

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

**факультет фармацевтичний
кафедра фармацевтичної хімії**

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: IN SILICO ОЦІНКА ТОКСИЧНОСТІ ТА
ФАРМАКОКІНЕТИЧНОГО ПРОФІЛЮ ПЕРСПЕКТИВНИХ СПОЛУК
НООТРОПНОЇ ДІЇ**

Виконала: здобувачка вищої освіти

групи 226 Фм19(5,5з)-016

спеціальності 226 Фармація, промислова фармація

освітньої програми Фармація

Анна БЕРЕНДЯЄВА

Керівник: професор закладу вищої освіти

кафедри фармацевтичної хімії НФаУ,

д.фарм.н., професор Ліна ПЕРЕХОДА

Рецензент: професор закладу вищої освіти кафедри

клінічної фармакології ІПКСФ НФаУ,

д.фарм.н., професор Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ

АНОТАЦІЯ

З метою пошуку нових біологічно активних речовин ноотропної дії в НФаУ синтезовані нові аналоги рацетамів - гетериламіди 2-(3-(1-бензил-5-оксопірролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти. Метою роботи було доекспериментальне дослідження лікоподібності, ADMET властивостей, фармакокінетичного потенціалу, метаболічних перетворень та токсичності нових сполук, що дасть можливість обґрунтувати доцільність або недоцільність вивчення їх ноотропної активності *in vivo*.

Робота викладена на 41 сторінці, вона включає 3 розділи, висновки, додатки, 5 таблиць, 5 рисунків, 31 джерело літератури.

Ключові слова: рацетами, ноотропна активність, лікоподібність, ADMET властивості, фармакокінетичний потенціал токсичність.

ANNOTATION

In order to search for new biologically active substances with nootropic action, new analogues of racetams - heterylamides of 2-(3-(1-benzyl-5-oxopyrrolidin-3-yl)-5-sulfanyl-1,5-dihydro-4H-1,2,4-triazol-4-yl)acetic acid - were synthesised in NUPh. The aim of the work was to conduct a preliminary study of the drug-like properties, ADMET parameters, pharmacokinetic potential, metabolic transformations and toxicity of the new compounds, which will allow to justify the feasibility or inexpediency of studying their nootropic activity *in vivo*.

The work consists of an introduction, 3 chapters, general conclusions, a list of references, supplements. It is set out on 41 pages, includes 5 tables, 5 pictures, 31 references.

Key words: racetams, nootropic activity, drug-like properties, ADMET parameters, pharmacokinetic potential, toxicity.

ЗМІСТ

	Стр.
ВСТУП	5
Розділ 1. ВИКОРИСТАННЯ ДОСЯГНЕНЬ ХЕМОІНФОРМАТИКИ ДЛЯ ПРОГНОЗУВАННЯ ФАРМАКОКІНЕТИЧНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ТА ТОКСИЧНОСТІ НОВИХ СПОЛУК (Огляд літератури).	8
Висновки до розділу 1	14
Розділ 2. ОЦІНКА ЛІКОПОДІБНОСТІ ТА ФАРМАКО- КІНЕТИЧНОГО ПОТЕНЦІАЛУ НОВИХ СПОЛУК	16
2.1. Вибір об'єктів дослідження	18
2.2. Тестування сполук на «лікоподібність»	24
2.3. Прогнозування ADME властивостей, метаболічних перетворень та фармакокінетичного потенціалу нових сполук	27
Експериментальна частина	34
Висновки до розділу 2	34
Розділ 3. ПРОГНОЗУВАННЯ ТОКСИЧНОСТІ НОВИХ СПОЛУК	35
Експериментальна частина	38
Висновки до розділу 3.	39
ВИСНОВКИ	40
ПЕРЕЛІК ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ	41
ДОДАТКИ	45

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР	Біологічно активні речовини
ADMET	Всмоктування, розподіл, метаболізм, виведення та токсичність
АФІ	Активний фармацевтичний інгредієнт
ВООЗ	Всесвітня Організація Охорони здоров'я
ГАМК	Гамма-аміномасляна кислота
ЛСП	Логіко-структурний підхід
ГЕБ	Гематоенцефалічний бар'єр
ШКТ	Шлунково-кишковий тракт
PSA	Площа молекулярної поверхні
HBD	Кількість донорів водневих зв'язків
HBA	Кількість акцепторів водневих зв'язків
QSPR	англ. Quantitative Structure-Property Relationship/ Кількісний взаємозв'язок «структура-властивість»
QSAR	англ. Quantitative Structure-Activity Relationship/ Кількісний взаємозв'язок «структура-активність»

ВСТУП

Актуальність теми. Однією з задач фармацевтичної галузі України є пошук нових біологічно активних речовин, на основі яких можуть бути створені лікарські засоби ноотропної дії. Розширення асортименту ноотропних препаратів в Україні є актуальним, враховуючи що вони додатково мають нейропротекторну дію і це є підставою для застосування їх в комплексному лікуванні контузій і черепно-мозкових травм після поранень у військових. В медицині широко застосовуються ноотропні препарати групи рацетамів, в основі хімічної структури яких лежить базовий скафолд – ядро піролідину, що є перспективною матрицею для раціонального дизайну на його основі біологічно активних сполук ноотропної дії. Доцільність пошуку ефективних ноотропів в цьому класі сполук пояснюється відсутністю несприятливих седативних, транквілізуючих, снодійних ефектів на відміну від інших класів психоактивних лікарських засобів.

Коло рацетамів постійно розширюється шляхом модифікації базової структури введенням нових замісників та на її основі створюються нові сполуки ноотропної дії з заданими властивостями.

Використання сучасних підходів *in silico* сприяє суттєвій оптимізації шляхів до успішного пошуку нових ноотропів, що є особливо цінним виходячи з актуальності та соціальної значущості поставлених цілей. *In silico* підходи можуть допомогти зменшити кількість лабораторних тварин в експериментальних дослідках та звести до мінімуму ризику, пов'язані з поганим фармакокінетичним профілем та можливою токсичністю, мутагенністю або канцерогенністю нових сполук.

Мета дослідження. Доекспериментальне дослідження фармакокінетичного потенціалу та токсичності потенційних ноотропів – гетериламідів 2-(3-(1-бензил-5-оксопірролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4H-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти. *In silico* прогнозування лікоподібності, ADMET властивостей, фармакокінетичного потенціалу, метаболічних

перетворень та токсичності нових сполук дасть можливість обґрунтувати доцільність або недоцільність вивчення їх ноотропної активності *in vivo*.

Завдання дослідження:

- Проаналізувати дані літературних джерел щодо можливостей сучасних комп'ютерних програм та обрати метод прогнозування лікоподібності, фармакокінетичних параметрів, метаболічних перетворень та токсичності нових сполук;
- Провести *in silico* прогнозування лікоподібності гетериламідів 2-(3-(1-бензил-5-оксопірролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти шляхом тестування на відповідність Правилам Ліпінського, Гоше, Егана, Вебера, Мюгге;
- Провести *in silico* прогнозування ADMET властивостей та оцінити фармакокінетичний потенціал гетериламідів 2-(3-(1-бензил-5-оксопірролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти;
- Провести прогнозування токсичності, мутагенності, канцеро-генності та метаболічних перетворень досліджуваних сполук;
- На основі отриманих результатів прогнозу, рекомендувати або не рекомендувати нові синтезовані гетериаміди 2-(3-(1-бензил-5-оксопірролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти для проведення випробувань на наявність ноотропної активності в дослідках *in vivo*.

Об'єкт дослідження. Гетериламіди 2-(3-(1-бензил-5-оксопірролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти.

Предмет дослідження. *Online* прогноз лікоподібності, фармакокінетичних параметрів, метаболічних перетворень та токсичності нових сполук.

Методи дослідження. Математичні розрахунки, логіко-структурний аналіз.

Практичне значення отриманих результатів. Доведено, що досліджувані гетериламіди 2-(3-(1-бензил-5-оксопірролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти є перспективними для експериментального дослідження на ноотропну активність.

Апробація результатів дослідження і публікації.

Результати конференції висвітлені в тезах:

Використання стратегії *in silico* дизайну для пошуку нових біологічно активних речовин/ Сулейман Р.М., Берендяєва А. С., Віслоус О.О., Перехода Л.О.// Матеріали XI Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології» (27 листопада 2024 р., м. Харків). – Х.: Вид-во НФаУ, 2024.– с. 9

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи. Кваліфікаційна робота включає вступну частину, огляд даних наукової та патентної літератури, два експериментальних розділи, загальні висновки, перелік використаних літературних джерел, додатки. Робота викладена на 41 сторінці, включає 5 таблиць, 5 рисунків, 31 джерело літератури.

РОЗДІЛ І
ВИКОРИСТАННЯ ДОСЯГНЕНЬ ХЕМОІНФОРМАТИКИ ДЛЯ
ПРОГНОЗУВАННЯ ФАРМАКОКІНЕТИЧНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ТА
ТОКСИЧНОСТІ НОВИХ СПОЛУК
(Огляд літератури).

Впродовж останніх десятиріч, вчені усвідомили, що величезний обсяг хімічної інформації, накопичений в ході досліджень, може бути оброблений і проаналізований тільки з використанням нових підходів, що засновані на застосуванні комп'ютерних технологій та методів інформатики. Виникла нагальна потреба створення нової галузі на перетині хімії, біології, фармакології, математики та інформатики і, приблизно 40 років тому, в світі виник новий мультидисциплінарний напрямок сучасної хімічної науки – хемоінформатика. Хемоінформатика має на меті застосування комп'ютерних технологій та методів інформатики для вирішення проблем хімії, а саме: для віртуального конструювання та створення нових реагентів та каталізаторів для хімічної промисловості з комплексом необхідних властивостей, аналізу спектральної інформації з метою планування органічного синтезу, розроблення підходів до зберігання, вилучення та оброблення хімічної інформації, передбачення та прогнозування напрямків перебігу хімічних реакцій [1]. Основною метою хемоінформатики стало узагальнення всієї існуючої хімічної інформації, зберігання та організація доступу до неї, побудова на її основі баз даних хімічних сполук та реакцій, а також їх використання для створення сполук та матеріалів із заданими властивостями.

Враховуючи, що експериментальне тестування на лабораторних тваринах взаємодії мільйонів вже існуючих хімічних сполук з тисячами молекулярних мішеней неможливо як з економічної, так і з практичної точки зору, одним із векторів застосування хемоінформатики стала фармація. Наразі широко застосовують комп'ютерні *in silico* методи дизайну ліків.

Методи комп'ютерних технологій та інформатики в фармації використовують для пошуку нових лікарських препаратів шляхом прогнозування фізичних, хімічних, біологічних та фармакологічних властивостей нових, ще не синтезованих сполук. Поява хемоінформатики в фармації це прорив у майбутнє – від емпіричної хімії до передбачення.

Наразі успіх у створенні нових ліків, залежить від взаємодії хіміків-синтетиків, хемоінформатиків, біологів та фармакологів. При пошуку нових біологічно активних речовин виникає необхідність попереднього відбору молекул, з найбільшою ймовірністю взаємодіючих з цільовими молекулярними мішенями. В хемоінформатиці прогнозування властивостей нових сполук здійснюється шляхом інтерполяції відомих значень властивостей від сполук, що подібні за будовою. Хемоінформатика керується основним положенням структурної теорії хімії, згідно якого, основні фізико-хімічні властивості сполуки визначає хімічна структура, а речовини подібної молекулярної будови поведуть себе однаково в однакових умовах. Отримані з використанням хемоінформатики результати дозволяють, прогнозувати властивості та активність нових хімічних сполук на основі їх структурної формули.

Для теорії і практики цілеспрямованого пошуку нових лікарських засобів важливим є встановлення взаємозв'язків «структура-активність» (SAR-аналіз, англ. Structure-Activity Relationship).

Однією з методологічних розробок хемоінформатики в дослідженні зв'язку «структура – активність», «структура – властивості» є симплексне представлення структури молекули у вигляді дескрипторів [2]. Дескриптор – це будь-яке число (математичний параметр), яке можна розрахувати зі структурної формули (молекулярна маса, число певних атомів, зв'язків або груп, молекулярний об'єм, часткові заряди на атомах та ін). Важливою особливістю цього підходу є те, що дескриптори можна охарактеризувати і фізико-хімічним описом (атомні заряди, донори або акцептори водневого зв'язку, вандерваальсові зв'язки, ліпофільність, поляризованість, площа

полярної поверхні), а також описом різних полів, джерелом яких є атоми [3].

Як дескриптори використовуються різні характеристики молекули, а саме:

- квантові параметри - енергії вищої зайнятої орбіталі (HOMO) і нижчої незайнятої орбіталі (LUMO), заряди на різних атомах, електронна густина, поляризуємість;
- параметри, що відносяться до всієї молекули – площа полярної поверхні, молярна рефракція, коефіцієнт розподілу октанол-вода;
- електронні ефекти (мають вплив на іонізацію або поляризуємість);
- стеричні особливості структури (важливі при оцінюванні міцності зв'язків між сполукою та біомішенню);
- топологічні параметри – підструктурні дескриптори, індекси атомів і молекулярних зв'язків, капша-індекси (описують форму молекули).

Враховуючи дескрипторний підхід в структурі кожної досліджуваної молекули можна виділити фрагменти, які стало позитивно/негативно впливають на активність молекули, що наразі широко використовується в дизайні нових більш активних молекул. Для проведення SAR-аналізу використовують дані експериментальних досліджень з вивчення фармакологічної активності, які дають змогу зіпівставити величину біологічного ефекту з наявністю/відсутністю в структурі молекули певних дескрипторів та виявити вплив кожного з них на біологічну активність. У разі, якщо такий вплив має місце, то доцільним є також встановлення його кількісних характеристик, тобто кількісних співвідношень між активністю і структурою речовини – QSAR-аналіз.

QSAR-аналіз (англ. Quantitative Structure-Activity Relationship) полягає в ідентифікації та кількісному вираженні структурних параметрів або фізико-хімічних властивостей молекул з метою виявлення факту впливу кожного із них на біологічну активність. Методологія QSAR-аналізу сформувалася такими вченими, як Корвін Ганч, Т. Фуджіта, Ч. Овертон, С. Фрі, Г. Мейер та Вільсон ще в середині 1960-х років.

Представлення молекулярної структури у вигляді дескрипторів забезпечує універсальність та гнучкість опису хімічних сполук різних типів; створення зрозумілих QSAR моделей, які дозволяють моделювати молекули з характеристиками бажаними для дослідника [3].

В залежності від рівня деталізації, на якому представляється структура молекули, дескриптори класифікують від 0D до 3D. Наприклад, 0D дескриптори - молекулярна маса, кількість атомів карбону в молекулі; 1D - кількість в структурі молекули гідроксильних груп, 2D - індекс Вінера, власні величини матриць суміжності, 3D – квантово-хімічні дескриптори (енергія вищої зайнятої молекулярної орбіталі та нижчої незайнятої орбіталі). QSAR моделювання з використанням 3D-дескрипторів називають 3D - QSAR.

При наявності набору дескрипторів та даних біологічної активності можливе складання рівняння, яке дозволить встановити зв'язки між незалежними змінними (дескрипторами) та показником біологічної активності, відомим як залежна змінна.

Модель QSAR – це математичне лінійне регресійне рівняння, яке може описати біологічну активність. Його можна вважати альтернативним поетапним шляхом до розрахунку молекулярних властивостей в тих випадках, коли експериментальні дослідження неможливі або економічно чи етично невиправдані.

Модель QSAR:

$$\text{Біологічна активність} = \text{Const} + (C_1 \bullet P_1) + (C_2 \bullet P_2) + (C_3 \bullet P_3) + \dots$$

де параметри P_1 - P_x обчислюються для кожної молекули в серії і коефіцієнти C_1 - C_x розраховуються шляхом підгонки варіацій параметрів і біологічної активності.

Використання QSAR моделей дозволяє заздалегідь прорахувати активність ще не синтезованих сполук за структурною формулою та модифікувати дію вже існуючих речовин шляхом введення замісників, які можуть покращити активність. Це дає можливість користуючись програмами комп'ютерного моделювання відбирати сполуки для подальшого синтезу без

проведення скринінгу на лабораторних тваринах, та надає можливість *in vitro* вивчати вплив різних факторів на біологічну активність.

Модель QSAR можна застосовувати для прогнозування будь якого типу біологічної активності та фізичних властивостей при наявності молекулярних структур та розрахованих дескрипторів.

Наразі розвиток статистики зумовив появу нових методів структурування прогностичних моделей, зокрема, з'явилися нелінійні регресійні та алгоритмічні технології. Моделі QSAR можуть прогнозувати фармакологічну активність, канцерогенність, мутагенність, токсичність.

Додатково аналізуючи дескриптори молекул навчальної вибірки, можна оцінити відносний вплив різних фізико-хімічних чинників, що визначають певну властивість. Як приклад можна навести прогнозування водної розчинності органічних сполук за різних температур.

Використання бази даних, яка містить різноманітні відомості про органічні сполуки, дозволило вченим побудувати високоякісну QSPR-модель (англ. Quantitative Structure-Property Relationship). Її використання дозволяє оцінити для конкретної сполуки показники розчинності у воді за певної температури. Інтерпретація даних цієї моделі показала, що наявність у молекулах органічних сполук груп, які потенційно можуть утворювати водневий зв'язок, сприяє покращенню розчинності.

Прояв певною речовиною бажаної біологічної активності не гарантує в подальшому використання її як лікарського засобу [4]. Наразі дуже незначна частка сполук, які виявили біологічну активність, доходить до фармацевтичного ринку. Відбракування решти речовин зазвичай відбувається лише на останній завершальній стадії клінічних випробувань. На цю ситуацію можна вплинути, якщо використовувати попереднє прогнозування фармакокінетичних та токсикологічних властивостей сполук, що позначаються аббревіатурою ADMET (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicity) [5]. Раннє передбачення фармакокінетичних властивостей та особливостей метаболізму нових сполук та відсіювання тих сполук, що

мають не допустимі фармакокінетичні характеристики, і потенційно нездатні долати біологічні бар'єри, має першорядне значення і його необхідно проводити якомога раніше. Це дає змогу зробити більш достовірні висновки щодо доцільності проведення синтезу та перевірки біологічної активності сполук в експериментах *in vitro* та *in vivo*.

Крім того, враховуючи, що клінічним випробуванням передують тести на клітинних культурах і тваринах, важливо вміти переносити результати цих досліджень на людину. Саме передбачення «лікарської подібності» і токсичності сполук дасть змогу збільшити ефективність лікарських засобів. Комп'ютерне моделювання ADMET-властивостей ускладнюється безліччю фізіологічних механізмів, що їх зумовлюють, і малим обсягом надійних експериментальних даних. Водночас розроблено методи передбачення напрямку і швидкості метаболізму та кліренсу - характеристик, які багато в чому визначають ефективність нових лікарських засобів [6].

Побічні ефекти від дії ліків поки що не настільки передбачувані, як відповідні методи прогнозу активності. Основні труднощі в оцінці побічних ефектів пов'язані з відсутністю інформації про повний метаболічний шлях сполук. Поліпшення моделювання фармакокінетичних властивостей нових сполук нерозривно пов'язане з уточненням фізіологічних і біохімічних механізмів і переходом від емпіричних кореляцій «структура - властивість» до побудови моделей для передбачення конкретних параметрів: біодоступності, абсорбції речовин у шлунково-кишковому тракті, зв'язування з білками плазми, метаболічної стабільності.

Наразі розроблені *in silico* методи оцінки ADMET-властивостей, таких як біодоступність, проникнення через гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ), ступінь зв'язування білками плазми, що значно спрощує процес досліджень, зменшує ризики невдалих експериментів.

Скринінг ADME стає дедалі важливішим для виявлення та оптимізації провідних структур. Кожен процес ADME може бути додатково оцінений за певними параметрами [7]. Наприклад, абсорбцію оцінюють переважно за

розчинністю і проникністю мембран; розподіл - за зв'язуванням із білками, тканинами і транспортерами, такими як Р-глікопротеїн (P-gp), що є ключовим фактором розподілу в центральній нервовій системі; метаболізм - за метаболічною стабільністю в мікросомах печінки або печінковим кліренсом; виведення - за нирковим кліренсом і швидкістю виведення із сечею.

Було розроблено та застосовано безліч скринінгових систем для оцінки сполук за відповідними критеріями на етапах ідентифікації та оптимізації. Такі доекспериментальні дослідження є ключовими для розвитку сучасної фармацевтичної науки та сприяють створенню більш ефективних та безпечних лікарських препаратів.

Для оцінки фармакокінетичного профілю, шляхів біотрансформації та токсичності нових сполук використовують різноманітні комп'ютерні програми, які містять напрацьовані за багато років BigData (різні методи обробки великого обсягу даних для використання їх з метою вирішення різних завдань). До таких програм належать веб-ресурси SwissADME, BioTransformer 3.0, pkCSM, ACD/Labs Percepta Platform - PhysChem Module, ADMET Sar, ADMET lab, Mollinspiration Cheminformatics, Way2Drug ROSC-Pred та інші. Використання цих ресурсів охоплює понад 300 фармакологічних ефектів і біохімічних механізмів, а також дає змогу прогнозувати можливі побічні ефекти сполук на основі структурної формули речовин.

Висновки до розділу 1

1. Проаналізовано дані літератури щодо досягнень хемоінформатики та переваг використання *in silico* підходів у створенні ліків.
2. Обґрунтовано доцільність використання *in silico* технологій для прогнозування фармакокінетичного профілю та токсичності нових речовин.

РОЗДІЛ 2

ОЦІНКА ЛІКОПОДІБНОСТІ ТА ФАРМАКОКІНЕТИЧНОГО ПОТЕНЦІАЛУ НОВИХ СПОЛУК

2.1 Вибір об'єктів дослідження на основі логіко-структурного підходу

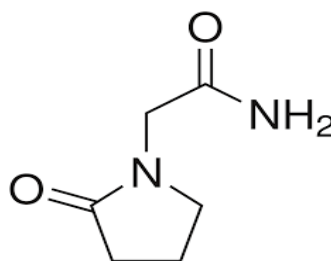
Кількість досліджень, зосереджених на пошуках нових біологічно активних речовин ноотропної дії, постійно зростає останніми роками. Це пов'язано, в першу чергу, з прогресуючим зростанням кількості когнітивних порушень, проявів деменції, наслідків перенесення коронавірусної хвороби, інсультів, боротьба з наслідками яких, з метою зменшення їх поширеності в суспільстві, вимагає постійних цілеспрямованих зусиль. Препарати ноотропної дії можуть стимулювати процес навчання, поліпшувати пам'ять і розумову діяльність[8]. Існують препарати синтетичного та рослинного походження [9]. Додатково вони мають нейропротекторну дію і це є підставою для застосування їх в комплексному лікуванні контузій, посттравматичних синдромів, черепно-мозкових травм та політравм після поранень у військових. Розширення асортименту ноотропних препаратів в Україні є актуальним, тому синтез нових речовин, які мають перспективу впровадження в медичну практику у вигляді нових лікарських препаратів ноотропної дії, завжди залишається актуальним завданням фармацевтичної науки [10].

Однією з груп ноотропів, які використовуються в медичній практиці, є «рацетами» в основі яких лежить п'ятичленний азагетероцикл пірролідону. «Золотим стандартом», першим і найбільш поширеним представником групи рацетамів є пірацетам [11]. Вся еволюція створення нових ноотропів, а наразі синтезовано цілий ряд його безпосередніх аналогів і гомологів, базується на

модифікації структури першого представника пірацетаму. За хімічною будовою пірацетам належить до групи похідних піролідонів і саме з нього почалося створення українськими вченими цілої групи ноотропних препаратів. Він і надалі залишається основним класичним представником ноотропів [12]. Представниками групи рацетамів є також анірацетам, оксирацетам, селетрацетам, леветірацетам, етирацетам, фенілпірацетам, дупрацетам та інші.

Інформація про доцільність застосування пірацетаму при різних захворюваннях, що пов'язані з порушенням діяльності нервової системи, занесена в доказову базу даних Кокрана [13]. Пірацетам також включений до Британського національного формуляра, що свідчить про його доведену ефективність при певному патологічному процесі.

Пірацетам (Piracetamum)



Похідні 2-оксопіролідину є предметом дослідження вже понад три десятиліття [14]. Експериментальні та клінічні роботи спочатку були зосереджені на їх ноотропних ефектах, пізніше з'явилися дані літератури про можливості їх використання як нейропротекторів після інсульту, спортивних травм та як протисудомних препаратів при лікуванні епілепсії [15]. Враховуючи структурну подібність до відомих ноотропів, подальші дослідження нових заміщених 4-(амінометил)-1-бензилпіролідін-2-ону як прототипів нових лікарських засобів ноотропної дії є цілком виправданим підходом до цілеспрямованого пошуку.

Шляхом модифікації 4-(амінометил)-1-бензилпіролідін-2-ону шляхом поєднання з 5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазольним циклом та введенням замісників гетероциклічної будови, в НФаУ були

синтезовані гетериламід 2-(3-(1-бензил-5-оксопірролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти. Синтез гетериламідів 2-(3-(1-бензил-5-оксопірролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти був здійснений відповідно схеми 2.1.

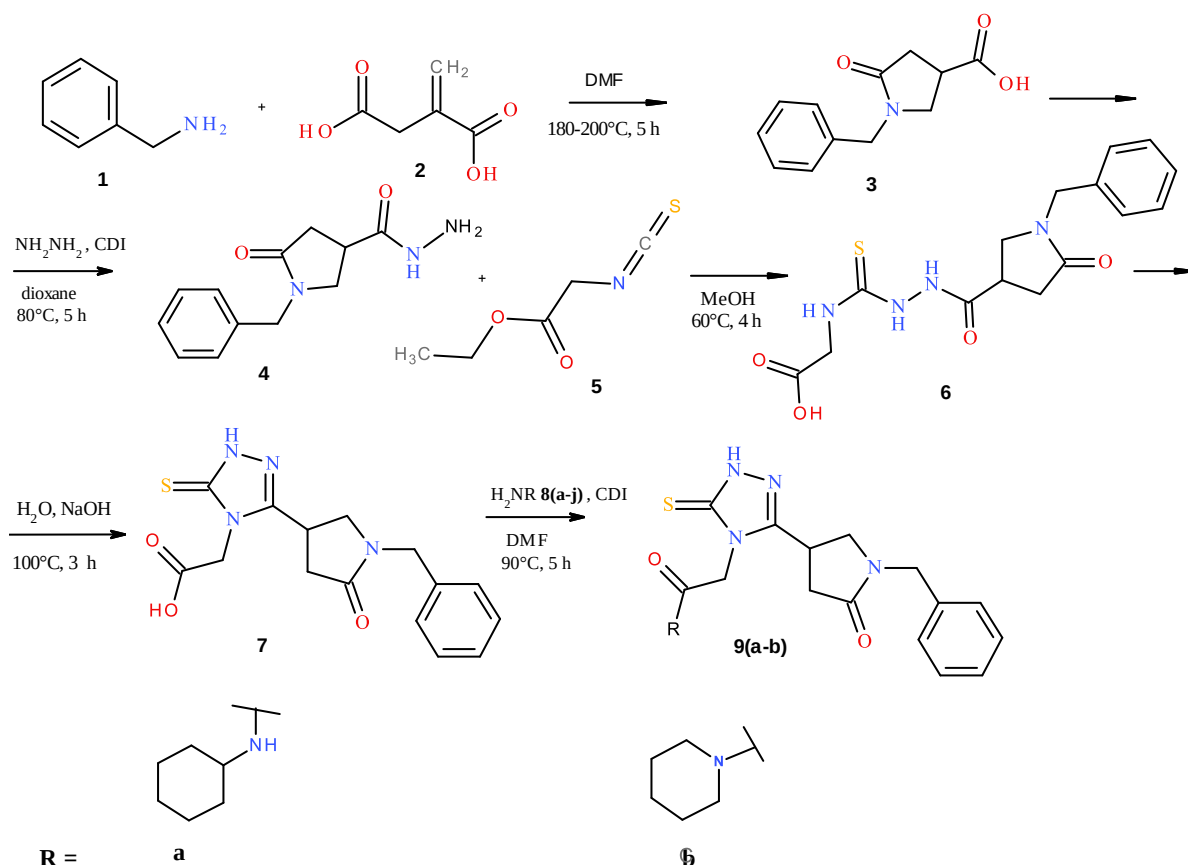


Схема 2.1. Синтез гетериламідів 2-(3-(1-бензил-5-оксопірролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти **9a-b**.

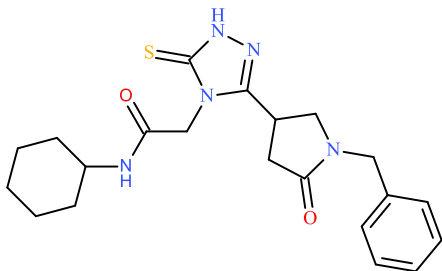
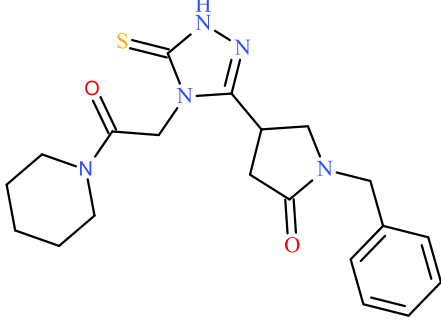
Очікується, що поєднання в одній молекулі двох перспективних циклів пірролідону та 1,2,4-тріазолу може призвести до синергічних ефектів, і синтезовані сполуки можуть показати певний вплив на ЦНС і позитивні результати в експериментальному скринінгу на виявлення ноотропної активності.

Для синтезованих сполук **9a-b** попередніми дослідженнями був проведений молекулярний докінг до ноотропної мішені – ацетилхолінового мускаринового рецептора, який показав їх перспективність для подальших експериментальних досліджень на лабораторних тваринах.

Метою нашого дослідження була оцінка лікоподібності, фармакокінетичних параметрів, метаболічних перетворень та передбачення вірогідної токсичності та можливої канцерогенності синтезованих сполук, які можуть стати перешкодою на останній стадії клінічних досліджень.

2.2. Тестування нових сполук на «лікоподібність»

Об'єктами тестування на «лікоподібність» були циклогексиламід 2-(3-(1-бензил-5-окспіролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти **9a** та піперидиламід 2-(3-(1-бензил-5-окспіролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти **9b**.

	
Циклогексиламід 2-(3-(1-бензил-5-окспіролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4<i>H</i>-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти 9a.	Піперидиламід 2-(3-(1-бензил-5-окспіролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4<i>H</i>-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти 9b

Досліджувані гетериламіди 2-(3-(1-бензил-5-окспіролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти **9a-b** були протестовані нами на наявність у них drug-like властивостей з використанням веб сервісу SwissADME.

Визначення властивостей лікарської подібності є одним із важливих етапів відкриття лікарських засобів. Термін «лікоподібні характеристики» охоплює поняття про властивості сполук, які є найбільш необхідними для успішного їх використання як лікарських засобів [16]. Цей термін започаткували польський вчений хімік Кристофер Ліпінські та його колеги. З

метою оцінки лікоподібних властивостей сполук він сформулював емпіричні Правила П'яти (*Rule of five*), які описують набір із п'яти параметрів для встановлення кореляційних залежностей біологічних властивостей сполуки від її молекулярних властивостей. Кристофер Ліпінські зазначив, що всі ліки мають фізико-хімічні властивості в певних межах. Його правила описують молекулярні властивості, фармакокінетику (всмоктування, розподіл, метаболічні перетворення і процес виведення з організму) ліків в організмі людини. До лікоподібних характеристик можна віднести всі характеристики структури, що впливають на біологічний ефект сполук та пов'язані з властивостями, що впливають на адсорбцію, розподіл, метаболізм, виведення і токсичність [17]. Згідно Правила П'яти, сполука, яка позиціонується як перспективний кандидат у лікарські засоби, повинна відповідати наступним критеріям, а саме, мати значення фізико-хімічних параметрів в кокретних межах:

M (молекулярна маса) – не більше 500;

$\log P$ (коефіцієнт розподілу в системі октанол/вода) – не більше 5;

H_d (кількість донорів водневого зв'язку) – не більше 5;

$Rot B$ (кількість зв'язків, що обертаються) – не більше 10;

H_A (кількість акцепторів водневого зв'язку) – не більше 10.

Сполуки, які повністю відповідають Правилам П'яти, не обов'язково будуть сто відсотків біодоступними при пероральному прийомі, але якщо порушені два або більше критеріїв відповідності цим правилам, то існує великий ризик низької біодоступності сполуки.

Молекулярна маса є визначальним фактором ADME-профілю сполуки. Вона характеризує розмір молекули, який може сприяти або бути перешкодою при проникненні через мембрани людського організму, що, своєю чергою, впливає на кишкову абсорбцію та розподіл у тканинах, особливо в контексті проникнення через гематоенцефалічний бар'єр. Фармакокінетика і фармакодинаміка лікарських речовин залежить від ліпофільності, гідрофільності, полярності, ступеня іонізації, тощо [18].

Ліпофільність характеризує здатність речовини до переносу через межу розподілу фаз і використовується для опису розподілення речовини в ліпідних шарах біомембран, опису зв'язування розчинених речовин із біомакромолекулами та оцінки здатності ксенобіотиків проходити крізь клітинну мембрану. Значення ліпофільності в інтервалі між -1 і +5 є оптимальним для речовин, призначених для перорального застосування: якщо $\log P < -1$, то речовина буде погано всмоктуватися; при $\log P > 5$ – сполука буде мати значну ліпофільність і буде здатна надовго затримуватися в ліпідних шарах, що також буде перешкоджати її абсорбції [18].

Кількість донорів і акцепторів водневого зв'язку вказують на здатність сполуки до утворення водневих зв'язків. Кількість нетермінальних зв'язків, що обертаються, описує «жорсткість» структури молекули. Правило П'яти постійно вдосконалюється і інші дослідники запропонували свої характеристики лікоподібності.

Правило Мюгге передбачає, що хімічна сполука стане успішною лікарською молекулою, якщо вона буде мати певні характеристики. Обмеження в Правилах Мюгге є більш жорсткими ніж в Правилах П'яти, що були запропоновані Ліпінські. Згідно вимог Правила Мюгге перебачаються обмеження значень фізико-хімічних параметрів, а саме:

M (молекулярна маса) – від 200 до 600;

$\log P$ (коефіцієнт розподілу в системі октанол/вода) – від -2 до 5;

TPSA (площа полярної поверхні молекули) – менше 150;

H_d (кількість донорів водневого зв'язку) – менше 5;

Rot B (кількість зв'язків, що обертаються) – менше 15;

H_A (кількість акцепторів водневого зв'язку) – менше 10;

Кількість ароматичних кілець в молекулі – менше 7;

Кількість гетероатомів в молекулі – менше 7.

Дослідник Гоше та його колеги запропонували свій діапазон значень, який запропонували використовувати при розробці бібліотек хімічних речовин, подібних до ліків. Вони рекомендували такі певні обмеження:

M (молекулярна маса) – між 160 і 480;

log P (коефіцієнт розподілу в системі октанол/вода) – між -0,4 і 5,6;

молярна рефракція – між 40 і 130 ;

загальна кількість атомів – між 20 і 70.

Згідно досліджень Вебера, молекулярна маса не суттєво впливає на біодоступність, тому її значення він не враховує, стверджуючи, що достатньо двох параметрів для визначення гарної пероральної біодоступності для більшості сполук. Згідно Правил Вебера, перспективні сполуки повинні відповідати двом вимогам:

Rot B (кількість зв'язків, що обертаються) – менше 10;

PSA площа полярної поверхні – менше 140 Å.

Фільтр Егана забезпечує прогнозування абсорбції лікарських засобів на основі фізичних процесів, пов'язаних з проникністю мембрани для малих молекул. Важливо, що обчислювальна модель Егана для пасивної кишкової абсорбції малих молекул враховує активний транспорт і механізми відтоку і тому є надійною для прогнозування абсорбції лікарських засобів. В Правилах Егана найважливіший вплив на біодоступність мають значення площі полярної поверхні (PSA) та кількість акцепторів водню, які впливають на їх гідрофільність і гідрофобність [19]. А також важливим в правилах Егана є значення дескриптора, який дорівнює відношенню ліпофільності до гідрофільності, і не містить інформації про абсолютну міру обох факторів. Інструменти *in silico*, такі як веб-сервери SwissADME та admetSAR, широко використовуються для прогнозування фізико-хімічних властивостей, та ADME/T властивостей лікарської подібності.

Аналіз лікарської подібності та прогнозування ADMET властивостей були проведені нами з використанням Правила П'яти Ліпінські, Правил Гоше, Егана, Вебера та Мюгге.

Розрахунки проводили за допомогою онлайн-інструменту SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php>), який надає доступ до набору швидких та надійних моделей для прогнозування фізико-хімічних властивостей,

ADMET параметрів, фармакокінетики та лікоподібності [20]. Розраховані властивості сполук **9a** та **9 b** представлені в Таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Drug-like характеристики сполук **9a** та **9 b**

Сполука	9a	9 b
Формула	C ₂₀ H ₂₅ N ₅ O ₂ S	C ₁₉ H ₂₃ N ₅ O ₂ S
Фізико-хімічні властивості		
Молекулярна маса	399.51 г/мол	385.48 г/мол
Частка атомів карбону в гібридизації sp ³	0.55	0.53
Кількість зв'язків, що обертаються	6	5
Кількість Н- зв'язків акцепторів	5	5
Кількість Н- зв'язків донорів	1	0
Молярна рефракція	124.07	123.27
Площа полярної поверхні молекули TPSA	109.46 Å ²	100.67 Å ²
Ліпофільність		
Log P _{o/w} (iLOGP)	3.03	2.99
Log P _{o/w} (XLOGP3)	3.25	2.47
Log P _{o/w} (WLOGP)	1.43	0.62
Log P _{o/w} (MLOGP)	2.46	1.83
Log P _{o/w} (SILICOS-IT)	3.58	3.25
Середній Log P _{o/w}	2.75	2.23
Розчинність у воді		
Log S (ESOL)	-4.13	-3.62
Розчинність	2.98e-02 мг/мл; 7.46e-05 мол/л	9.24e-02 мг/мл ; 2.40e-04 мол/л
Клас розчинності	Помірно розчинний	Розчинний
Log S (Ali)	-5.22	-4.23

Розчинність	2.39e-03 мг/мл; 5.99e-06 мол/л	2.28e-02 мг/мл; 5.91e-05 мол/л
Клас розчинності	Помірно розчинний	Помірно розчинний
Log S (SILICOS-IT)	-4.11	-3.36
Розчинність	3.09e-02 мг/мл; 7.74e-05 мол/л	1.69e-01 мг/мл; 4.38e-04 мол/л
Клас розчинності	Помірно розчинний	Розчинний

Розчинність – найважливіша характеристика при розробці ліків, оскільки вона є показником всмоктуваності і безпосередньо впливає на біодоступність. Здатність сполуки розчинятися в воді сильно варіює залежно від її сольової та кристалічної структури, а також залежить від температури та природи розчинника. Для погано розчинних сполук зазвичай потрібні додаткові зусилля, щоб поліпшити їх кишкову абсорбцію і розробити відповідну лікарську форму для клінічних випробувань. Розчинність у воді при 25°C повинна мати значення від 0 до -8. Значення для наших сполук входить в допустимий інтервал і свідчить про їх перспективність.

Результати розрахунків лікоподібності, відповідності Правилам П'яти Ліпінські, Правилам Гоше, Егана, Вебера та Мюгге узагальнені в Таблиці 2.2:

Таблиця 2.2

Лікоподібність сполук **9a** та **9 b**

Тестування на відповідність	Сполуки	
	9a	9 b
Правила Ліпінські	Так; 0 відхилень	Так; 0 відхилень
Правила Гоше	Так; 0 відхилень	Так; 0 відхилень

Правила Вебера	Так; 0 відхилень	Так; 0 відхилень
Правила Егана	Так 0 відхилень	Так 0 відхилень
Правила Мюгге	Так; 0 відхилень	Так; 0 відхилень
Біодоступність	0.55	0.55
Схожість з лідерами	Ні; 1 відхилення: MW>350	Ні; 1 відхилення: MW>350
Синтетична доступність	4.18	4.06

Біодоступність – це фракція введеного лікарського засобу, яка досягає системного кровообігу в активній формі. Препарати з низькою біодоступністю можуть потребувати більш високих доз або альтернативних шляхів введення для досягнення терапевтичних концентрацій. На біодоступність впливають такі фактори, як метаболізм першого проходження, розчинність і проникність [21].

Обидві сполуки мають оптимальні фізико-хімічні параметри, відповідають параметрам подібності до лікарських засобів згідно з Правилами Ліпінські, Гоше, Вебера, Егана та Мюгге, тому мають хорошу біодоступність і, ймовірно, є лікоподібними. Прогнози біодоступності, отримані в результаті розрахунків представлено у вигляді радарів біодоступності.

Радар біодоступності в веб- сервісі SwissADME надає графічний вигляд параметрів біологічно активного лікарського засобу, доступного для перорального застосування. Радар біодоступності дає змогу швидко визначити молекулу, схожу на ліки, та зробити висновок щодо біодоступності сполуки при пероральному вживанні. Радар біодоступності представлений у вигляді шестикутника (Рис.2.1-2.2.), кожна з вершин якого представляє фізико-хімічний параметр, який визначає біодоступність лікарського засобу.

Рожева ділянка всередині шестикутника являє собою оптимальний діапазон біодоступності для кожної з зазначених властивостей: INSATURATED - ступінь насичення: частка атомів вуглецю в гібридизації sp^3 не менше ніж 0,25; FLEX - гнучкість: кількість зв'язків, що обертаються не більше ніж 9; SIZE - розмір: від 150 до 500 г/моль; POLAR - поляризуємість: від 20 до 130 Å²; INSOLUBLE - розчинність: не вище за 6; LIPOPHILITY - ліпофільність: від -0,7 до +5,0. Радар біодоступності кожної з досліджуваних речовин представлено на рис. 2.1-2.2.

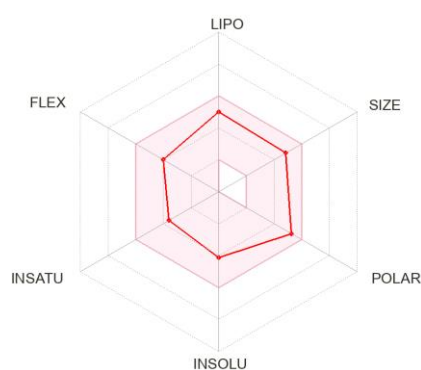


Рис. 2.1. Радар біодоступності сполуки **9a**.

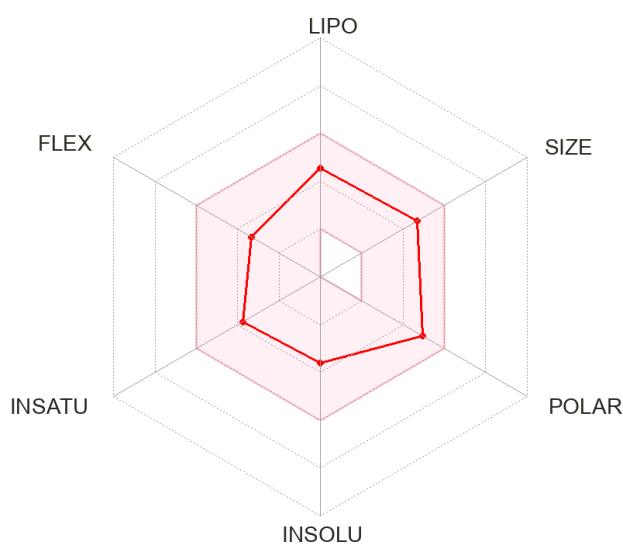


Рис. 2.2. Радар біодоступності сполуки **9b**.

Згідно результатів, одержаних з використанням веб-інструмента SwissADME, до ТОП-15 мішеней в організмі людини для сполуки **9a** належать ензими, кінази, протеази, електрохімічні транспортери та сімейство G-білків, взаємодія з якими є найбільш вірогідною (20 %) (Рис.2.3)

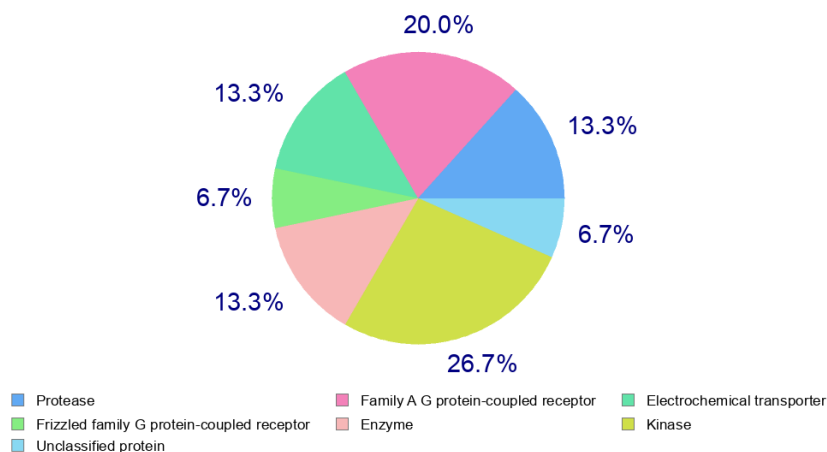


Рис. 2.3. Мішені циклогексиламідів 2-(3-(1-бензил-5-оксопірролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти **9a**.

До ТОП-15 мішеней в організмі людини для сполуки **9b** належать сімейство G-білків, ензими, кінази, йонні канали та протеази, взаємодія з якими є найбільш вірогідною (33 %) (Рис.2.3)

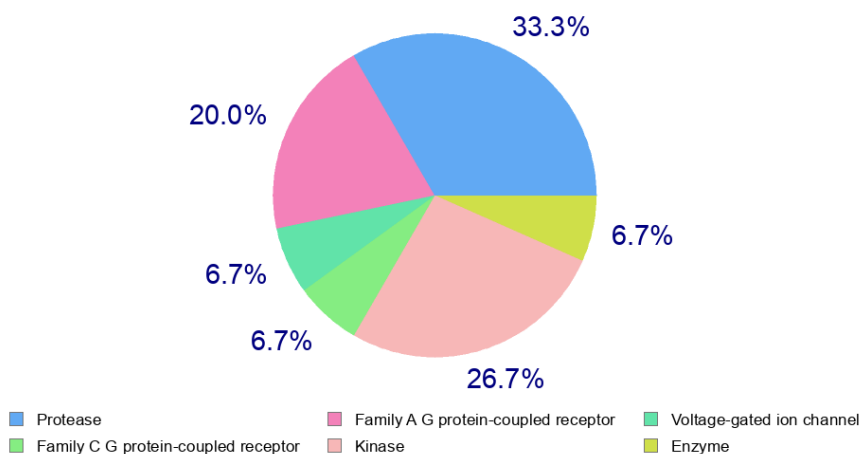


Рис. 2.4. Мішені піперидиламідів 2-(3-(1-бензил-5-оксопірролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти **9b**.

Іонізація (позначається константою іонізації (pK_a)) - це міра кислотності або основності сполуки, зокрема, її здатність віддавати або приймати протони (іони H^+), перебуваючи в розчині. Вона є важливим параметром, оскільки допомагає пояснити фармакокінетичну поведінку та взаємодію речовин [22]. pK_a визначається шляхом вимірювання pH , за якого концентрація іонізованої та неіонізованої форм сполуки рівні. На основі графіка залежності $\log D$ за кількох pH будується крива. pH у точці перегину - це pK_a , а $\log D$ залежить від pK_a . В залежності від pH сполуки можуть знаходитися в різних таутомерних формах і від цього залежить ділянка їх всмоктування в ШКТ (Рис. 2.5)

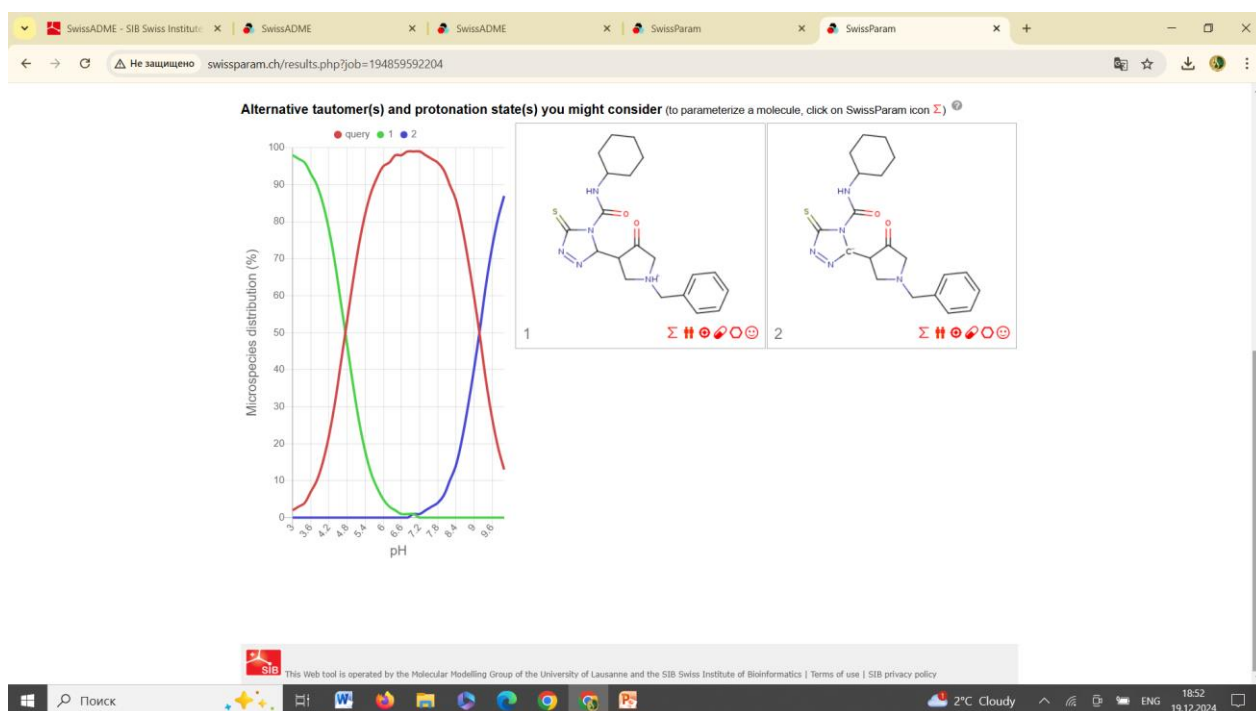


Рис. 2.5. Абсорбція сполуки **9a** в залежності від таутомерної форми.

2.3. Прогнозування ADME властивостей, метаболічних перетворень та фармакокінетичного потенціалу нових сполук

ADME-властивості (абсорбція, розподіл, метаболізм та виведення) є вирішальними факторами, що визначають фармакокінетику ліків в організмі

людини [23]. ADME-властивості кожної сполуки були прогнозовані і представлені в Табл.2.3.

Таблиця 2.3

ADME-властивості гетериламідів 2-(3-(1-бензил-5-оксопірролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти **9a-b**

Сполука	9a	9 b
Гастроінтестинальна абсорбція	Висока	Висока
ГЕБ проникність	Так	Так
P-гр субстрат	Ні	Ні
CYP1A2 інгібітор	Ні	Ні
CYP2C19 інгібітор	Так	Так
CYP2C9 інгібітор	Так	Так
CYP2D6 інгібітор	Ні	Ні
CYP3A4 інгібітор	Так	Так
Log K _p (проникність крізь шкіру)	-6.43 см/с	-6.90 см/с

Прогнози щодо проникнення крізь ГЕБ та пасивної абсорбції в ШКТ є дуже важливими. Прогноз проникнення ліків у мозок є важливим компонентом при оцінці фармакологічної активності та токсичності *in vivo* для препаратів, потенційна дія яких спрямована на ЦНС [24].

Проникність гематоенцефалічного бар'єру вказує на можливість використання молекули як неврологічно активної. Розподіл ліків зазвичай визначається гіпотезою вільних ліків, згідно з якою тільки ліки, які не пов'язані з білками, ліпідами або іншими тканинними компонентами, можуть розподілятися в тканинах-мішенях і здатні взаємодіяти з фармакологічними мішенями. Як видно з таблиці 2.3, тестовані сполуки мають здатність

проникати крізь ГЕБ та мають високу абсорбцію в ШКТ, тобто добре всмоктуються в шлунку та кишечнику.

P-Глікопротеїн (P-gp) є компонентом клітинних мембран, транспортером, що діє як біологічний бар'єр, видаляючи з клітини ксенобіотики. Глікопротеїни здійснюють транспортну функцію, переносять іони металів (функцію переносника заліза виконує трансферин, міді – церулоплазмін) та гідрофобні речовини (переносником стероїдних гормонів є транскортин). Інгібування P-Глікопротеїнів має важливе значення, може забезпечити переваги або призвести до протипоказань [24].

Наразі ідентифіковано 17 сімейств CYP450, хоча лише CYP1, CYP2, CYP3, CYP4 пов'язані з метаболізмом лікарських засобів, причому CYP (1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4) відповідають за біотрансформацію більш ніж 90% лікарських засобів, що проходять першу фазу метаболізму. Критично важливо на ранніх стадіях розробки оцінити здатність сполук бути інгібітором або субстратом цитохром P450 (CYP2D6/CYP3A4). У людини метаболізм CYP450 зазвичай здійснюється дев'ятьма основними ферментами CYP450. Ці ферменти відіграють дуже важливу роль у метаболізмі ліків або ксенобіотиків, виконуючи різні реакції окислення або гідроксилювання для підвищення розчинності субстрату у воді. Обидві сполуки, що тестувалися були визначені як інгібітори CYP (1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 3A4).

Шкіра служить бар'єром між внутрішнім і зовнішнім середовищем тіла. Константа проникності шкіри $\text{Log } K_p$ виражає ймовірність сполуки бути проникною для шкіри. Враховуючи отримані показники проникності шкіри для тестованих речовин, у разі необхідності, може використовуватися трансдермальний шлях введення.

Лікарський препарат в організмі зазнає біотрансформації. Цей процес метаболічних перетворень ліків у відбувається за участю ферментів печінки, легень, нирок, крові та кишківника. На першій фазі біотрансформації (функціоналізації) відбувається зміна молекул лікарських засобів внаслідок процесів окиснення, відновлення або гідролізу з утворенням функціональних

груп. На другій фазі ці функціональні угруповання зазнають перетворень, що підвищують їх гідрофільність і сприяють більш швидкому виведенню. Ліки утворюють метаболіти, які інколи мати відмінні фізико-хімічні та фармакологічні характеристики.

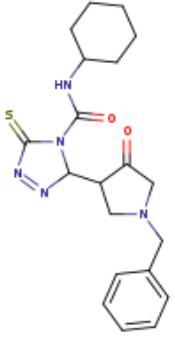
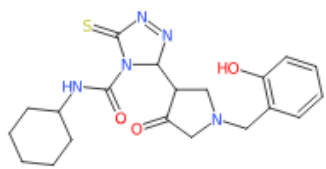
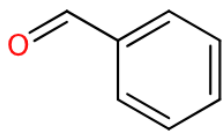
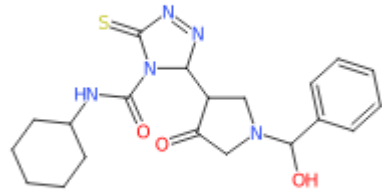
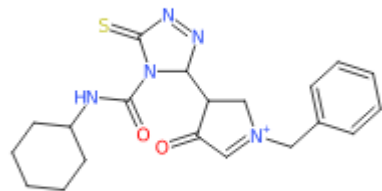
Вивчення метаболізму передбачає кілька компонентів, зокрема, ідентифікацію ферментів, відповідальних за біотрансформацію сполуки, виявлення місця проходження метаболізму і метаболічну стабільність. Метаболічна стабільність може розглядатися як найбільш важливий параметр, що визначає фармакокінетику *in vivo*, яка впливає на ефективність і токсичність. Таким чином, оцінка метаболічної стабільності була впроваджена як важливий компонент в процесі високопродуктивного скринінгу для виявлення та оптимізації структур лідерів при відкритті ліків.

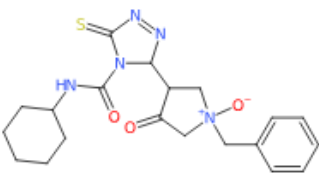
Наступним етапом нашого дослідження було прогнозування метаболізму тестованих сполук за допомогою BioTransformer SwissADME BioTransformer 3.0 (<https://biotransformer.ca>).

Веб-сервіс BioTransformer підтримує вісім типів прогнозування метаболічних перетворень, включаючи реакції фази I (цитохром P450), несистематичні ферментативні реакції, реакції фази II, мікробні реакції кишечника людини, мікробні перетворення в навколишньому середовищі і різні комбінації перерахованих вище, відомі як AllHuman, SuperBio і MultiBio. Зокрема, опція «Перетворення фази I (CYP450)» прогнозує метаболізм за участю цитохрому P450, який є основною ферментною системою печінки і бере участь у першій фазі метаболізму (Табл. 2.4- 2.5).

Таблиця 2.4

Прогнозовані метаболічні перетворення сполуки **9a**

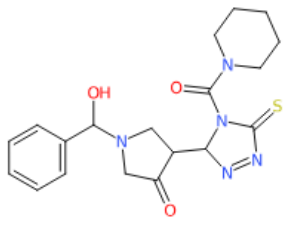
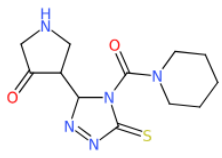
Сполука	Метаболіти та шляхи перетворення
	Гідроксилювання ароматичного кільця 
	N-деалкілювання 
	Гідроксилювання карбонільної групи 
	Утворення імінієвої форми піролідинового циклу 

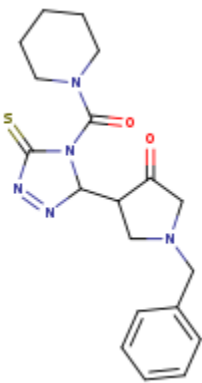
	N-окиснення аліциклічного четвертинного атома азоту 
--	--

Моделювання метаболізму допомагає зрозуміти потенційні побічні ефекти та оптимізувати терапевтичні схеми, сприяючи більш безпечному лікуванню кількома препаратами. Застосування в педіатрії, геріатрії, при лікуванні вагітних, дозволяє створювати індивідуальні терапевтичні стратегії, які враховують певні фізіологічні зміни.

Таблиця 2.5

Прогнозовані метаболічні перетворення сполуки **9b**

Сполука	Метаболіти та шляхи перетворення
	Відновлення кето- групи до гідроксигрупи 
	N-деалкілювання аліциклічного четвертинного атома азоту 

	Гідроксилювання ароматичного кільця
	Розкриття піперидинового циклу
	N-окиснення аліциклічного четвертинного атома азоту

Опція програми «Перетворення на основі ЕС» передбачає регулярний і безладний ферментативний метаболізм, який здебільшого відповідає первинному метаболізму. Опція «Перетворення фази II» прогнозує основні кон'югативні реакції, включаючи глюкуронізацію, сульфатування, N-ацетилювання, взаємодію з гліцином та глутатионом. Ці реакції також відіграють важливу роль у метаболізмі ксенобіотиків або вторинному метаболізмі, елімінації та детоксикації. Опція «Мікробна трансформація в кишечнику людини» прогнозує метаболізм, що відбувається під дією мікробних ферментів кишечника, використовуючи відомі типи реакцій і бактеріальні ферменти, знайдені в мікробах кишечника людини. Кишкові мікроби здійснюють широкий спектр незвичайних катаболічних реакцій як на первинні, так і на вторинні метаболіти.

Експериментальна частина

Хімічні назви досліджуваних сполук **9a-b** наведені відповідно до номенклатури IUPAC, 2D структурні формули сполук були згенеровані за допомогою програми SwissADME у 2D форматі та переведені у формат mSMILES.

Одержаний mSMILE **9a** має вигляд послідовності атомів:

SMILE : O=C(NC1CCCCC1)N1C(N=NC1=S)C1CN(CC2=CC=CC=C2)CC1=O

Одержаний mSMILE **9b** має вигляд послідовності атомів:

O=C(N1C(N=NC1=S)C1CN(CC2=CC=CC=C2)CC1=O)N1CCCCC1

З використанням mSMILE форматів для сполук **9a-b** були розраховані параметри, що визначають відповідність сполуки Правилам П'яти Ліпінського, Правилам Вебера, Егана, Гоше, Мюгге.

Висновки до розділу 2

1. На основі ЛСП обрані об'єкти дослідження - гетериламід 2-(3-(1-бензил-5-окспіролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти
2. Тестування об'єктів дослідження на «лікоподібність» показало їх відповідність Правилам П'яти Ліпінського, Правилам Вебера, Егана, Гоше, Мюгге.
3. Прогнозування ADME властивостей, метаболічних перетворень та фармакокінетичного потенціалу нових сполук свідчить про їх сприятливий фармакокінетичний профіль та перспективність досліджень *in vivo*.

РОЗДІЛ 3

ПРОГНОЗУВАННЯ ТОКСИЧНОСТІ НОВИХ СПОЛУК

Наразі при оцінюванні токсикологічних характеристик нових сполук вчені перейшли від досліджень *in vivo* до досліджень *in vitro* та *in silico*. Перевагою розрахункових оцінок токсикометричних характеристик для нових речовин є можливість їх отримання на ранніх стадіях дослідження. [25]. Для прогнозування токсикологічних параметрів використовують структурну формулу, дизайн якої здійснено в комп'ютері, без використання лабораторних тварин. Широко застосовують моделі *in silico* прогнозування кардіотоксичності, цитотоксичності, гепатотоксичності, генотоксичності, імунотоксичності, тератогенності, гострої та хронічної пероральної токсичності

Для досліджуваних сполук **9a-b** нами було проведено прогноз найбільш токсичності, мутагенності та канцерогенності з використанням онлайн-програми pkCSM, що розроблена вченими з Кембриджського університету Дугласом Є.В., та Піресом [26]. Аналогічно прогнозування гострої токсичності, канцерогенності, мутагенності, гепатотоксичності, кардіотоксичності, нефротоксичності, нейротоксичності, гематотоксичності, алергенності, здійснено з використанням веб сервісу admetSAR [27].

Тест Еймса широко використовується як швидкий і зручний метод для оцінки мутагенного потенціалу хімічних сполук. Прогнозування для людини на основі даних на тваринах дозволяє екстраполювати поведінку нових сполук на різні види, надаючи уявлення про безпеку та дозування для людини з урахуванням міжвидових відмінностей.

Позитивний результат тесту свідчить, що сполука потенційно може бути канцерогеном. Результат тесту, що проведений нами за допомогою двох програм, негативний, тобто розраховані параметри токсичності досліджуваних сполук **9a-b** свідчать, що для них не передбачається здатність викликати мутації.

Впродовж усього процесу розробки ліків одним із найпоширеніших несприятливих ефектів, що призводить до невдачі в пошуку нових ліків, є наявність такого побічного ефекту як серцеві аритмії. Ці невдачі здебільшого пов'язані зі здатністю речовин інгібувати серцевий калієвий канал людського гена hERG. У людини канал hERG, який є гомо-тетрамером, експресується в декількох органах, таких як мозок, тимус, надниркові залози, сітківка ока та серцевий м'яз [28]. Серцевий hERG-канал відрізняється від інших потенціалкерованих калієвих каналів швидкою зворотною інактивацією порівняно з етапами активації-інактивації, що збільшують струм при реполяризації. Великий розмір пор у hERG-каналі, а також ліпофільний характер вистилки пор є основними характеристиками серцевого hERG-каналу. Пригнічення серцевого hERG-каналу лікарськими засобами є непередбачуваним і призводить до фатальних аритмій.

Для оцінки очікуваних серцево-судинних ефектів рання оцінка токсичності HERG є дуже важливою і рекомендується, наприклад, регуляторними органами, такими як Управління з контролю якості харчових продуктів і медикаментів США та Європейським агентством з лікарських засобів. Таким чином, при доекспериментальному скринінгу сполук обов'язково проводиться оцінка їх активності по відношенню до hERG. Подання прогнозів оцінки токсичності в регуляторні органи, такі як FDA, ЕМА свідчить про їх зростаючу важливість у процесах надання дозволів на клінічне використання лікарських засобів.

Згідно отриманих нами результатів, досліджувані сполуки **9a-b** здатні інгібувати фермент hERG II і не здатні інгібувати фермент hERG I, тобто, ймовірність прояву ними кардіотоксичності становить 50%.

Важливим при розробці нових ліків є тест на гепатотоксичність [29]. Лікарська інтоксикація печінки завжди є серйозною проблемою. Згідно отриманих розрахунків сполук **9a-b** можуть виявитися гепатотоксичними але потенційно не будуть алергенами.

Значення розрахованих максимально переносимих доз для сполук **9a-b** є високими; LD50 = 2.66 та 2.59 ммоль/кг (доза, що характеризує гостру токсичність при пероральному введенні щурам, отримана розрахунковим шляхом); LOAEL = 0, 71 та 1.31 log мг/кг живої маси на день (розрахована доза, що характеризує хронічну токсичність при пероральному введенні щурам). Синтезовані сполуки за даними обох програм, результати яких співпадають між собою, потенційно не будуть канцерогенними, мутагенними, алергенними, але можуть викликати гепатотоксичність та з вірогідністю 50% можуть бути кардіотоксичними.

Результати досліджень з використанням обох програм узагальнені та наведені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Прогнозована токсичність досліджуваних сполук **9a-b**

Властивість	Модель тесту	Прогнозоване значення 9a	Прогнозоване значення 9b	Категорія значень
Токсичність	Тест ЕЙМСА	Ні	ні	Так/Ні
Токсичність	Максимальна токсична доза (людина)	-0.84	-0.83	Чисельне значення (log мг/кг/день)
Токсичність	hERG I інгібітор	Ні	Ні	Так/Ні
Токсичність	hERG II інгібітор	Так	Так	Так/Ні
Токсичність	Гостра токсичність при пероральному введенні щурам	2.66	2.59	Чисельне значення (мол/кг)

Властивість	Модель тесту	Прогнозоване значення <i>9a</i>	Прогнозоване значення <i>9b</i>	Категорія значень
	(LD50)			
Токсичність	Хронічна токсичність при пероральному введенні щурам (LOAEL)	0.71	1.31	Чисельне значення (log мг/кг _bw /день)
Токсичність	Гепатотоксичність	Так	Так	Так/Ні
Токсичність	Сенсибілізація шкіри	Ні	Ні	Так/Ні

In silico прогнозування токсичності допомагає заздалегідь прогнозувати токсикологічні наслідки, моделюючи вплив високих доз ліків або їх тривале використання, сприяючи більш безпечним клінічним випробуванням [30]. Проведені комп'ютерні розрахунки, крім своєї практичної спрямованості в отриманні даних для подальшого вивчення, демонструють, що оцінювання фармакокінетичних властивостей in silico дає змогу отримати дані швидше, порівняно з експериментальними дослідженнями.

Експериментальна частина

Хімічні назви досліджуваних сполук *9a-b* наведені відповідно до номенклатури IUPAC, структурні формули згенеровані за допомогою програми SwissADME у 2D форматі, конвертовані у формат mSMILES та імпортовані в програми pkCSM online та admetSAR online, в яких здійснили прогноз токсичності досліджуваних речовин.

Висновки до розділу 3.

1. Здійснено комп'ютерний прогноз гострої та хронічної токсичності, канцерогенності, мутагенності, гепатотоксичності, кардіотоксичності, алергенності нових сполук з використанням веб сервісу admetSAR та онлайн програмного забезпечення pkCSM.
2. Синтезовані сполуки потенційно не будуть канцерогенними, мутагенними, алергенними, але можуть викликати гепатотоксичність та з вірогідністю 50% можуть бути кардіотоксичними.

ВИСНОВКИ

1. Проаналізовано дані літератури щодо досягнень хемоінформатики та переваг використання *in silico* підходів у створенні ліків.
2. Обґрунтовано доцільність використання *in silico* технологій для прогнозування фармакокінетичного профілю та токсичності нових речовин.
3. На основі ЛСП обрані об'єкти дослідження - гетериламіди 2-(3-(1-бензил-5-окспіролідін-3-іл)-5-сульфаніл-1,5-дигідро-4*H*-1,2,4-тріазол-4-іл)оцтової кислоти
4. Тестування об'єктів дослідження на «лікоподібність» показало їх відповідність Правилам П'яти Ліпінського, Правилам Вебера, Егана, Гоше, Мюгге.
5. Прогнозування ADME властивостей, метаболічних перетворень та фармакокінетичного потенціалу нових сполук свідчить про їх сприятливий фармакокінетичний профіль та перспективність досліджень *in vivo*.
6. Синтезовані сполуки потенційно не будуть канцерогенними, мутагенними, алергенними, але можуть викликати гепатотоксичність та з вірогідністю 50% можуть бути кардіотоксичними.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Macalino S. J., Gosu V., Hong S., Choi S. Role of computer-aided drug design in modern drug discovery. *Arch. Pharm. Res.* 2015. Vol. 38. P. 1686–1701. DOI: 10.1007/s12272-015-0640-5
2. Ben-Menahem S. M., Von K. G., Erden Z., Schneider A. Coordinating knowledge creation in multidisciplinary teams: Evidence from earlystage drug discovery. *Academy of Management Journal*. 2016. Vol. 59(4). P.1308-38.
3. What Will Health and Medicine Look Like in 2050? URL: <https://insights.omnia-health.com/laboratory/what-will-healthcare-2050-look> (Date of access: 10.10.2024).
4. Ferreira L. L. G., Andricopulo, A. D. ADMET modeling approaches in drug discovery. *Drug Discov. Today*. 2019. Vol. 24. P. 1157–1165. DOI: 10.1016/j.drudis.2019.03.015
5. Nootropics: Emergents drugs associated with new clinical challenges / H. S. Garcia et al. *European Psychiatry*. 2017. Vol. 41. P. S877-S878. DOI: 10.1016/j.eurpsy.2017.01.1769
6. Toward in Silico Structure-based ADMET Prediction in Drug Discovery / G. Moroy et al. *Drug Discov. Today*. 2012. Vol. 17(1–2). P. 44–55. DOI: 10.1016/j.drudis.2011.10.023.
7. Forecasting oral absorption across biopharmaceutics classification system classes with physiologically based pharmacokinetic models / S. Hansmann et al. *J. Pharm. Pharmacol.* 2016. Vol. 68. P. 1501–1515. DOI: 10.1111/jphp.12618
8. Nootropics: Emergents drugs associated with new clinical challenges / L. Saiz Garcia, A. Montes Reula, V. Portilla Fernandez, N. Pereira Sanchez, E. Olmo Lopez, A.S. Mancha Heredero, M.E. Rosero Enriquez, Martinez Parreño // *European Psychiatry*. – 2017. – Vol. 41. P. S877-S878. <https://DOI.org/10.1016/j.eurpsy.2017.01.1769>

9. Swati V. Nootropic medicinal plants: Therapeutic alternatives for Alzheimer's disease. *Journal of Herbal Medicine*. 2019. Vol. 17(18). P. 1-17. DOI: 10.1016/j.hermed.2019.100291.
10. Zovko K., M.; Tomczyk M. New insights into dietary supplements used in sport: Active substances, pharmacological and side effects. *Curr. Drug Targets*. 2013. Vol. 14. P. 1079–1092.
11. Nootropic. URL: <https://en.dharmapedia.net/wiki/Nootropic> (Date of access: 10.12.2023).
12. Effects of centrally acting ACE inhibitors on the rate of cognitive decline in dementia / Y. Gao et al. *BMJ Open*. 2013. Vol. 3. P. 1-8.
13. Cochrane Library. URL: <https://www.cochranelibrary.com/> (Date of access: 10.10.2024).
14. A novel CaV2.2 channel inhibition by piracetam in peripheral and central neurons / J. Bravo-Martínez et al. *Experimental Biology and Medicine*. 2012. Vol. 237 (10). P. 1209–1218. DOI:10.1258/ebm.2012.012128
15. A comprehensive map of molecular drug' targets / R. Santos et al. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2017. Vol. 16(1) . P. 19-34. Farooq M. U., Min J., Goshgarian C., Gorelick P. B. Pharmacotherapy for Vascular Cognitive Impairment. *CNS Drugs (Review)*. 2017. Vol. 31 (9). P. 759 776. DOI:10.1007/s40263-017-0459-3
16. Folmer R. H. A. Integrating biophysics with HTS-driven drug discovery projects. *Drug Discovery Today*. 2016. Vol. 21(3). P. 491-498.
17. Physiologically based pharmacokinetic modeling in drug discovery and development: a pharmaceutical industry perspective / Jones H. et al. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2015. Vol. 97(3). P. 247–262. DOI: 10.1002/cpt.37
18. Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W, Feeney P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2001. Vol. 46 (1–3). P. 3–26.
19. Pharmacotherapy Principles and Practice, Fourth Edition / Chisholm-Burns M. A. et al. New York : McGraw Hill Professional. 2015, 674 p. Computer-aided drug

- design and drug pharmacokinetic prediction: a mini-review / J. Tabeshpour et al. *Curr. Pharm. Des.* 2018. Vol. 24. P. 3014–3019. DOI: 10.2174/1381612824666180903123423
20. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, EMCDDA–Europol 2014 Annual Report on the implementation of Council Decision 2005/387/JHA. <https://www.drugsandalcohol.ie/24199/> (Date of access: 10.10.2024).
 21. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* 2017. 7:42717.
 22. Клінічна фармація : підруч. для студ. ВНЗ / за ред. В.П. Черних, І. А. Зупанець, І.В. Купновицької. Харків. НФаУ : Золоті сторінки, 2013. 912 с.
 23. In silico ADME/T modelling for rational drug design / Y. Wang et al. *Q. Rev. Biophys.* 2015. Vol. 48. P. 488–515. DOI: 10.1017/S0033583515000190
 24. Dulsat J., López-Nieto B., Estrada-Tejedor R., Borrell J.I. Evaluation of Free Online ADMET Tools for Academic or Small Biotech Environments. *Molecules.* 2023. Vol. 28. P. 776. DOI: 10.3390/molecules28020776
 25. Hodson R. The future of medicine. *Nature.* 2018. Vol. 27 (15). P. 109–118. DOI: 10.1038/d41586-018-02472-6.
 26. Alqahtani S. In silico ADME-Tox modeling: progress and prospects. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2017. Vol. 13. P. 1147–1158. DOI: 10.1080/17425255.2017.1389897
 27. admetSAR 2.0: web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties / Yang H. et al. *Bioinformatics.* 2019. Vol. 35(6). P. 1067–1069. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty707
 28. Pires D. E., Kaminskas L. M., Ascher D. B. Prediction and Optimization of Pharmacokinetic and Toxicity Properties of the Ligand. *Methods Mol Biol.* 2018. Vol. 1762. P 271–284. DOI: 10.1007/978-1-4939-7756-7_14.
 29. admetSAR3.0: a comprehensive platform for exploration, prediction and optimization of chemical ADMET properties / Y. Gu et al. *Nucleic Acids Research.* 2024. Vol. 52, Iss. W1. P. W432–W438. DOI: 10.1093/nar/gkae298

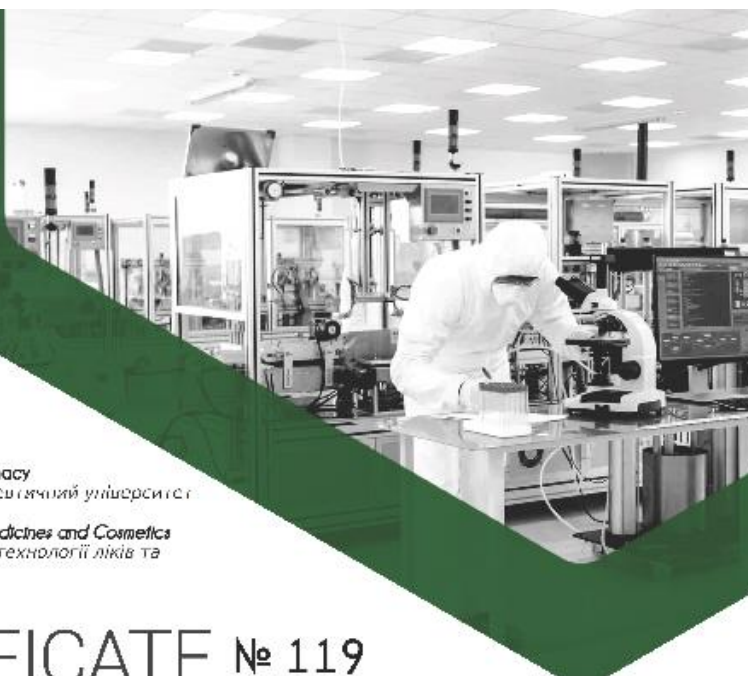
30. Alternative methods in toxicity testing: the current approach / L. A. Gabrielle et al. *Braz J Pharm Sci.* 2014. Vol. 50(1). P.55-62.
31. Tsaïoun K., Blaauboer B. J., Hartung T. Evidence-based Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion (ADME) and its Interplay with Alternative Toxicity Methods. *Altex.* 2016. Vol. 33(4). P. 343-358.

ДОДАТКИ



National University of Pharmacy
Національний фармацевтичний університет

Industrial Technology of Medicines and Cosmetics
Кафедра промислової технології ліків та
косметичних засобів



CERTIFICATE № 119

СЕРТИФІКАТ

This is to certify that
Цим посвідчується, що

Берендяева А. С.

has participated in the XI International Scientific-Practical Conference
брав(ла) участь у XI Міжнародній науково-практичній конференції

"MODERN ACHIEVEMENTS OF PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY"
«СУЧАСНІ ДОСЯГНЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ТЕХНОЛОГІЇ»

November 27, 2024, Kharkiv, Ukraine
27 листопада 2024 року, Харків, Україна

Vice-Rector for scientific and pedagogical
work NUPh, professor

Проректор з науково-педагогічної
роботи НФаУ, проф.



Inna VLADYMYROVA

Інна ВЛАДИМИРОВА

