Psychopharmacology (Berl)*. 1993. Vol. 110, № 4. P. 421–426. DOI: 10.1007/BF02244648 (Date of access: 04.12.2023).
37. Morozova O. Nootropics in the Complex Treatment of Chronic Cerebral Ischemia: Mechanisms of Action and Therapeutic Potential of Pramiracetam. *International neurological journal*. 2013. Vol. 5.59. P. 143–148. DOI: 10.22141/2224-0713.5.59.2013.85570 (Date of access: 04.12.2023).
38. Malykh A. G., Sadaie M. R. Piracetam and piracetam-like drugs: from basic science to novel clinical applications to CNS disorders. *Drugs*. 2010. Vol. 70, № 3. P. 287–312. DOI: 10.2165/11319230-000000000-00000 (Date of access: 04.12.2023).
39. Malík M., Tlustoš P. Nootropics as cognitive enhancers: types, dosage and side effects of smart drugs. *Nutrients*. 2022. Vol. 14, № 16. P. 3367. DOI: 10.3390/nu14163367 (Date of access: 04.12.2023).
40. Asymmetric Michael Addition in Synthesis of β -Substituted GABA Derivatives / J. Han et al. *Molecules*. 2022. Vol. 27, № 12. P. 3797. DOI: 10.3390/molecules27123797 (Date of access: 04.12.2023).
41. Event-related potentials and visual spatial attention: influence of a cholinergic drug / T. F. Münte et al. *Neuropsychobiology*. 1989. Vol. 21, № 2. P. 94–99. DOI: 10.1159/000118559 (Date of access: 04.12.2023).
42. Clinical effect of WEB 1881 (nebracetam fumarate) on patients with dementia of the Alzheimer type and study of its clinical pharmacology / K. Urakami et al. *Clin Neuropharmacol*. 1993. Vol. 16, № 4. P. 347–358. DOI: 10.1097/00002826-199308000-00007 (Date of access: 04.12.2023).
43. Pires D. E., Blundell T. L., Ascher D. B. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic properties using graph-based signatures. *J Med Chem*.

2015. Vol. 58, № 9. P. 4066–4072. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00104 (Date of access: 04.12.2023).
44. Molecular docking and structure-based drug design strategies / L. Ferreira et al. *Molecules*. 2015. Vol. 20, № 7. P. 13384–13421. DOI: 10.3390/molecules200713384 (Date of access: 04.12.2023).
45. Trott O., Olson A. J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. 2010. Vol. 31, № 2. P. 455–461. DOI: 10.1002/jcc.21334 (Date of access: 04.12.2023).
46. Crystal structures of the M1 and M4 muscarinic acetylcholine receptors / D. M. Thal et al. *Nature*. 2016. Vol. 531, № 7594. P. 335–340. DOI: 10.1038/nature17188 (Date of access: 04.12.2023).

ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ А



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ГРАМОТА

за участь

отримав(ла)

Руан Марка Малек

у секційному засіданні студентського наукового товариства кафедри
медичної хімії

XXX Міжнародна науково-практична
конференція молодих вчених та студентів
**"Актуальні питання створення нових
лікарських засобів"**

В.о. ректора
Національного фармацевтичного
університету



Алла КОТВИЦЬКА

17-19 квітня 2024 р.
м. Харків



ПРОДОЛЖЕНИЕ ПРИЛОЖЕНИЯ А

