

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет медико-фармацевтичних технологій
кафедра фармацевтичної хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: **«ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМІВ ВПЛИВУ НА ЦЕНТРАЛЬНУ
НЕРВОВУ СИСТЕМУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН
ЕКСТРАКТУ РОМАШКИ ПАХУЧОЇ»**

Виконав: здобувачка вищої освіти групи 22Фм(2,6з)04
спеціальності: 226 Фармація, промислова фармація
освітньої програми Фармація
Анастасія ГЕРГАЛО

Керівник: професор закладу вищої освіти кафедри
фармацевтичної хімії, д.фарм.н., професор
Ганна СЕВЕРІНА

Рецензент: професор закладу вищої освіти кафедри
фармакогнозії та нутріціології, д.фарм.н., професор
Надія БУРДА

АНОТАЦІЯ

За результатами прогнозування афінності та детального аналізу конформаційного розміщення і взаємодії з амінокислотними залишками активних сайтів визначено молекулярні механізми реалізації снодійного ефекту біологічно активних речовин, виявлених в екстрактах *Matricaria discoidea*. Доведена здатність антагоністичної дії на NMDA-рецептор через сайт селективного блокатора мемантину дикафеоїлхінових кислот, лютеоліну та хлорогенових кислот. Визначена неспроможність БАР до модуляції ГАМКА-рецептора через сайт позитивного алостеричного модулятора фенобарбіталу.

Робота складається зі вступу, 4 розділів, загальних висновків і списку використовуваної літератури, що складається зі 52 джерел. Робота викладена на 42 сторінках і містить 2 таблиці, 19 рисунків.

Ключові слова: *Matricaria discoidea*, молекулярний докінг, снодійна дія, флавоноїди

ANNOTATION

Based on the results of affinity prediction and detailed analysis of conformational arrangement and interaction with amino acid residues of active sites, the molecular mechanisms of the hypnotic effect of biologically active substances found in *Matricaria discoidea* extracts were determined. The ability of dicapheoylquinic acids, luteolin and chlorogenic acids to antagonize the NMDA receptor through the site of a selective memantine blocker was proved. The failure of BAR to modulate the GABA receptor through the site of the positive allosteric modulator phenobarbital was determined.

The work consists of an introduction, 4 chapters, general conclusions and a list of references consisting of 52 sources. The work is presented on 42 pages and contains 2 tables, 19 figures.

Key words: *Matricaria discoidea*, molecular docking, soporific effect, flavonoids

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень	4
Вступ	6
РОЗДІЛ 1 ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА <i>РОМАШКИ ПАХУЧОЇ</i> , ФЛАВОНОЇДИ ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ	9
1.1 Застосування та хімічний склад <i>ромашки пахучої</i>	9
1.2 Основні напрямки застосування <i>ромашки пахучої</i> в медицині	11
1.3 Флавоноїди та їх фармакологічна активність	13
1.3.1 Загальна характеристика флавоноїдів	13
1.3.2 Медичні переваги флавоноїдів та інших фенольних сполук	14
РОЗДІЛ 2 ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ <i>РОМАШКИ ПАХУЧОЇ</i> , МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	18
2.1 Фітохімічний склад ефірної олії та сухих екстрактів	18
2.2 Обговорення анальгетичної активності екстрактів	20
2.3 Обговорення снодійної активності екстрактів	22
2.4 Методологія віртуального докінгу	23
РОЗДІЛ 3 <i>IN SILICO</i> ДОСЛІДЖЕННЯ СПОРІДНЕНOSTІ ДО NMDA-РЕЦЕПТОРА БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН <i>РОМАШКИ ПАХУЧОЇ</i>	25
3.1 Обґрунтування вибору NMDA-рецептора як біомішені	27
3.2 Будова та активні сайти NMDA-рецептора	28
3.3 Молекулярний докінг БАР у NMDA-рецептор	30

РОЗДІЛ 4	<i>IN SILICO</i> ДОСЛІДЖЕННЯ СПОРІДНЕНOSTІ ДО ГАМК-	37
	РЕЦЕПТОРА БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН	
	<i>РОМАШКИ ПАХУЧОЇ</i>	
4.1	Характеристика ГАМК _A рецептора	37
4.2	Молекулярний докінг у ГАМКА-рецептор	39
	ВИСНОВКИ	42
	СПИСОК ВИКОРСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	43
	ДОДАТКИ	49

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР – біологічно активні речовини

ГАМК – γ -аміномасляна кислота

ГАМК_A – рецептор γ -аміномасляної кислоти типу А

ПАМ – позитивний алостеричний модулятор

ФБ – фенобарбітал

ХП – хвороба Паркінсона

ЦНС – центральна нервова система

NMDA – N-метил-D-аспартат

ВСТУП

Актуальність теми. *Matricaria discoidea* (Ромашка пахуча) є поширеною лікарською рослиною, яка традиційно використовується в народній медицині багатьох країн. Її відомі властивості, такі як протизапальна, зокрема спазмолітична, антисептична, заспокійлива дія, зумовлюють значний інтерес до подальшого вивчення цієї рослини. *Ромашка пахуча* широко використовується у фітотерапії для лікування запальних процесів, нервових розладів, головного болю та інших патологій. У складі рослини виявлено біологічно активні речовини, такі як ефірні олії, флавоноїди, кумарини, полісахариди та органічні кислоти. Попри багаторічну історію застосування, існує обмежена кількість сучасних фармакологічних і клінічних досліджень, що систематично аналізують дію та механізми активних компонентів *ромашки пахучої*. Це створює запит на наукове підтвердження ефективності й безпеки її застосування. Проте сучасні наукові дані щодо фармакологічних властивостей *ромашки пахучої* є недостатніми та фрагментарними, що робить актуальним проведення детальних досліджень. Завдяки широкому ареалу розповсюдження рослина є економічно вигідним і екологічно безпечним джерелом біологічно активних сполук (БАР). Це важливо в умовах зростаючого попиту на натуральні лікарські засоби. Науковцями НФаУ було проведено серію експериментів щодо визначення складу БАР екстрактів *ромашки пахучої* та виявлено снодійну дію в *in vivo* експерименті. Дослідження фармакологічної дії *ромашки пахучої* є перспективним напрямом сучасної науки, який дозволить розкрити потенціал рослини як джерела інноваційних фітотерапевтичних засобів. Наукове обґрунтування її лікувальних властивостей може значно сприяти розвитку медицини, фармакології та фітотерапії.

Метою дослідження є визначення молекулярних механізмів впливу на центральну нервову систему біологічно активних речовин, виявлених в екстрактах *ромашки пахучої*.

Для досягнення поставленої мети важливо було вирішити наступні завдання дослідження:

1. проаналізувати наявні наукові дані щодо вмісту біологічно активних речовин у різних частинах *ромашки пахучої*, напрямках застосування у медицині, виявити кореляційні залежності між БАР та фармакологічною активністю;
2. описати проведені фармакологічні дослідження *ромашки пахучої* щодо впливу на діяльність центральної нервової системи (ЦНС);
3. обґрунтувати доцільність використання та описати структуру головних таргетів для *in silico* досліджень БАР *ромашки пахучої*;
4. валідувати методологію докінгу процедурою ре-докінгу нативних референс-лігандів у сайти інгібіторів NMDA-та ГАМКА-рецептора, розрахувати значення TRSD;
5. процедурою молекулярного докінгу визначити афінність досліджуваних БАР до обраних біомішеней;
6. сформулювати висновки щодо можливих молекулярних механізмів реалізації снодійної дії БАР *ромашки пахучої*, зіставивши їх із результатами *in vivo* експерименту.

Об'єкт дослідження – процес таргетованого докінгу та вивчення молекулярних механізмів дії БАР *ромашки пахучої*.

Предмет дослідження – біологічно активні речовини, ідентифіковані в екстрактах *ромашки пахучої*, молекулярні механізми фармакологічної дії.

Методи дослідження. Для моделювання взаємодії біологічно активних речовин *ромашки пахучої* із молекулярними мішенями проведено віртуальні експерименти з використанням таких програм: Biovia Draw 2017 – для побудови та візуалізації молекулярних структур; Biovia Discovery Studio 2021 – для докінг-аналізу та оцінки взаємодії лігандів із білками; AutoDock Vina та AutoDock Tools – для автоматичного молекулярного докінгу та розрахунку

енергетичних параметрів; OpenBabel – для перетворення форматів молекулярних файлів і оптимізації структур.

Практичне значення отриманих результатів. Проведене дослідження може сприяти розробці ефективних фітопрепаратів для профілактики й лікування неврологічних розладів. Визначені молекулярні механізми також допоможуть оптимізувати подальші фармакологічні дослідження через наявну кореляцію «фармакологічний ефект - механізм дії - *in vivo* модель».

Апробація результатів дослідження і публікації. Опубліковано 1 тези на V Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Youth Pharmacy Science» Харків, 10-11 грудня листопада 2024 р.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи.

Кваліфікаційна робота за будовою відповідає вимогам зазначеним у Положенні про порядок підготовки та захисту кваліфікаційних робіт у Національному фармацевтичному університеті» ПОЛ А2.2-32-025 (ред. 04-2021) від 26.08.2021 р.. Складається з анотації, вступу, огляду літератури та трьох розділів, загальних висновків, списку використаної літератури та додатків. Робота викладена на 42сторінках, включає 2 таблиці та 19 рисунок. Список використаної літератури містить 52 джерела.

РОЗДІЛ 1

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОМАШКИ ПАХУЧОЇ, ФЛАВОНОЇДИ
ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ

1.1 Застосування та хімічний склад ромашки пахучої.

Matricaria discoidea DC. (син. *Chamomilla suaveolens*, син. *M. matricarioides*) – Ромашка пахуча дикорослий вид *Chamomilla*, родина айстрові (*Asteraceae*). Етимологія: лат. *discoidea* — «дископодібний» (рис. 1.1).



Рис. 1.1 Ромашка пахуча *Matricaria discoidea* DC

Ця рослина широко поширена в Естонії, Європі та Північній Америці, але не культивується. *Matricaria discoidea* має етномедичне походження з 19 століття, коли рослина в основному використовувалася у вигляді чаю або настоянки через її протизапальні та спазмолітичні властивості [1, 2]. Фармакопея СРСР дала схвалення на зовнішнє застосування *Matricaria discoidea* як додаткової сировини для суцвіть Німецької ромашки (*M. chamomilla* L.). *Matricaria discoidea* DC. задокументовано використовується як засіб від комах індіанцями та іншими групами корінних народів Північної Америки [3].

Американськими та канадськими дослідниками оцінено та систематизовано ідентифіковані хімічні компоненти різних екстрактів

Matricaria discoidea DC. Було визначено, що гідродистильована олія з висушених надземних частин *M. discoidea* містила найбільшу кількість біологічно активних речовин. Фракціонування цього екстракту з подальшим повторним тестуванням біологічної активності, дозволило отримати багато активних фракцій, які згодом були оцінені спектроскопічними методами, і найбільш активними сполуками були визначені α -терпінеол, спатуленол та ізовалерат нерилу. Ідентифіковані в ефірній олії *Matricaria discoidea* речовини наведено на рис. 1.2.

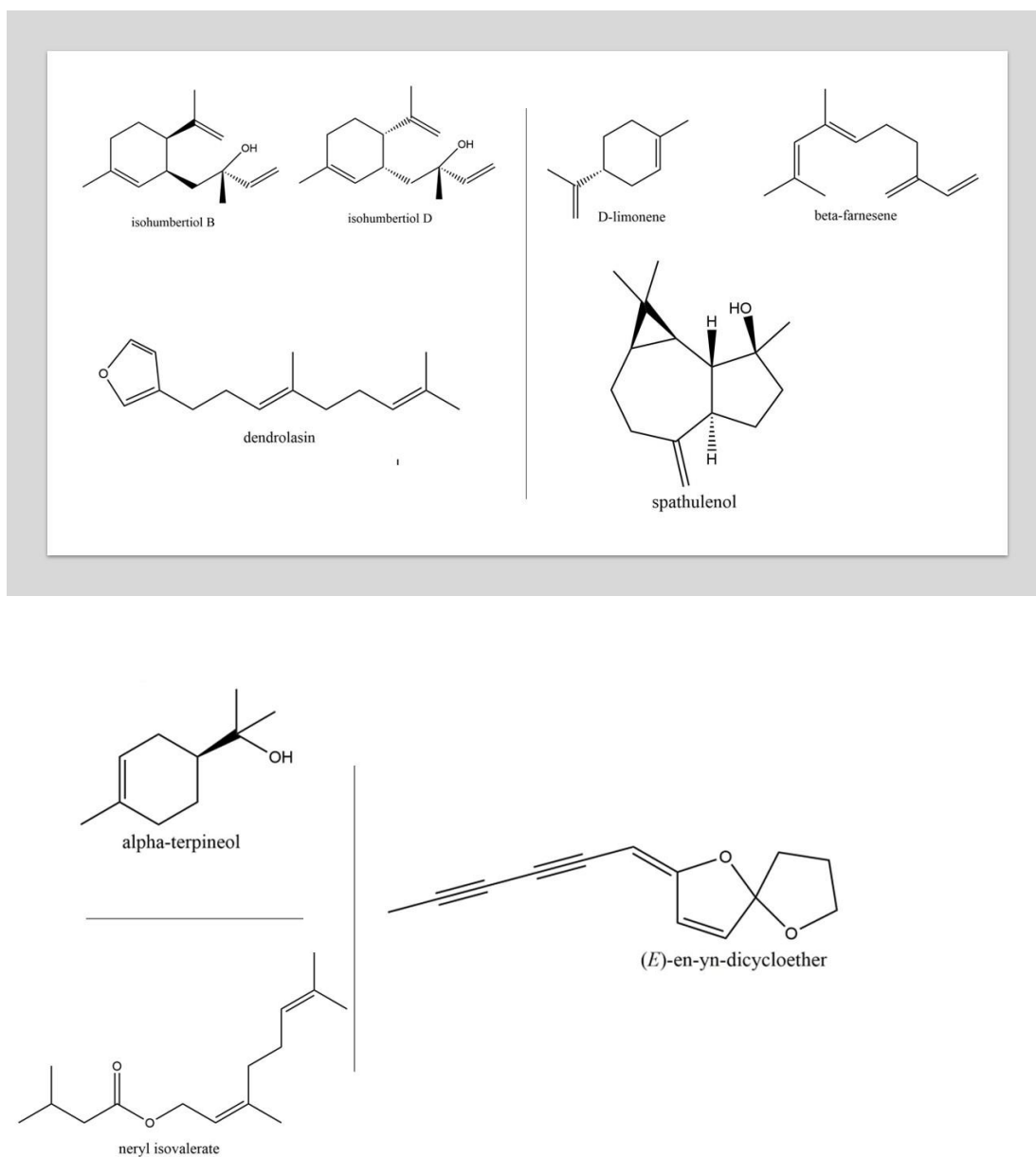


Рис. 1.2. Виділені речовини з ефірних олій *Matricaria discoidea*

У дослідженнях проведених латвійськими науковцями в ефірній олії було виявлено загалом 44 сполуки. Для біологічної активності найбільш важливими сполуками були (Z)-еніндициклоетер, (E)- β -фарнезен, гераніл-ізовалеріат, пальмітинова кислота та мирцен [4]. Крім того, було показано, що кількісний вміст ефірних олій у різних надземних частинах *Matricaria discoidea* істотно не змінюється. Тому використання трави замість суцвіть є більш вигідним з погляду біомаси [4, 5]. Також зроблені висновки про загальний вміст поліфенолів, флавоноїдів і кумаринів у різних частинах рослини підтвердили цей підхід. Також було виявлено, що основними фенолами в *M. discoidea* є дикафеоїлхінні кислоти, хлорогенові кислоти, глікозид ферулової кислоти, галактозид кверцетину, глюкозид малонілапігеніну, ацетилглюкозид апігеніну, глікозиди кверцетину, лютеоліну та апігеніну, а також глікозиди [5].

1.2 Основні напрямки застосування ромашки пахучої в медицині

Matricaria discoidea DC має довгу історію використання в традиційній медицині завдяки своїм лікувальним властивостям. Її основні застосування зумовлені хімічним складом, зокрема ефірними оліями, флавоноїдами та іншими біологічно активними речовинами [6].

Основні напрямки застосування в медицині:

1. Протизапальний засіб – завдяки вмісту ефірних олій і флавоноїдів, *Matricaria discoidea* застосовують для зменшення запалень. Вона може використовуватися для компресів або полоскань при захворюваннях ротової порожнини та горла [1].
2. Заспокійливий ефект – чай із ромашки пахучої має м'який седативний ефект, допомагаючи зменшити стрес, тривожність і покращити сон.
3. Шлунково-кишкові розлади – кармінативні властивості, які допомагають зменшити здуття, біль у шлунку та сприяють травленню. Її застосовують при гастритах, колітах і диспепсії.

4. Антисептичний засіб – настої з рослини застосовують для обробки дрібних ран, порізів і шкірних захворювань завдяки антимікробним властивостям.
5. Протиалергічний ефект – деяких випадках *Matricaria discoidea* застосовується для зменшення алергічних реакцій на шкірі, таких як свербіж або подразнення.
6. Протигрибковий засіб – настої або мазі на основі ромашки можуть допомогти в боротьбі з грибковими інфекціями шкіри.
7. Дитячі захворювання – відвари з ромашки пахучої часто застосовують для купання дітей, щоб зняти подразнення шкіри або полегшити симптоми колік.

Форми застосування: чай для внутрішнього вживання при нервових і травних розладах; настій або відвар для полоскань горла, обробки шкіри або ванн; ефірна олія для інгаляцій або додавання в креми та мазі; компреси при місцевих запаленнях або болю [7].

З огляду на те, що Ромашка пахуча містить багатий комплекс біологічно активних речовин, важливо продовжувати поглиблені дослідження для вдосконалення її медичного застосування. Розробка екологічних технологій для виділення ефірних олій із цієї лікарської рослини стане стійким і значущим підходом, враховуючи обмеженість ресурсів рослинної сировини. Такі інноваційні методи не лише підвищать економічну ефективність виробництва препаратів на основі рослин, але й сприятимуть більш раціональному використанню природних ресурсів і мінімізують екологічний вплив фармацевтичної індустрії [8,9].

На сьогодні *Matricaria discoidea* широко застосовується в народній медицині у формі настоянок або відварів. Проте використання таких форм обмежується через низьку прихильність пацієнтів. Крім того, відходи, що залишаються після виробництва настоянок та ефірних олій, містять значну кількість біологічно активних сполук. У зв'язку з цим актуальним є

вдосконалення наявних і пошук нових методів отримання лікарських засобів та харчових добавок на основі цієї рослини.

1.3 Флавоноїди та їх фармакологічна активність

1.3.1 Загальна характеристика флавоноїдів

Рослинні вторинні метаболіти, або так звані фітохімічні сполуки, – це молекули, що виробляються рослинами, які не є безпосередньо вирішальними для основних функцій, таких як фотосинтез або дихальний метаболізм, але необхідні для кращого виживання рослин у різних умовах навколишнього середовища [10, 11]. Серед них рослинні фенольні речовини, включаючи флавоноїди, є однією з найбільших груп фітохімічних сполук і широко використовуються у величезній кількості дослідницьких робіт, із висхідною тенденцією зацікавленості дослідників для розуміння як функцій, так і потенційних застосувань цих фітохімічних сполук у різних областях [11]. Фенольні сполуки, що містять кілька типів флавоноїдів, широко відомі як основна група природних вторинних метаболітів, синтезованих самими рослинами.

Багато повідомлень вказують на те, що флавоноїди є однією з найбільших груп фітохімічних продуктів, і було ідентифіковано понад 10 000 структур флавоноїдів [12, 13]. Флавоноїди можна знайти в різних тканинах рослин, особливо у фотосинтезувальних тканинах, таких як шари мезофілу [11]. Вони розподілені не тільки всередині клітини, але й на поверхні багатьох органів і тканин. Хімічна структура флавоноїдів в основному базується на С6-С3-С6 скелеті, залежно від положення зв'язку між ароматичним кільцем і бензопіранольним фрагментом. Вони в природі зустрічаються як у формі агліконів, так і глікозидів, залежно від виду рослини та факторів навколишнього середовища, і включають різні класи [13], наприклад, флавони,

ізофлавонони, флаванони, флавоноли, флаваноноли, аурони, халкони та антоціани (рис. 1.3) [14].

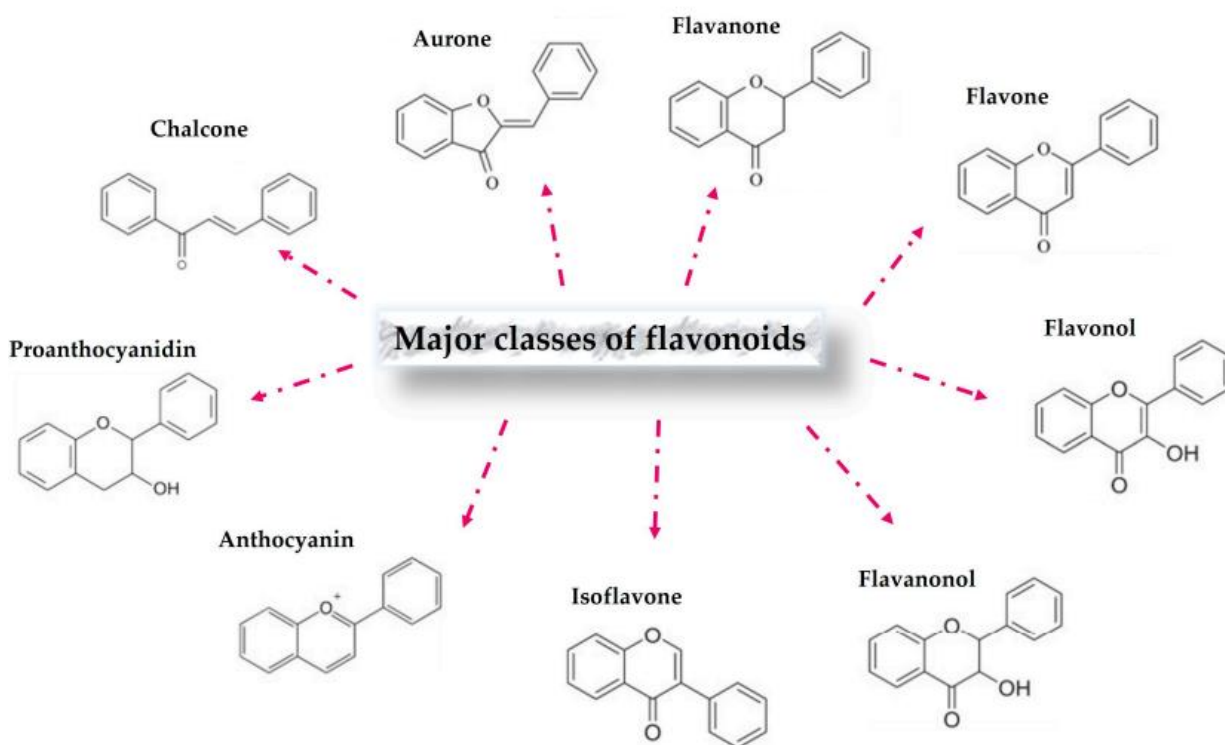
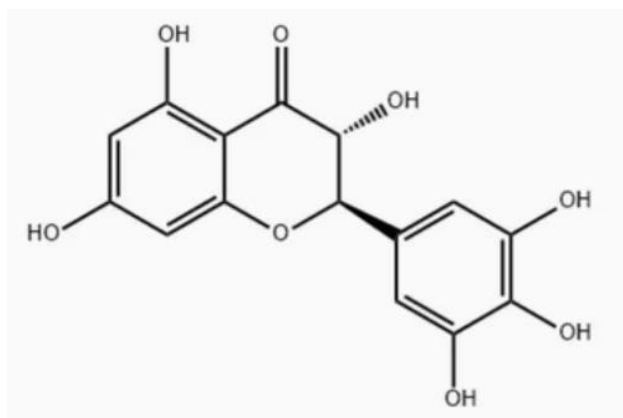


Рис. 1.3 Хімічні структури основних класів флавоноїдів [14]

1.3.2 Медичні переваги флавоноїдів та інших фенольних сполук

Окрім своїх фізіологічних функцій у рослинах як цінних вторинних метаболітів, флавоноїди та інші фенольні фітохімічні сполуки також відіграють ключову роль у наданні різноманітних медичних властивостей для зміцнення здоров'я та добробут людини [15, 16]. В останньому десятилітті величезна кількість дослідницьких груп по всьому світу проводять дослідження потенціалу флавоноїдів та інших фенольних біоактивних молекул як для лікування, так і для профілактики кількох захворювань [17, 18]. Крім того, у комерційних секторах, таких як фітофармацевтика, косметика та космецевтика, компанії також проводять дослідження цих фітохімічних сполук, щоб отримати інформацію про їхні потенційні біологічно активні молекули як основні інгредієнти для розробки продукту [19]. Потенціал

дигідроміріцетину (1.1), основної флавоноїдної фітохімічної сполуки з *Ampelopsis grossedentata*, для діабетичної кардіоміопатії було оцінено Ченом та його дослідницькою групою з Китаю [19].



1.1

Результати показали, що цей флавоноїд покращував серцеву дисфункцію, фіброз і травми; ця біологічно активна молекула також зменшувала запалення, окислювальний стрес і некроптоз через активацію сиртуїну 3 (SIRT3) у моделі діабетичних мишей, індукованих стрептозотоцином [20].

Іспанські науковці досліджували профілактику серцево-судинних проблем завдяки споживанню фенольних сполук із червоного вина, оливков і оливкової олії в умовах середземноморській дієті [18]. Ця дослідницька група спостерігала за 147 учасниками протягом більше 12 років, використовуючи опитувальник із 136 пунктів для перевірки частоти споживання їжі, і їхнє споживання поліфенолів було отримано за допомогою бази даних Phenol-Explorer. Це дослідження показало, що помірне або високе споживання фенольних фітохімічних сполук, особливо флавоноїдів, можливо, може знизити частоту серцево-судинних захворювань за допомогою середземноморської схеми харчування [18].

Phan і його група науковців визначили медичний потенціал екстракту, багатого на флавоноїди *Eclipta prostrata* L., який традиційно використовується для покращення пам'яті та когнітивних функцій і лікування діабету [21]. Це дослідження показало, що багатий флавоноїдами екстракт цієї рослини

помірно інгібував α -глюкозидазу та α -амілазу та забезпечував високу антиоксидантну та антиацетилхолінестеразну дію; результати молекулярного докінгу також показали, що більшість ідентифікованих флавоноїдів та інших основних фенольних сполук показали хороші властивості ADMET [21].

Антибактеріальну та протигрибкову дію *Phoenix dactylifera* L. з аравійської пустелі з екстрактом листя, багатим на флавоноїди та фенолокислоти [22]. Наночастинки срібла були синтезовані етиловим і водним екстрактами *P. dactylifera* листя; протигрибкову активність перевіряли на різних видах *Candida*, а антибактеріальну активність оцінювали як у двох грампозитивних, так і у двох грамнегативних штамів [22]. Ця команда виявила, що наночастинки срібла мають помітну антимікробну дію, тоді як водний екстракт забезпечував протимікробну активність трохи вищу, ніж спиртовий екстракт. Так, дослідник припустив, що екстракти пальмового листя борються з патогенними бактеріями, а також грибами, а не використовують хімічні речовини [22].

Інше дослідження, присвячене антибактеріальному, протигрибковому, інсектицидному та фітотоксичному потенціалу екстракту, багатого флавоноїдами, було проведено командою з Пакистану та Саудівської Аравії, і вони вивчали наночастинки срібла. Екстракти листя і цибулини трави *Амарилісу світлого* [15], а також жувальна гумка з екстрактом кори французької сосни [23]. Результати цих знахідок продемонстрували потенціал для розробки нових цікавих застосувань у сільському господарстві та фармакологічних/медичних продуктів [15, 23]. Користь для здоров'я какао, багатого флаванолом, також була оцінена різними дослідницькими групами [24, 25]. Davinelli та його команда з Італії та США провели рандомізоване контрольоване дослідження для оцінки потенціалу насиченого флаванолом какао у 48 здорових людей протягом 4 тижнів прийому порівнюючи їх з базовим рівнем. Результати підтвердили користь флаванолів із какао для здоров'я [24]. Інше рандомізоване клінічне дослідження за участю 22 здорових учасників було проведено дослідницькою групою з Німеччини щодо

флаванолів із темного шоколаду [25], який використовував подвійне сліпе перехресне клінічне дослідження, в якому учасники споживали 20 г темного шоколаду (що містить 400 мг флаванолів) або 7,5 г молочного шоколаду. Це дослідження довело медичну користь судинорозширювальних флаванолів із темного шоколаду для функції зору [25]. Ще одне дослідження Kádiz-Gurrea та його дослідницька група з Перу та Іспанії зосередилися на якісному визначенні флавоноїдів та інших фенольних фітохімічних сполук в екстрактах лушпиння (побічних продуктів какао) з різних районів вирощування какао в Перу за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (HPLC) у поєднанні з мас-спектрометрією, також підкреслюючи потенціал побічних продуктів какао з високою доданою вартістю для виробництва медичних, нутрицевтичних та фармацевтичних препаратів [26].

Таким чином очевидно, що додаткові дослідження та огляди флавоноїдів та інших фенольних сполук з нових/невідкритих видів рослин потребують інтенсивного дослідження, щоб досягти прогресу в цих областях досліджень і кращого розуміння фізіології та еволюції рослин. Крім того, ці фітохімічні сполуки також приносять неоціненну користь людям після величезної кількості досліджень, проведених для визначення їх медичних переваг на моделях *in silico*, *in vitro* та *in vivo*, а також багатьох клінічних випробувань. Однак, для забезпечення безпеки та ефективності цих добавок, багатих флавоноїдами/фенольними кислотами, фітофармацевтичних продуктів і лікарських засобів, слід проводити довгострокові дослідження, тести на токсичність і більшу кількість учасників для багатьох клінічних випробувань.

РОЗДІЛ 2

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ РОМАШКИ ПАХУЧОЇ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Фітохімічний склад ефірної олії та сухих екстрактів

Попередніми дослідженнями науковцями НФаУ професором кафедри фармакогнозії Кошовим О. М. разом із закордонними колегами були досліджені три сухі екстракти, отримані з *M. discoidea*. Вони являли собою гігроскопічні порошки коричневого кольору з характерним запахом. Екстракт 2 мав зеленуватий відтінок і під час зберігання ставав в'язкою, густою масою. Втрата при висушуванні для екстрактів становила від 4,1% до 4,8% [27].

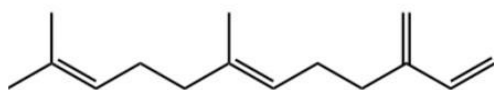
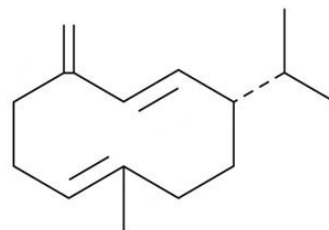
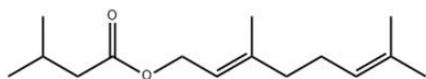
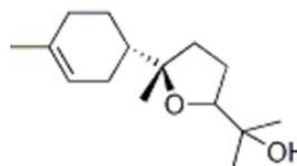
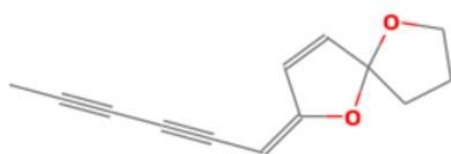
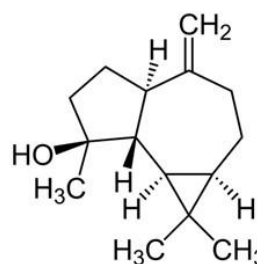
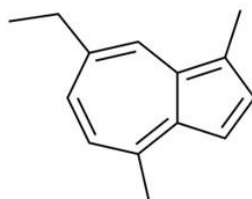
Загалом було ідентифіковано та кількісно визначено дев'ять основних терпеноїдів, які становили приблизно 96%. Склад ефірної олії наведено на рисунку 2.1 [28, 29].

RI (DB-5)	Compound	Content in the Oil, %	
		<i>M. Chamomilla</i> *	<i>M. Discoidea</i>
987	Myrcene	<0.01	7.99
1455	(E)- β -Farnesene	24.72	42.51
1472	Germacrene D	1.01	1.23
1570	Spathulenol	2.39	1.12
1609	Geranyl isovalerate	<0.01	29.50
1649	α -Bisabolol oxide B	22.27	1.06
1673	α -Bisabolone oxide A	10.40	2.11
1715	Chamazulene	7.89	-
1740	α -Bisabolol oxide A	21.78	1.48
1874	(Z)-Enyne-dicycloether	8.26	8.86
Total		98.72	95.86

*дані одержані з [28]

Рис. 2.1 Вміст основних терпеноїдів в ефірній олії *M. discoidea* [29]

Візуалізація структурних формул основних терпеноїдів в ефірній олії *M. discoidea* наведено на рис. 2.2

**(E)-β-Farnesene****Germacrene D****Geranyl isovalerate****α-Bisabolol oxide B****(Z)-Enyne-dicycloether****Spathulenol****Chamazulene**Рис. 2.2 Структурні формули основних компонентів ефірної олії *M. discoidea*

Основні фенольні речовини в сухих екстрактах *Matricaria discoidea* ідентифікували за допомогою високоефективної рідинної хроматографії з мас

детектуванням. Вміст фенольних сполук, гідрокоричних кислот і флавоноїдів також визначали за допомогою фармакопейних спектрофотометричних методів (табл. 2, рис.1).

Загалом у сухих екстрактах *Matricaria discoidea* було ідентифіковано 16 фенольних сполук (7 флавоноїдів, 7 гідрокоричних кислот та 2 фенольні кислоти).

Substance	Retention Time, min	Content in the Extract		
		P1	P2	P3
UPLC-MS/MS, µg/g of dry extract				
Neochlorogenic acid	2.61	2109.57 ± 70.12	474.21 ± 4.02	805.71± 32.49
Luteolin	7.12	271.53 ± 24.12	1927.41 ± 70.51	114.13 ± 25.62
Cryptochlorogenic acid	3.86	19.81 ± 2.66	228.8 ± 17.58	23.44 ± 3.11
Luteolin-4-O-glucoside	6.05	6.93 ± 1.07	9.27 ± 1.98	0
Chlorogenic acid	3.95	3148.29 ± 143.312	10,836.74 ± 203.23	2202.01 ± 20.64
Isorhamnetin-3-glucoside	5.80	49.65 ± 3.11	40.52 ± 7.19	18.79 ± 1.86
Luteolin-3,7-diglucoside	5.02	117.36 ± 5.927	157.59 ± 2.80	21.69 ± 2.3
Vanillic acid	4.28	23.87 ± 2.87	22.45 ± 1.19	14.25 ± 1.18
Caffeic acid	4.32	37.32 ± 3.81	32.33± 3.26	51.82 ± 5.66
3,4-Dihydroxyphenylacetic acid	2.30	335.69 ± 9.49	117.88 ± 7.33	146.11 ± 7.11
Isorhamnetin	7.95	6.6 ± 0.39	26.96 ± 2.32	8. 4 ± 1.29
Hyperoside	5.42	139.61 ± 1.91	194.14 ± 17.13	51.95 ± 0.93
Luteolin-7-O-glucoside	5.56	2844.8± 212.97	8101.17 ± 1237.03	766.53 ± 188.39
4,5-Dicaffeoylquinic acid	5.68	3339.61 ± 52.33	3049.98 ± 143.4	925.79 ± 48.57
3,5-Dicaffeoylquinic acid	6.06	1708.29 ± 26.77	1578.86 ± 99.56	471.56 ± 26.17
3,4-Dicaffeoylquinic acid	5.85	3502.78 ± 54.88	3233.96 ± 208.24	967.68 ± 54.97
Spectrophotometry, %				
Phenolic compounds		5.62 ± 0.06	10.74 ± 0.39	3.17 ± 0.08
Hydrocinnamic acids		1.55 ± 0.28	3.31 ± 0.25	0.98 ± 0.31
Flavonoids		2.37 ± 0.13	8.09 ± 0.54	0.28 ± 0.06

Рис. 2.3 Вміст основних фенольних сполук в екстрактах *M. discoidea* [28]

2.2 Обговорення анальгетичної активності екстрактів

Знеболювальна активність в екстрактах трави *Matricaria discoidea* (P1, P2, P3), а також ацетамінофену (Парацетамол-Здоров'я, капсули, 500 мг; Фармацевтична компанія «Здоров'я», Харків, Україна) досліджували на мишах за допомогою встановленого тесту на гарячій пластині [30]. Випробування

проводили один раз, без промивання. Період акліматизації та карантину становив 14 днів. Тварини (масою 22–40 г) були випадковим чином розподілені на 11 груп, по 6 мишей у групі.

1 група — контрольна група, яка отримувала 0,9 % розчин NaCl у дозі 1 мл на 100 г маси тіла;

Групи 2, 3, 4 — миші отримували 25, 50 і 100 мг/кг екстракту P1;

Групи 5, 6, 7 — миші отримували 25, 50 і 100 мг/кг екстракту P2;

Групи 8, 9, 10 — миші отримували 25, 50 і 100 мг/кг екстракту P3;

Група 11 — група позитивного контролю, яка отримувала 50 мг/кг ацетамінофену.

Перед тестом гризунів не годували протягом 2 год. Екстракти вводили внутрішньошлунково у вигляді водної суспензії за 30 хв до того, як тварин поміщали на гарячу пластинку. Водні суспензії етанольних екстрактів готували свіжими.

Після споживання екстрактів або препарату порівняння мишу поміщали на термостатичну плиту (55°С) протягом 30 хв. Період затримки реакції був зафіксований як час, необхідний для реакції миші на теплову стимуляцію облизуванням лапи, здриганням або стрибком [31, 32]. За мишами спостерігали протягом 0,5, 1, 2, 3 та 4 годин після екстракту або контролю введення препарату. Критерієм анальгетичної активності було збільшення латентного періоду після введення екстрактів порівняно з контролем. Щоб уникнути термічного ураження тканин лапи, час витримки гарячої пластини для мишей не перевищував 60 с.

Результати прояву анальгетичної активності наведені на рис. 2.4

Agent	Group	Dose, mg/kg	The Time of Response(s)/Analgesic Effect (%) in Comparison to (Reference Drug) and [Control]				
			After Administration in				
			30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
Control group	1		7.10 ± 0.32	7.00 ± 0.50	7.05 ± 0.28	6.98 ± 0.52	6.40 ± 0.63
Extract P1	2	25	8.85 ± 0.69/ [25%] (-15%)	9.13 ± 0.77/ [30%] * (-12%)	10.67 ± 0.49/ [51%] * (1%)	10.40 ± 0.55/ [49%] * (9%)	9.12 ± 0.51/ [42%] * (9%)
	3	50	10.15 ± 1.49/ [43%] (-3%)	10.30 ± 1.01/ [47%] * (-1%)	12.15 ± 0.39/ [72%] * (15%)	11.07 ± 0.54/ [58%] * (16%)	9.65 ± 0.28/ [51%] * (15%) #
	4	100	10.67 ± 2.79/ [50%] (2%)	12.07 ± 2.40/ [72%] (16%)	11.12 ± 1.27/ [58%] * (5%)	10.57 ± 1.19/ [50%] * (11%)	8.87 ± 1.27/ [39%] (6%)
	5	25	10.63 ± 1.01/ [50%] * (2%)	10.42 ± 0.88/ [49%] * (0%)	10.72 ± 0.62/ [52%] * (1%)	10.47 ± 0.67/ [50%] * (10%)	9.48 ± 0.92/ [48%] * (13%)
Extract P2	6	50	10.98 ± 0.58/ [55%] * (5%)	11.67 ± 0.53/ [67%] * (12%)	12.78 ± 1.87/ [81%] * (21%)	11.72 ± 1.76/ [68%] * (23%)	10.10 ± 1.20/ [58%] * (20%)
	7	100	11.65 ± 1.46/ [64%] (12%)	12.72 ± 1.58/ [82%] * (22%)	12.55 ± 1.53/ [78%] * (19%)	10.30 ± 0.94/ [47%] * (8%)	9.93 ± 1.01/ [55%] * (18%)
	8	25	8.97 ± 0.83/ [26%] (-14%)	9.42 ± 1.31/ [35%] (-10%)	9.93 ± 1.11/ [41%] * (-6%)	9.57 ± 0.74/ [37%] * (1%)	9.00 ± 0.79/ [41%] * (7%)
Extract P3	9	50	7.98 ± 0.47/ [12%] (-24%) #	9.85 ± 1.17/ [41%] (-6%)	10.37 ± 1.21/ [47%] (-2%)	10.08 ± 0.99/ [44%] (6%)	8.12 ± 1.02/ [27%] (-3%)
	10	100	9.07 ± 0.77/ [28%] (-13%)	10.33 ± 0.65/ [48%] * (-1%)	11.03 ± 0.75/ [57%] * (4%)	10.25 ± 1.10/ [47%] * (8%)	8.75 ± 0.60/ [37%] * (4%)
Acetaminophen	11	50	10.45 ± 0.73 [45%] *	10.43 ± 0.59 [49%] *	10.57 ± 0.71 [50%] *	9.50 ± 0.57 [36%] *	8.38 ± 0.33 [31%] *

Рис. 2.4 Результати визначення анальгетичної активності в екстрактах *M. Discoidea* [28]

2.3. Обговорення снодійної активності екстрактів

Снодійний ефект трьох екстрактів (P1, P2, P3) та референтних препаратів натрію тіопенталу ліофілізату (ВАТ «Київмедпрепарат», Київ, Україна) та сиропу «Валеріана сироп АН НАТУРЕЛЬ» (ТОВ «Краса та здоров'я», Харків, Україна) були вивчені за допомогою тесту часу сну, індукованого тіопенталом натрію [33, 34]. Білих самців щурів масою 190–280 г розподілили на 11 груп (по 6 тварин у групі):

1 група — контрольна група, яка отримувала 0,9 % розчин NaCl у дозі 1 мл на 100 г маси тіла;

Групи 2, 3 і 4 — щури отримували 25, 50 і 100 мг/кг екстракту P1;

Групи 5, 6 і 7 — щури отримували 25, 50 і 100 мг/кг екстракту P2;

Групи 8, 9 і 10 — щури отримували 25, 50 і 100 мг/кг екстракту P3;

Група 11 — група Валеріани, яка отримувала 2,14 мг/кг сиропу Валеріани.

Тривалість сну реєстрували як період часу, протягом якого щури перебували в положенні на боці.

Результати прояву снодійної активності наведені на рис. 2.4

Agent	Group	Dose, mg/kg	Average Sleep Duration, min	Soporific Activity, %
Control group	1	40	87.33 ± 11.56	100.0%
	2	25	180.17 ± 11.37 *	206.3%
Extract P1	3	50	171.67 ± 2.87 *	196.6%
	4	100	170.00 ± 9.27 *	195.8%
Extract P2	5	25	243.00 ± 8.07 *#	278.2%
	6	50	215.50 ± 10.57 *#	246.8%
	7	100	248.67 ± 6.10 *#	284.7%
Extract P3	8	25	165.67 ± 12.26 *	189.7%
	9	50	156.17 ± 10.81 *#	178.8%
	10	100	167.67 ± 10.11 *	192.0%
Valerian extract	11	2.15	185.33 ± 5.42 *	212.2%

* Statistically significant ($p < 0.05$) compared to the group administrated sodium thiopental according to Student's test. #Statistically significant ($p < 0.05$) compared to the group given "Valerian syrup AN NATUREL" according to Student's test.

Рис. 2.5 Результати визначення снодійної активності в екстрактах *M. Discoidea* [28]

2.4 Методологія віртуального докінгу

Молекулярний докінг проводили за допомогою програм AutoDock Vina та AutoDockTools 1.5.6 [35]. Як біологічну мішень використали макромолекулу, отриману з Protein Data Bank [36], з такими ідентифікаторами: PDB ID 7EU7, 6X3W. Для створення віртуальної бази структур кандидатів застосовували програму BIOVIADraw 2021, зберігаючи їх у форматі mol. Оптимізацію структур виконували за допомогою програми Chem3D, використовуючи молекулярно-механічний алгоритм MM2, а отримані результати зберігали у форматі .pdb. Потім ці структури були конвертовані у формат .pdbqt за допомогою AutoDockTools-1.5.6.

Для видалення розчинника та нативного ліганду з білка використовували Discovery Studio Visualizer 2021, після чого підготовлену макромолекулу

зберігали у форматі .pdb. У програмі AutoDockTools-1.5.6 до структури білка додавали полярні атоми водню, а кінцевий результат зберігали у форматі .pdbqt. Параметри розміру Grid box і його центру визначали на основі розташування нативного ліганду у субодиниці А.

РОЗДІЛ 3

IN SILICO ДОСЛІДЖЕННЯ СПОРІДНЕНOSTІ ДО NMDA-РЕЦЕПТОРА
БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН РОМАШКИ ПАХУЧОЇ

Ромашковий чай і ефірні олії широко використовуються через їх заспокійливу дію [37,38]. Попередньо проф. Кошовим О.М. здійснено серію експериментів щодо визначення седативно-гіпнотичного ефекту олій і екстрактів *Matricaria discoidea* у тесті на час сну, викликаного тіопенталом натрію у щурів. Визначено, що седативний ефект *M. discoidea* екстрактів був значущим, оскільки вони подовжували час сну на 78,8–184,7%. Середня тривалість сну в групі, яка отримувала 25 мг/кг екстракту Р1, становила $180,2 \pm 11,4$ хв. Середня тривалість сну щурів, які отримували 50 мг/кг і 100 мг/кг екстракту Р1, становила $171,7 \pm 2,9$ хв і $170,0 \pm 9,3$ хв, відповідно. Ця тривалість сну, отримана з екстрактом Р1, була значно вищою, ніж у контрольної групи (на 106,3%, 96,6% і 95,8% відповідно). Тому екстракти *M. discoidea* виявляють синергічну седативну та снодійну дію з тіопенталом натрію.

Візуалізація біологічно активних речовин, які досліджувалися, наведено на рис. 3.1 та 3.2.

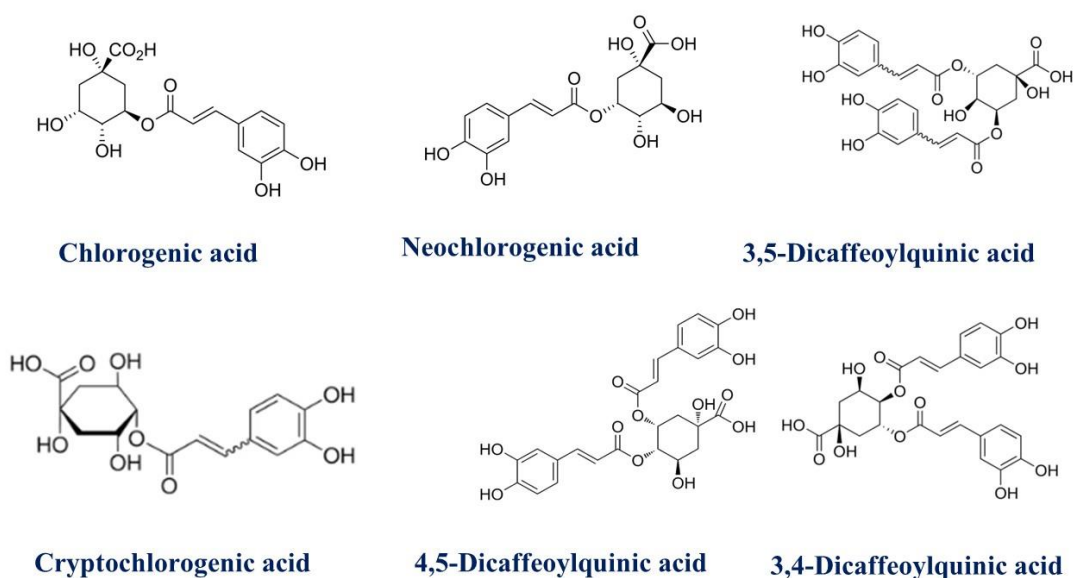


Рис. 3.1 Структурні формули гідроксикоричних кислот *M. discoidea*

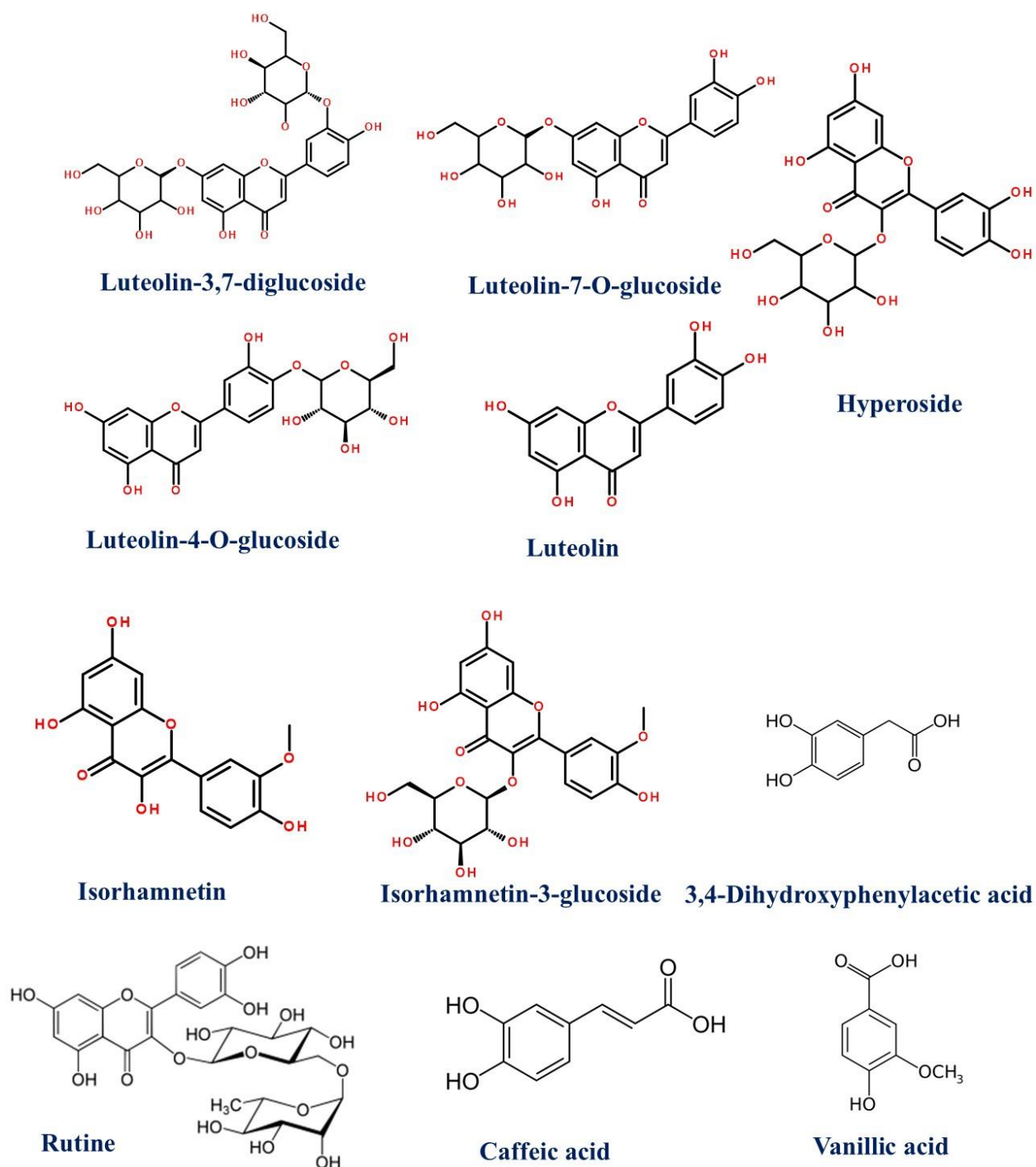


Рис. 3.2 Структурні формули біологічно активних фенольних сполук і флавоноїдів *M. discoidea*

Мета роботи полягала у прогнозуванні афінності біологічно активних сполук, виявлених у траві ромашки пахучої, шляхом проведення молекулярного докінгу до активних центрів біологічних мішеней, що беруть участь у реалізації снодійної дії.

3.1 Обґрунтування вибору NMDA-рецептора як біомішені

Традиційно ромашка використовується як снодійний і легкий транквілізатор. Відповідно до літератури, седативний ефект, який спостерігається тут, може бути пов'язаний з апігеніном, який зв'язується з рецепторами ГАМК і бензодіазепіну в мозку [37, 39]. Апігенін також знижує концентрацію кортизолу в плазмі [40]. Shinomiya та співавтори досліджували снодійну дію екстракту ромашки на моделі щурів із порушенням сну, і автори повідомили про значне скорочення затримки сну при застосуванні 300 мг/кг екстракту ромашки [41]. Amsterdam та співавтори повідомили, що адміністрування стандартизованого M. Recutita (220–1100 мг титрованого екстракту залежно від відповіді) призвело до значного зниження показників тривоги за шкалою оцінки тривоги Гамільтона порівняно з плацебо наприкінці восьми тижнів лікування [42]. Автори припустили, що екстракти ромашки можуть мати анксиолітичну дію на людей з легким або помірним генералізованим тривожним розладом [42].

Визначення фармакологічної активності та впливу екстрактів ромашки на діяльність центральної нервової системи все ще не дає відповіді щодо молекулярних механізмів її реалізації. Тож відкритим лишається питання, які рецептори та/або ферменти беруть участь у їх реалізації.

NMDA-рецептор (N-метил-D-аспартатний рецептор) є іонним каналом, що активується глутаматом, основним збуджувальним нейромедіатором центральної нервової системи. Він відіграє важливу роль у регуляції збудливості нейронів, нейропластичності, а також процесах навчання та пам'яті. У контексті снодійного ефекту NMDA-рецептори можуть впливати на кілька механізмів [43]:

1. Регуляція нейронної збудливості – надмірна активація NMDA-рецепторів може призводити до підвищеної збудливості центральної нервової системи, що ускладнює засинання. Інгібування NMDA-рецепторів сприяє зниженню збудливості, полегшуючи занурення у сон.

2. Вплив на гальмівні механізми – NMDA-рецептори взаємодіють із системою γ -аміномасляної кислоти (ГАМК), основного гальмівного нейромедіатора. Інгібіція NMDA-рецепторів може посилювати гальмівну дію ГАМК, що сприяє снодійному ефекту.
3. Зниження стресу та тривожності – блокування NMDA-рецепторів може мати анксіолітичний (протитривожний) ефект, що додатково сприяє нормалізації сну, оскільки тривожність є поширеною причиною безсоння.
4. Вплив на циркадні ритми – NMDA-рецептори можуть впливати на функціонування супрахізматичного ядра гіпоталамуса, який регулює циркадні ритми. Їх інгібування може стабілізувати ці ритми, покращуючи якість сну [44].

Таким чином, NMDA-рецептори відіграють ключову роль у регуляції сну, і модулювання їх активності (наприклад, шляхом використання інгібіторів) може сприяти досягненню снодійного ефекту.

3.2 Будова та активні сайти NMDA-рецептора

NMDA-рецептор є іонотропним рецептором, який належить до родини глутаматних рецепторів. Його структура є складною і багатокомпонентною, оскільки рецептор утворюється шляхом асоціації кількох субодиниць. Ось основні аспекти його будови:

NMDA-рецептор є тетрамерним білком, що складається з чотирьох субодиниць [45]:

- GluN1: Це обов'язкова субодиниця, необхідна для функціонування рецептора. У людини існує кілька ізоформ GluN1, що виникають через альтернативний сплайсинг.
- GluN2 (A, B, C, D): Існує чотири типи субодиниць GluN2. Комбінація цих субодиниць визначає функціональні властивості рецептора, зокрема його кінетику та чутливість до лігандів.

- GluN3 (A, B): Це додаткові субодиниці, які можуть модулювати активність рецептора, але їх роль менш вивчена [45].

Рецептор має кілька ключових функціональних доменів (рис. 3.3):

Екстраклітинний домен:

- Домен зв'язування ліганду (LBD): цей домен зв'язується з глутаматом (основний нейромедіатор) або гліцином (співвагоніст).
- Амінокислотний термінальний домен (ATD): бере участь у регуляції рецепторних взаємодій і впливає на чутливість до лігандів [46].

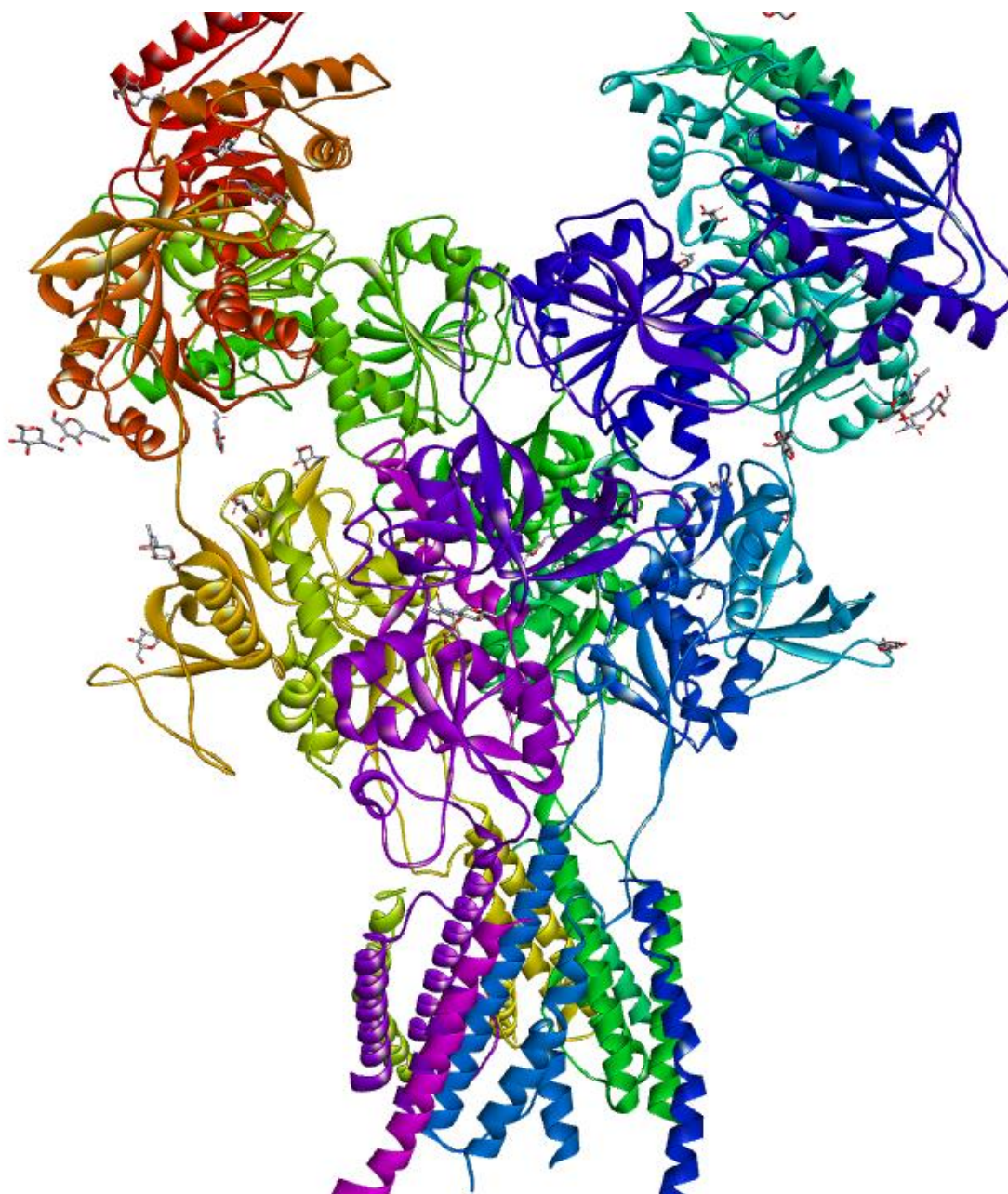


Рис. 3.3 Візуалізація NMDA-рецептора, виділеного із *Homo sapiens*

Трансмембранний домен (TMD):

- Утворює іонний канал, який активується після зв'язування лігандів. Канал є вибірконим для іонів кальцію (Ca^{2+}), натрію (Na^{+}) і калію (K^{+}).
- Містить магній-залежний блок, який активується зміною мембранного потенціалу[46].

Внутрішньоклітинний домен:

- Взаємодіє з сигнальними білками і бере участь у регуляції внутрішньоклітинних процесів [46].

Серед особливостей активації можна виділити ті, які обумовлені зв'язуванням з лігандами:

- Агоністи: Глутамат і гліцин необхідні для активації рецептора.
- Магній-залежність: У стані спокою канал блокується магнієм (Mg^{2+}), який видаляється при деполяризації мембрани.
- Кальцієва проникність: Рецептор має високу проникність для іонів кальцію, що робить його ключовим учасником кальцієвих сигнальних шляхів [47].

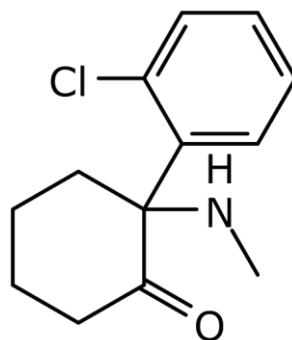
Локалізуються NMDA-рецептори переважно у центральній нервовій системі, зокрема в синапсах і позасинаптичних ділянках нейронів. Рецептори модулюються різними лігандами, такими як антагоністи (наприклад, кетамін, мемантин), а також внутрішньоклітинними факторами (фосфорилуванням і взаємодіями з білками)[47].

Ця складна будова дозволяє NMDA-рецептору виконувати ключову роль у процесах нейронної збудливості, нейропластичності та передачі сигналів у нервовій системі [47].

3.3 Молекулярний докінг у NMDA-рецептор

In silico прогнозування фармакологічної активності БАР Ромашки пахучої проведено молекулярним докінгом.

Докінг нативного еталонного ліганду у відповідний активний сайт (тобто процедура редокінгу) використовувався для оцінки ефективності методологій і параметрів докінгу у відтворенні експериментальних даних конформаційного розміщення. Як референс нативний ліганд використано кетамін:



Кетамін – референс ліганд

Кетамін є неконкурентним блокатором каналів NMDA-рецепторів. Одноразова субанестетична доза кетаміну викликає швидкий (протягом кількох годин) і тривалий антидепресивний ефект у пацієнтів, резистентних до інших антидепресантів. Кетамін є рацемічною сумішшю S- та R-енантіомерів кетаміну, причому ізомер S-кетаміну є більш активним антидепресантом [48]. Описані мікроскопічні структури людських GluN1-GluN2A та GluN1-GluN2B NMDA-рецепторів у комплексі з S-кетаміном, гліцином і та кишеню для зв'язування S-кетаміну в центральній частині каналу між ворітьми і флєтером селективності. Дві амінокислоти – лейцин 642 на GluN2A (гомологічний лейцину 643 на GluN2B) та аспарагін 616 на GluN1 – були ідентифіковані як ключові залишки, що утворюють гідрофобні та водневі взаємодії з кетаміном, і мутації в цих залишках знижують ефективність кетаміну в блокуванні активності каналу NMDA-рецептора [49]. Саме цю кишеню було використано для докінгу та визначення можливості інгібування NMDA-рецептора природними речовинами.

Відтворюваність усіх зв'язків під час фіксації в активних центрах (з літератури та встановлена в нашому дослідженні) була успішно реалізована. Значення середньоквадратичного відхилення (RMSD) між нативною та референтною конформаціями були розраховані за допомогою онлайн-ресурсу ProFit Results, яка становила 2,043 Å для кетаміну. Ці результати підтвердили відтворюваність експериментальних даних і валідність методу.

Інгібування NMDA-рецептора кетаміном відбувається фіксацією його у порі каналу за участі 3 гідрофобних зв'язків з валіном (Val644) та лейцином (Leu642) (рис. 3.4).

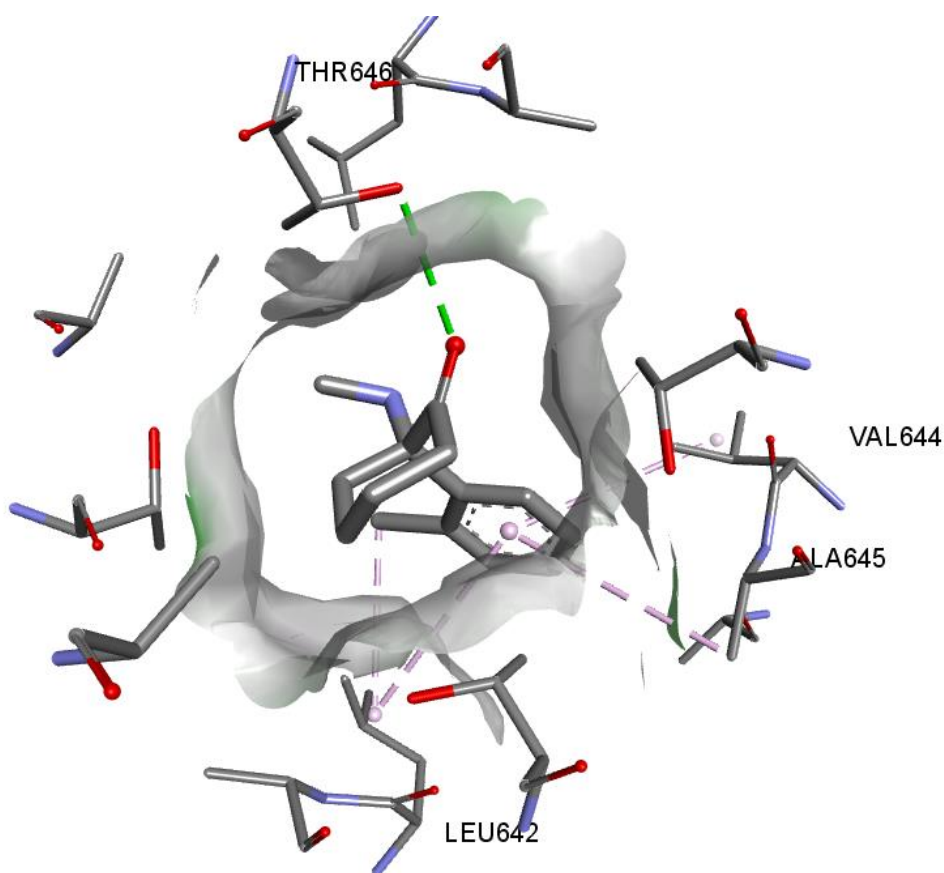


Рис. 3.4 Кетамін в активному сайті NMDA-рецептора

Рівень спорідненості до відповідного активного центру біомішені оцінювали за параметром енергії зв'язку (ккал/моль) відносно еталонного ліганду (табл. 3.1). Для більшості досліджуваних лігандів розраховано значення скорингових функцій до активного сайту антагоністу NMDA-рецептора нижче, ніж у референс-ліганду кетаміну (окрім ванілінової,

кофеїнової та 3,4-дигідроксифенілацетатної кислот) (табл. 3.1). Також шляхом аналізу взаємодії досліджуваних лігандів з амінокислотними залишками та визначено, що вірогідність фіксації у порі каналу шляхом взаємодії з валіном (Val644) та лейцином (Leu642) мають дикофеїлхінна кислота, лютеолін та хлорогенові кислоти (табл. 3.2, рис. 3.5).

Таблиця 3.1

Результати прогнозування афінності БАР, виділених з Ромашки пахучої, до активних сайтів біомішеней

Ліганд	Біомішень	
	NMDA (7EU7)	ГАМКА (6X3W)
Кетамін	-5.6	—
Фенобарбітал	—	-7.3
Неохлорогенова кислота	-7.1	-6.8
Хлорогенова кислота	-6.9	-6.8
Криптохлорогенова кислота	-7.0	-6.4
Лютеолін	-7.4	-6.6
Лютеолін-4-О- глікозид	-8.1	-6.0
Лютеолін-7-О- глікозид	-8.4	-6.5
Лютеолін-3,7-глікозид	-7.9	-6.5
Ізорамнетин -3-глікозид	-7.9	-6.5
Ванілінова кислота	-4.9	-5.1
Кофеїнова кислота	-5.1	-5.0
3,4-Дигідроксифенілоцтова кислота	-5.2	-4.9
Ізорамнетин	-7.3	-6.4
Рутин	-9.1	-6.2
Гіперозид	-7.7	-6.6
4,5- Дикафеоїлхінна кислота	-8.1	-7.0
3,5- Дикафеоїлхінна кислота	-7.9	-7.5
3,4-Дикафеоїлхінна кислота	-7.9	-7.3

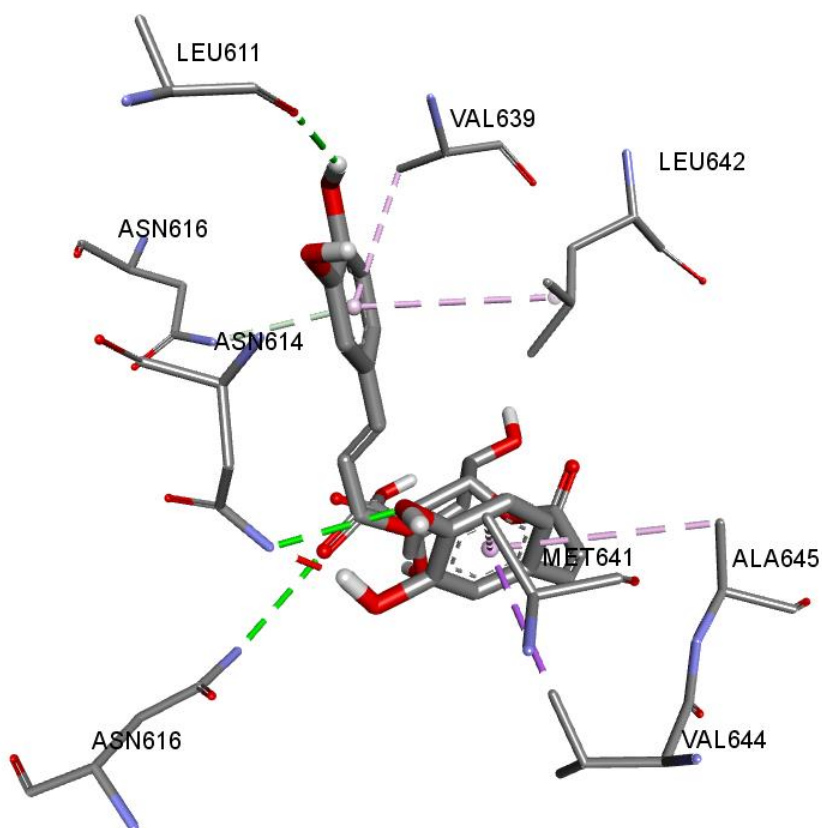


Рис. 3.5. Візуалізація взаємодії 4,5-дикафеїлхіної кислоти з амінокислотними залишками активного сайту антагоніста NMDA-рецептора

Фіксація у порі каналу 4,5-дикафеїлхіної кислоти відбувається шляхом гідрофобної взаємодії дигідроксифенільно фрагменту валіном (Val644 та Val639), лейцином (Leu642), метионіном (Met641), аланіном (Ala645) та водневих зв'язків карбонільної групи з аспрагіном (Asn616(2), Asn614) та гідроксильних груп з аміногрупою лейцину (Leu611).

Таблиця 3.2

Характер взаємодії лігандів з найліпшими значеннями скорингових функцій з амінокислотними залишками активного сайту

Ліганд	Взаємодія з амінокислотними залишками
4,5-дикафеїлхінна кислота	a: Asn616(2), Asn614, Leu611, Asn616; b: Val644, Val639, Leu642, Met641, Ala645
Лютеолін	a: Phe613, Leu611(2), Asn615(2), b: Val644(2), Val639, Leu642

Сумісна конформація з кетаміном демонструє можливість вдалого розміщення у порі з додатковою клиновидною фіксацією на вході в кишені дигідроксифенільним залишком 4,5-дикафеїлхіної кислоти (рис. 3.6).

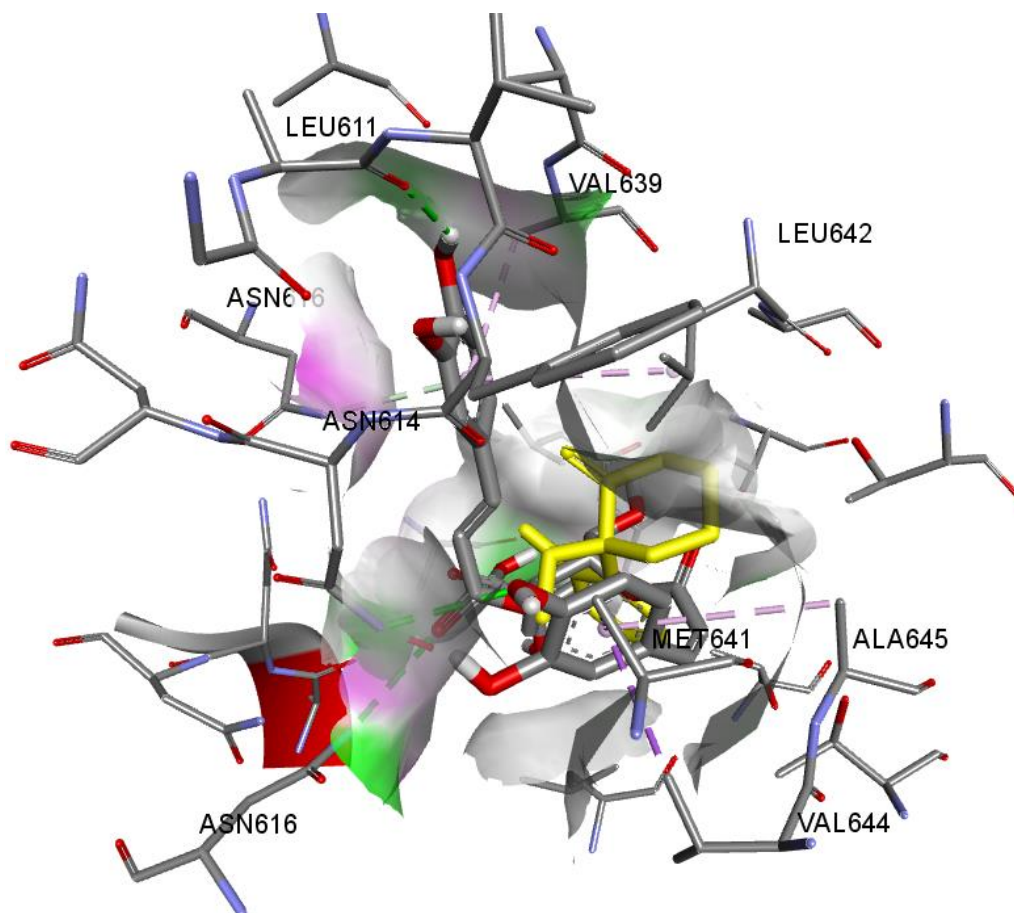


Рис. 3.6. Сумісна конформація 4,5-дикафеїлхіної кислоти та кетаміну в NMDA-рецепторі

У випадку лютеоліну спостерігається міцна гідрофобна фіксація усіх фрагментів молекули за участю ключових для прояву інгібувальної активності амінокислот валіну (Val644(2), Val639) та лейцину (Leu642), дигідроксифенільний фрагмент фіксується гідрофобною взаємодією з лейцином (Leu642) та водневими зв'язками з аспарагіном (Asn615(2)) та двома зв'язками гідроксилів з аміногрупою лейцину (Leu611(2)).

Сумісна конформація з кетаміном також демонструє досить одноманітне розміщення в порі каналу, що доводить можливість інгібування активності іонотропного рецептора.

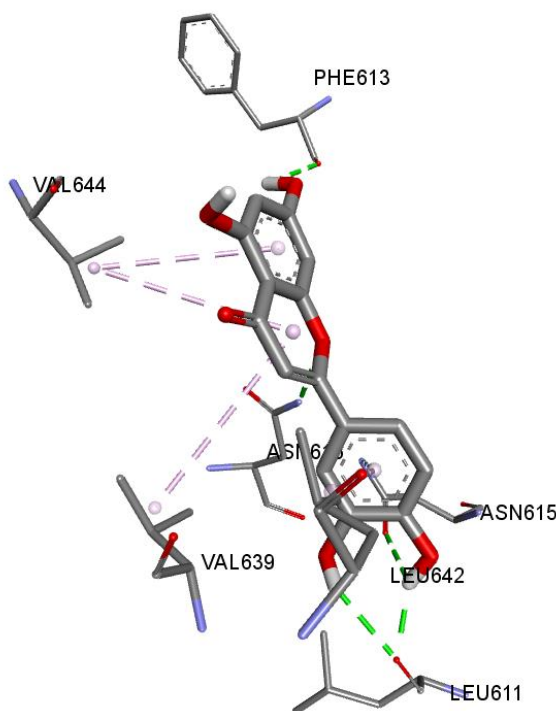


Рис. 3.7 Візуалізація взаємодії лютеоліну з амінокислотними залишками активного сайту антагоніста NMDA-рецептора

Як показано на рис. 3.8 на прикладі лютеолін-7-О-глікозиду, гідрофобна фіксація можлива лише бензопіраноновим циклом і лише взаємодією з валіном (Val644), інші фрагменти молекули утворюють лише водневі зв'язки з амінокислотами, що не є магістральними для прояву активності, що не можуть забезпечити стійкості конформації та, відповідно, інгібування рецептора.

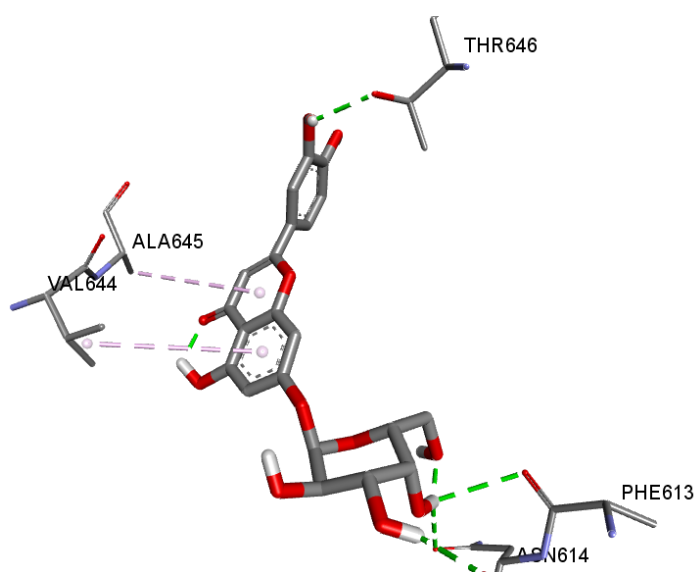


Рис 3.8 Візуалізація взаємодії лютеолін-7-О-глікозиду (б) з амінокислотними залишками активного сайту антагоніста NMDA-рецептора

РОЗДІЛ 4

IN SILICO ДОСЛІДЖЕННЯ СПОРІДНЕНOSTІ ДО ГАМК-А-РЕЦЕПТОРА БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН *РОМАШКИ ПАХУЧОЇ*

Потенціювання снодійного ефекту забезпечується комплексною взаємодією кількох типів рецепторів, що регулюють збудливість і гальмування у ЦНС. Основними мішенями для фармакологічного впливу є ГАМК-А, мелатонінові, аденозинові, орексинові та гістамінові рецептори. Оскільки препаратом порівняння у фармакологічних дослідженнях був фенobarбітал, то другою мішенню для віртуального дослідження обрано саме ГАМК_A рецептор.

3.1 Характеристика ГАМК_A рецептора

ГАМК-А-рецептор (рецептор γ -аміномасляної кислоти типу А) є ключовим іонотропним рецептором у центральній нервовій системі, що відповідає за швидке гальмування нейронів. Він відіграє важливу роль у регуляції збудливості мозку, сприяє гальмівним процесам і є основною мішенню багатьох лікарських засобів, включаючи снодійні, анксиолітичні, протисудомні та загальні анестетики [50].

ГАМК-А-рецептор – іонотропний рецептор, що є ліганд-залежним іонним каналом. Рецептор є пентамерним комплексом, який складається з п'яти субодиниць, кожна з яких має чотири трансмембранні домени (M1–M4). Основні типи субодиниць: α ($\alpha 1$ – $\alpha 6$), β ($\beta 1$ – $\beta 3$), γ ($\gamma 1$ – $\gamma 3$), інші: δ , ϵ , π , θ . Найпоширеніший підтип рецептора: $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ (рис. 4.1). Локалізація ліганд-зв'язувального сайту – місце зв'язування ГАМК знаходиться на межі між субодиницями α та β . Іонний канал пропускає іони хлору (Cl^-), що викликає гіперполяризацію мембрани нейронів і пригнічує збудливість. Активація відбувається після зв'язування з ГАМК, що викликає конформаційні зміни, відкриття іонного каналу і потік іонів хлору у клітину. Результатом є гіперполяризація мембрани, яка знижує ймовірність генерації потенціалу дії [50].

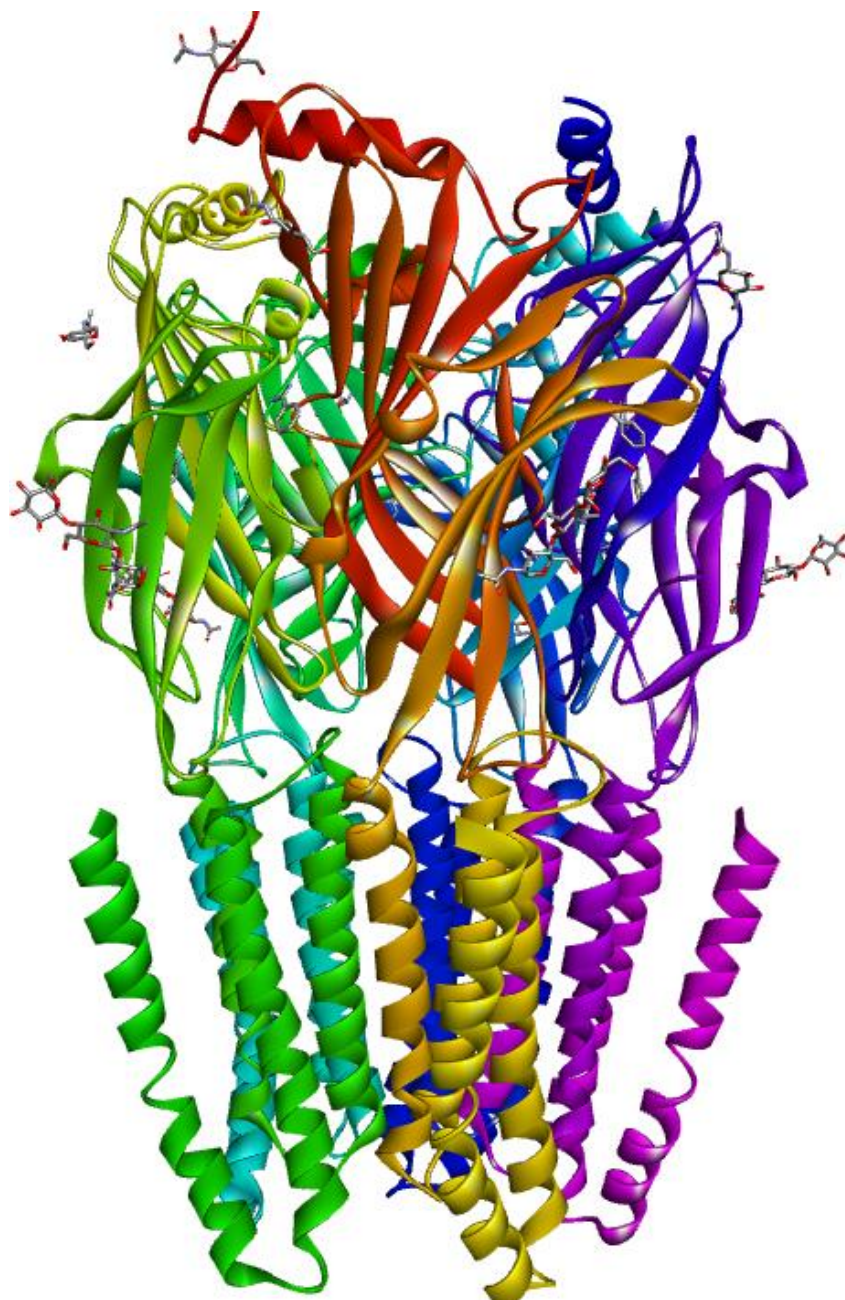


Рис. 4.1 3D візуалізація ГАМК-рецептора

Рецептор має алостеричні сайти, що дозволяють зв'язування інших речовин, які модулюють його активність (позитивні чи негативні алостеричні модулятори).

ГАМК-рецептор містить декілька алостеричні сайтів для модуляції діяльності:

1. Бензодіазепіновий сайт – місце зв'язування бензодіазепінів (діазепам, лоразепам), які є позитивними алостеричними модуляторами і підвищують чутливість рецептора до ГАМК, знаходиться між α та γ -субодиницями [51].
2. Барбітуратний сайт – барбітурати посилюють відкриття іонного каналу.
3. Сайт загальних анестетиків – ліганди, такі як пропофол або ізофлуран, зв'язуються з рецептором, посилюючи його активність.
4. Сайт нейростероїдів – ендогенні стероїди (алопрегнанолон) діють як позитивні модулятори [52].

Локалізація ГАМКА рецептора в організм це переважно центральна нервова система (висока концентрація у корі головного мозку, гіпокампі, таламусі та мозочку), периферична нервова система, присутній у спинному мозку та периферичних гангліях.

Відіграє ключову фізіологічну роль у гальмівних процесах гальмівні процеси, підтримує баланс між збудженням і гальмуванням у нейронних мережах; регуляція сну – активація ГАМК-А-рецепторів сприяє засинанню та підтриманню сну; контроль тривожності – підвищена активність рецептора знижує рівень тривожності; протисудомна дія – зменшує надмірну нейронну активність при епілепсії. Лікарські засоби, що діють на ГАМК-А-рецептори, застосовуються для лікування тривожних розладів, безсоння, епілепсії, а також як анестетики.

ГАМК-А-рецептор є ключовим компонентом у регуляції діяльності нервової системи та основною мішенню для багатьох лікарських засобів, які забезпечують гальмівний ефект у ЦНС.

4.2. Молекулярний докінг у ГАМКА-рецептор

Як білок-мішень було використано макромолекулуз Protein Data Bank [36]: рецептор ГАМКА у конформації з агоністом– фенобарбіталом (6X3W) [53].

Для оцінки ефективності використаних методологій та параметрів докінгу при відтворенні експериментальних даних конформаційного розміщення було проведено докінг нативних референс ліганду фенобарбіталу у відповідні активні сайти процедурою ре-докінгу (рис. 4.2).

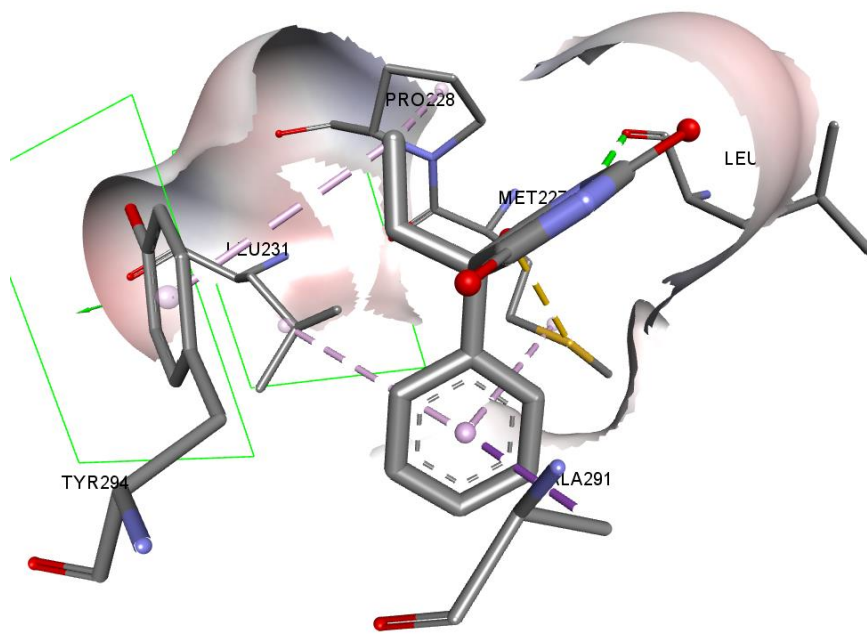


Рис. 4.2 Ре-докінг фенобарбіталу в ГАМКА-рецептор

Досягнуто відтворюваності абсолютно усіх зв'язків при фіксації в активних сайтах, які встановлені в експерименті та описані в літературі. Значення root-mean-square deviation (RMSD) між нативною та референс-конформаціями розраховано за допомогою онлайн ресурсу ProFit Results – 2.123 Å фенобарбітал, що підтверджує відтворюваність експериментальних даних та валідність методики.

Ступінь афінності до активного сайту біомішені оцінювали шляхом порівняння з референс-лігандом за показником афінності. Додатково аналізували просторове розташування ліганду та характер його взаємодії з амінокислотними залишками активного сайту (табл. 3.1).

Вірогідність агоністичного впливу на ГАМКА рецептор через активний сайт барбітуратів є малоюмовірною: енергія зв'язування усіх досліджуваних лігандів була вищою, ніж у референс-ліганда фенобарбітала (-7.6 ккал/моль); аналіз амінокислотних взаємодій продемонстрував відсутність гідрофобних

зв'язків з фіксацією усіх фрагментів молекули з амінокислотами активного сайту – Ala291, Pro228, Leu231, Tyr294 [53]. Помірну вірогідність впливу демонструють кафеїлхінні кислоти (табл 3.1).

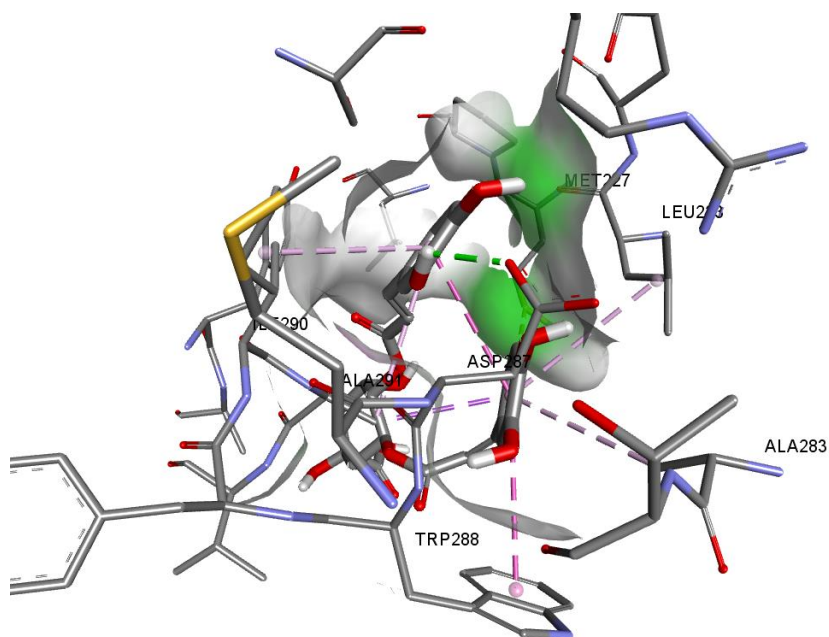


Рис. 4.3 Взаємодія 3,4-дикафеїлхінної кислоти з амінокислотними залишками ГАМКА-рецептора

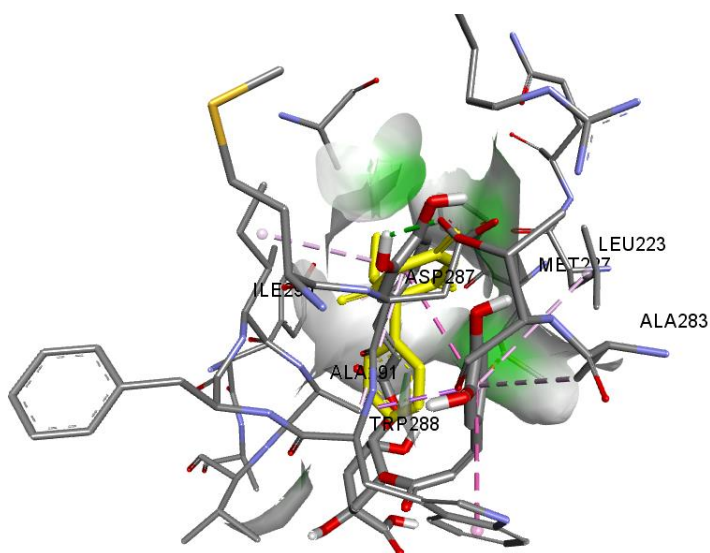


Рис. 4.4 Сумісна конформація 4,5-дикафеїлхінної кислоти та фенобарбіталу в ГАМКА-рецепторі

ВИСНОВКИ

1. Проведено літературний огляд наукових даних щодо вмісту біологічно активних речовин у різних частинах *Matricaria discoidea*, напрямках застосування у медицині; охарактеризовано клас природних флавоноїдів, їх біологічна та фармакологічна роль.
2. Описано основні класи фенольних сполук та флавоноїдів, а також БАР ефірної олії та екстрактах *Matricaria discoidea*, які були виявлені науковцями НФаУ в експерименті в найбільшій концентрації, наведено результати фармакологічних досліджень.
3. Обґрунтовано доцільність використання та описано структуру головних таргетів для *in silico* досліджень БАР *Matricaria discoidea* для визначення молекулярних механізмів фармакорлогічної дії.
4. Процедурою ре-докінгу референс-лігандів кетаміну у сайт інгібітора NMDA-рецептора та позитивного алостеричного модулятора фенобарбіталу у ГАМКА-рецептора валідовано методики молекулярного докінгу, розраховано значення TRSD.
5. За результатами розрахунку афінності та аналізу конформаційного розміщення в активних сайтах відносно нативного кетаміну визначено здатність БАР *Matricaria discoidea* до антагонізму рецепторів NMDA.
6. Визначено, що вірогідність фіксації у порі каналу NMDA-рецептора шляхом взаємодії з валіном (Val644) та лейцином (Leu642) мають дикафеойлхінові кислоти, лютеолін та хлорогенові кислоти.
7. Доведено нездатність БАР *Matricaria discoidea* моделювати активність ГАМКА-рецептора через сайт позитивного алостеричного модулятора фенобарбіталу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Arak E., Raal A., Tammeorg J. Aerial Parts of *Matricaria Matricarioides*: A Substitute for *Matricaria Recutita* Flowers. *Farmatsiya*. 1986. Vol. 35. P. 19–22.
2. Use of genotyping-by-sequencing to determine the genetic structure in the medicinal plant chamomile, and to identify flowering time and alpha-bisabolol associated SNP-loci by genome-wide association mapping. L. G. Otto et al. *BMC Genomics*. 2017. Vol. 18, № 1. P. 599.
3. Cantrell C. L., Ali A., Jones A. M. P. Isolation and Identification of Mosquito Biting Deterrents from the North American Mosquito Repelling Folk Remedy Plant, *Matricaria discoidea* DC. *PLoS One*. 2018. Vol. 13, № 10. P. e0206594.
4. Composition of Essential Oil of Aerial Parts of *Chamomilla Suaveolens* from Estonia / A. Orav et al. *Natural Product Communications*. 2010. Vol. 5. P. 133–136.
5. Content of Phenolic Compounds in Aerial Parts of *Chamomilla Suaveolens* from Estonia / A. Raal et al. *Natural Product Communications*. 2011. Vol. 6. P. 1107–1110.
6. Content of Essential Oil, Terpenoids, and Polyphenols in Commercial Chamomile (*Chamomilla Recutita* L. Rauschert) Teas from Different Countries / A. Raal et al. *Food Chemistry*. 2012. Vol. 131. P. 632–638.
7. Sõukand R., Kalle R. The Appeal of Ethnobotanical Folklore Records: Medicinal Plant Use in Setomaa, Rääpina and Vastseliina Parishes, Estonia (1888–1996). *Plants (Basel)*. 2022. Vol. 11, № 20. P. 2698.
8. Martin N., Madrid-López C., Villalba-Méndez G., Talens-Peiró L. New Techniques for Assessing Critical Raw Material Aspects in Energy and Other Technologies. *Environmental Science & Technology*. 2022. Vol. 56. P. 17236–17245.

9. Shanaida M., Hudz N., Jasicka-Misiak I., Wieczorek P. P. Polyphenols and Pharmacological Screening of a *Monarda Fistulosa* L. Dry Extract Based on a Hydrodistilled Residue By-Product. *Frontiers in Pharmacology*. 2021. Vol. 12. P. 563436.
10. Kumar S., Pandey A. K. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *Scientific World Journal*. 2013. Vol. 2013. P. 162750.
11. Diverse Physiological Roles of Flavonoids in Plant Environmental Stress Responses and Tolerance / A. Shomali et al. *Plants*. 2022. Vol. 11. P. 3158.
12. Veitch N. C., Grayer R. J. Flavonoids and Their Glycosides, Including Anthocyanins. *Natural Product Reports*. 2011. Vol. 28. P. 1626–1695.
13. Veitch N. C., Grayer R. J. Flavonoids and Their Glycosides, Including Anthocyanins. *Natural Product Reports*. 2008. Vol. 25. P. 555–611.
14. Flavonoids and Other Phenolic Compounds for Physiological Roles, Plant Species Delimitation, and Medical Benefits: A Promising View. / S. Kuljarusnont et al. *Molecules*. 2024. Vol. 29, № 22. P. 5351. DOI: 10.3390/molecules29225351.
15. Biological Synthesis of Silver Nanoparticles by *Amaryllis vittata* (L.) Herit: From Antimicrobial to Biomedical Applications / S. Asad et al. *Materials*. 2022. Vol. 15. P. 5478.
16. Enzymatically Modified Isoquercitrin Improves Endothelial Function in Volunteers at Risk of Cardiovascular Disease / N. P. Bondonno et al. *British Journal of Nutrition*. 2020. Vol. 123. P. 182–189.
17. The Impact of Silymarin on Antioxidant and Oxidative Status in Patients with β -Thalassemia Major: A Crossover, Randomized Controlled Trial / Darvishi-H. Khezri et al. *Complementary Therapies in Medicine*. 2017. Vol. 35. P. 25–32.
18. Effect of Dietary Phenolic Compounds on Incidence of Cardiovascular Disease in the SUN Project; 10 Years of Follow-Up / Z. Vázquez-Ruiz et al. *Antioxidants*. 2022. Vol. 11. P. 783.

19. Tungmunnithum D., Drouet S., Lorenzo J. M., Hano C. Characterization of Bioactive Phenolics and Antioxidant Capacity of Edible Bean Extracts of 50 Fabaceae Populations Grown in Thailand. *Foods*. 2021. Vol. 10. P. 3118.
20. Dihydromyricetin Attenuates Diabetic Cardiomyopathy by Inhibiting Oxidative Stress, Inflammation and Necroptosis via Sirtuin 3 Activation / Y. Chen et al. *Antioxidants*. 2023. Vol. 12. P. 200.
21. Assessment of the Chemical Profile and Potential Medical Effects of a Flavonoid-Rich Extract of *Eclipta prostrata* L. Collected in the Central Highlands of Vietnam / T. K. P. Phan et al. *Pharmaceuticals*. 2023. Vol. 16. P. 1476.
22. Antimicrobial Activity of Green Silver Nanoparticles Synthesized by Different Extracts from the Leaves of Saudi Palm Tree (*Phoenix dactylifera* L.) / J. F. Al-Mutairi et al. *Molecules*. 2022. Vol. 27. P. 3113.
23. Watanabe K., Hiramane H., Toyama T., Hamada N. Effects of French Pine Bark Extract Chewing Gum on Oral Malodor and Salivary Bacteria. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 2018. Vol. 64. P. 185–191.
24. Short-Term Supplementation with Flavanol-Rich Cocoa Improves Lipid Profile, Antioxidant Status and Positively Influences the AA/EPA Ratio in Healthy Subjects / S. Davinelli et al. *Nutr. Biochem.* 2018. Vol. 61. P. 33–39.
25. Effects of Flavanol-Rich Dark Chocolate on Visual Function and Retinal Perfusion Measured With Optical Coherence Tomography Angiography / J. Siedlecki et al. *JAMA Ophthalmol.* 2019. Vol. 137. P. 1373.
26. LC-MS and Spectrophotometric Approaches for Evaluation of Bioactive Compounds from Peru Cocoa By-Products for Commercial Applications / M. Cádiz-Gurrea et al. *Molecules*. 2020. Vol. 25. P. 3177.
27. *European Pharmacopoeia*. 11th ed. Strasbourg, France : Council of Europe, 2022. 1032 p.
28. Phytochemical, Pharmacological, and Molecular Docking Study of Dry Extracts of *Matricaria discoidea* DC with Analgesic and Soporific Activities / *Biomolecules*. 2024. Vol. 14, № 3. P. 361.

29. Phytochemical, Technological, and Pharmacological Study on the Galenic Dry Extracts Prepared from German Chamomile (*Matricaria Chamomilla* L.) Flowers. / J. Sepp et al. *Plants*. 2024. Vol. 13. P. 350.
30. Stefanov O.V. *Preclinical Studies of Drugs*. Kyiv : Avicenna, 2001. 132 p.
31. Masocha W., Kombian S. B., Edafiogho I. O. Evaluation of the Antinociceptive Activities of Enaminone Compounds on the Formalin and Hot Plate Tests in Mice. *Scientific Reports*. 2016. Vol. 6. P. 21582.
32. Inaltekin A., Kivrak Y. Evaluation of the Effect of Vortioxetine on Pain Threshold by Hot-Plate Test in Mice. *Archives of Neuropsychiatry*. 2021. Vol. 58. P. 274–277.
33. In Vivo Sedative Activity of Methanolic Extract of *Sterculia Villosa* Roxb. Leaves / M. F. Hossain et al. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2016. Vol. 16. P. 398.
34. Forouzanfar F., Ghorbani A., Hosseini M., Rakhshandeh H. Hydroalcoholic Extract of Needles of *Pinus Eldarica* Enhances Pentobarbital-Induced Sleep: Possible Involvement of GABAergic System. *Avicenna Journal of Phytomedicine*. 2016. Vol. 6. P. 449–457.
35. Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite / S. Forli et al. *Nature protocols*. 2016. Vol. 11, №5. P. 905–919.
36. <https://www.rcsb.org/> (доступ 10.10.2024)
37. Gupta R. *Chamomile: A Herbal Medicine of the Past with a Bright Future* (Review). *Molecular Medicine Reports*. 2010. Vol. 3. P. 250.
38. Herbal Medicine for Depression, Anxiety, and Insomnia: A Review of Psychopharmacology and Clinical Evidence / J. Sarris et al. *European Neuropsychopharmacology*. 2011. Vol. 21. P. 841–860.
39. Herbal Medicine for Depression, Anxiety and Insomnia: A Review of Psychopharmacology and Clinical Evidence / J. Sarris et al. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2011. Vol. 21. P. 841–860.

40. *Matricaria Chamomilla* CH 12 Decreases Handling Stress in Nelore Calves / Reis L.S.L.D.S. et al. *Journal of Veterinary Science*. 2006. Vol. 7. P. 189.
41. Hypnotic Activities of Chamomile and Passiflora Extracts in Sleep-Disturbed Rats / K. Shinomiya et al. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 2005. Vol. 28. P. 808–810.
42. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of oral *Matricaria recutita* (chamomile) extract therapy for generalized anxiety disorder / J. D. Amsterdam et al. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 2009. Vol. 29. P. 378–382.
43. Increased brain monoaminergic tone after the NMDA receptor GluN2A subunit gene knockout is responsible for resistance to the hypnotic effect of nitrous oxide / A. B. Petrenko et al. *European Journal of Pharmacology*. 2013. Vol. 698, №1-3. P. 200-5.
44. Petrenko A.B., Yamakura T., Sakimura K., Baba H. Defining the role of NMDA receptors in anesthesia: are we there yet? *European Journal of Pharmacology*. 2014. Vol. 723. P. 29-37.
45. Structure, function, and pharmacology of NMDA receptor channels / V. Vyklicky et al. *Physiological Research*. 2014. Vol. 63. P. S191-203.
46. Structure, function, and allosteric modulation of NMDA receptors / K. B. Hansen et al. *The Journal of general physiology*. 2018 Aug 6;150(8):1081-1105.
47. Mechanism of NMDA receptor channel block by MK-801 and memantine / X. Song et al. *Nature*. 2018. Vol. 556(7702). P. 515-519.
48. Jelen L. A., Young A. H., Stone J. M. Ketamine: a tale of two enantiomers. *Journal of Psychopharmacology*. 2021. Vol. 35. P.109–123.
49. Structural Basis of Ketamine Action on Human NMDA Receptors / Y. Zhang et al. *Nature*. 2021. Vol. 596. P. 301–305.
50. Miller P.S., Aricescu A.R. Crystal structure of a human GABAA receptor. *Nature*. 2014. Vol. 512, № 7514. P. 270-275.

51. GABA_A receptor signalling mechanisms revealed by structural pharmacology
/ S. Masiulis et al. *Nature*. 2019. Vol. 565, № 7740. P. 454-459.
52. Shared Structural Mechanisms of General Anaesthetics and Benzodiazepines
/ J. J. Kim et al. *Nature*. 2020. Vol. 585. P. 303–308.

ДОДАТКИ

**PREDICTION OF ANTAGONISM TO NMDA RECEPTORS
BY BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF *MATRICARIA DISCOIDEA* DC.**

Gergalo A. V.

Scientific supervisor: Severina H. I.
National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine
nastyagergalo029@gmail.com

Introduction. *Matricaria discoidea* DC. is widely spread in Europe and North America, but it is not cultivable. *M. discoidea* has an ethnomedical background dating back to the 19th century, with the plant having been mainly used in the form of tea or a tincture for its anti-inflammatory and spasmolytic properties. According to the literature, in general, of 44 compounds (essential oils) were found in *M. discoidea*. Biologically, the most relevant compounds were (Z)-enyn-dicycloether, (E)- β farnesene, geranyl isovalerate, palmitic acid, and myrcene. Prof. Koshovyi also found a total of 16 phenolic compounds were identified in the herb dry extracts, and nine terpenoids were identified in the *M. discoidea* essential oil. Traditionally, chamomile is used as a sleep-inducer and mild tranquilizer. According to the literature, the sedative effect observed here could be related to apigenin, which binds to GABA and benzodiazepine receptors in the brain. According to the literature, the sedative effect observed here could be related to apigenin, which binds to GABA and benzodiazepine receptors in the brain. The authors suggested that chamomile extracts may have anxiolytic effects in persons with mild to moderate generalized anxiety disorder. Scientists at the National University of Pharmacy have proven that dry extracts of *M. discoidea* in animal experiments showed non-toxicity, analgesic and hypnotic activity.

Aim. The aim of the study was to determine the affinity of the corresponding biologically active substances to the active centers of the central nervous system biotargets responsible for the hypnotic activity of plants.

Materials and methods. BIOVIADraw 2021, AutoDockTools-1.5.6., AutoDock Vina, Discovery Studio Visualizer 2021 programs were used for experiments.

Research results. Macromolecule from the Protein Data Bank was used as target protein: ionotropic NMDA glutamate receptors in conformation with a non-competitive direct-acting antagonist, ketamine (PDB ID 7EU7). Affinity prediction was performed for 17 biologically active substances of *M. discoidea*. For most of the ligands studied here, the calculated values for the scoring functions for binding to the active site of the NMDA receptor were lower than that for the reference ligand ketamine (excluding vanillic acid, caffeic acid, and 3,4-dihydroxyphenylacetic acid). The inhibition of the NMDA receptor by ketamine occurs by fixing it in the channel pore through the participation of three hydrophobic bonds with Val644 and Leu642. Therefore, the amino acid interactions of the ligands were investigated, and the results showed that only dicaffeoylquinic acids and luteolin have the ability to bind the channel pore through interactions with Val644 and Leu642 (Figure). As shown in Figure 1, a hydrophobic fixation is possible only through a benzopyranone ring interaction with Val644 (for example, in luteolin-7-O-glucoside). The other fragments of the molecule only formed hydrogen bonds with amino acids that are not essential for the manifestation of activity, and this does not ensure conformational stability and inhibition of the receptor.

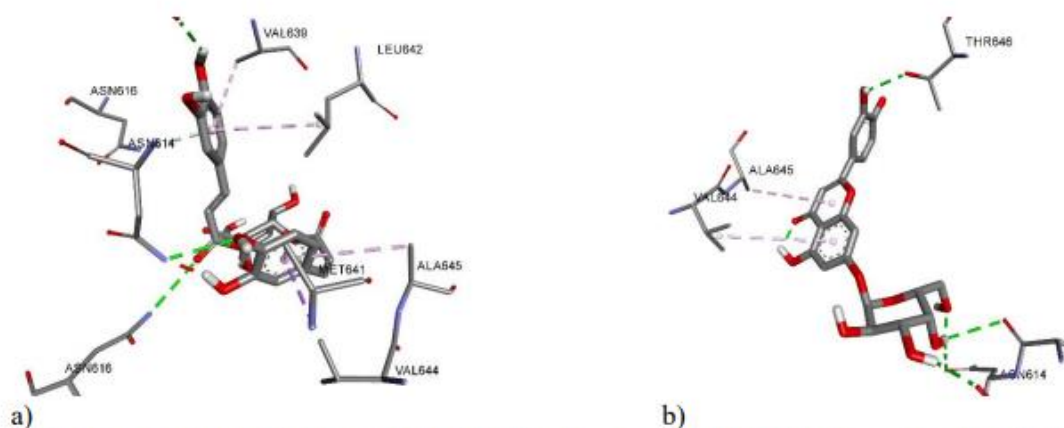


Fig. Visualization of the interaction of 4,5-dicaffeoylquinic acid (a) and luteolin-7-O-glucoside (b) with amino acid residues in the active site of the NMDA receptor

Conclusion. The results of the molecular docking analyses of the identified BASs of *M. discoidea* demonstrated a high probability of NMDA receptor antagonism.



Міністерство
охорони здоров'я
України

Національний
фармацевтичний
університет



СЕРТИФІКАТ

Цим засвідчується, що

Gergalo A. V.

Науковий керівник:
Severina H. I.

брав(ла) участь у роботі IV Всеукраїнської
науково-практичної конференції
з міжнародною участю

**YOUTH
PHARMACY
SCIENCE**

Ректор НФаУ,
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

10-11 грудня 2024 р.
м. Харків,
Україна