

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ
О.О.БОГОМОЛЬЦЯ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
ХІМІЇ ЛІКІВ ТА ЛІКАРСЬКОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ
(назва кафедри)

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Дослідження властивостей біологічно активної сполуки — похідної насиченого шестичленного гетероциклу з двома атомами Нітрогену за допомогою програм комп'ютерного прогнозування»

Виконав: здобувач вищої освіти 6 курсу, групи 1082А
напряму підготовки (спеціальності)
226 «Фармація, промислова фармація»
(шифр і назва напряму підготовки, спеціальності)

Фармацевтичний факультет, заочна форма навчання
Освітньо-кваліфікаційний рівень «магістр»

«Фармація»
(назва освітньої програми)

Гаврющенко Альвіна Андріївна
(прізвище та ініціали)

Керівник: проф., д.м.н. Ніженковська І.В.
(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент: к.б.н. Мелешко Р.А.
(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Київ – 2025-2026 р.р.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	10
 РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ УРАЦИЛІВ.....	10
1.1. Особливості хімічної будови	10
1.2. Хімічні модифікації.....	15
 РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ КОМПОЗИЦІЙ УРАЦИЛІВ.....	18
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості	18
 РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	22
 ВИСНОВКИ.....	35
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	36
SUMMARY.....	40
ДОДАТОК 1.....	41

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- БАР – біологічно активні речовини
- ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія
- г – грам
- ГРХ – газо-рідинна хроматографія
- ДМСО – диметилсульфоксид
- ДМФА – диметилформамід
- ІЧ спектр – інфрачервоний спектр
- ЛЗ – лікарські засоби
- мкл – мікролітр
- мкм – мікромметр
- мл – мілілітр
- ММ – молекулярна маса
- нм – нанометр
- РХ – рідинна хроматографія
- см⁻¹ – обернений сантиметр
- Спектр ПМР – спектр протонно-магнітного резонансу
- ТМС – тетраметилсілан
- ТГФ – тетрагідрофуран
- Т. кип. – температура кипіння

T. пл. – температура плавлення

ТСХ – тонкослойная хроматография

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

ЯМР ^1H – спектр ядерно-магнітного резонансу протонний

АА – адипінова кислота

Alk – алкіл-радикал

Ar – арил-радикал

$^{\circ}\text{C}$ – градуси Цельсія

Hal – галоген

Heterocycl– гетероциклічний фрагмент

ІРА – ізофталева кислота

J, Гц – значення константи спин-спінової взаємодії, герци

Ph – феніл

Py – піридин

SA – бурштинова кислота

ВСТУП

Актуальність теми. Карбіцил (Carbicyll) – науково-дослідний препарат, розроблений українським фармакологом, академіком І.С. Чекманом та його командою вчених. Це хімічна речовина нестероїдної структури з вираженою кардіотонічною дією, що активує енергетичний обмін у міокарді. Карбіцил – один із перших лікарських засобів, створених на основі теорії комплексоутворення ліків із біомембранами. Він застосовується переважно в експериментальних дослідженнях для вивчення впливу на серцево-судинну систему.

Характеристики Карбіцилу:

- Кардіотонічний, метаболічний препарат. Фармакологічна група: належить до метаболічних засобів, до похідних пуринових та піримідинових основ (разом із метилурацилом та оротовою кислотою).
- Дія: підвищує енергетичні процеси в серцевому м'язі (міокарді). Виступає як метаболічний кардіотонік, активує процеси енергоутворення та інтенсивність енергетичного обміну в міокарді.
- Синтезований на основі досліджень академіка І.С. Чекмана в галузі фізико-хімічної та квантової фармакології.
- У наукових працях згадується як засіб, що покращує стан серцево-судинної системи при експериментальних патологіях та пневмоніях, оскільки сприяє детоксикації та енергозабезпеченню клітин. Використовується в наукових дослідженнях для вивчення впливу на роботу серця. Карбіцил не використовують широко як клінічний лікарський засіб.

- Карбіцил – це не поширений на фармацевтичному ринку лікарський засіб, а скоріше - це інструмент для наукових експериментів у галузі кардіології та фармакології, який продовжують досліджувати в наші часи.

Карбіцил (1,3-біс-(2-гідроксіетил)піримідин-2,4(1H,3H)-діон) — це синтетична речовина, за хімічною структурою – похідне урацилу (1,3-біс-(2-гідроксиетил)урацил), яка вивчалася в українській фармакологічній школі (рис. 1) [1-4].

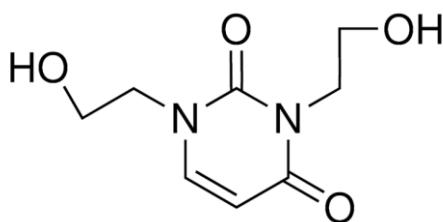


Рисунок 1. Хімічна формула Карбіцилу.

Особливості хімічної структури молекули Карбіцилу:

- Основа молекули – кільце урацилу. Є похідним урацилу (2,4-діоксопіримідину) - одного з фундаментальних азотистих основ.
- Каркас (скаффолд) – піримідинове ядро: шестичленне гетероциклічне кільце з двома атомами Нітрогену в позиціях 1 та 3.
- Оксогрупи: наявність двох карбонільних груп (C=O) у 2-му та 4-му положеннях кільця.
- Специфічне заміщення (Біс-модифікація) полягає в заміщенні атомів водню в обох атомів азоту в кільці:

позиції 1 і 3: до атомів Нітрогену приєднано два однакові бічні ланцюги — 2-гідроксіетильні групи (—CH₂—CH₂—OH); симетричність: молекула симетрична щодо центру кільця, характерним для «біс-з'єднань».

Функціональні характеристики:

Гідрофільність: наявність двох гідроксильних (ОН) груп на кінцях бічних ланцюгів робить молекулу добре розчинною і здатною до утворення водневих зв'язків.

Інотропна активність: така хімічна конфігурація (поєднання урацилового ядра та двох етанольних фрагментів) надає сполукі здатність впливати на силу серцевих скорочень (позитивний інотропний ефект) та енергетичний обмін у клітинах.

Відсутність «корони» -крауна: незважаючи на те, що Карбіцил вивчався в контексті хімії макроциклів (краун-ефірів), він є лінійним похідним і часто служить структурним фрагментом для синтезу складніших комплексів.

Дослідження молекул в умовах *in silico* стали останнім часом невід'ємним етапом вивчення біологічно активної молекули – від прогнозування її фізико-хімічних характеристик до фармакологічних властивостей та токсичності.

Основою раціонального дизайну ліків (*drug design*) є цілеспрямований пошук ефективних сполук (потенційних лікарських засобів) з дослідженням в умовах *in silico* та розробка шляхів необхідних хімічних модифікацій молекул відповідно до основних концепцій створення нових та перспективних хімічних з'єднань.

За допомогою програми комп'ютерного прогнозування Swiss TargetPredictio (SIB Swiss Institute of Bioinformatics), Protox тощо вибудовують певний дизайн молекули та досліджують всі характеристики випробовуваної сполуки. Прогнозування фізичних, хімічних та біологічних властивостей випробовуваної сполуки виконують на основі лігандів та за принципом гомології.

Актуальність роботи полягає у дослідженні неописаних у доступній літературі фізико-хімічних параметрів, фармакологічних та токсичних

властивостей біологічно активної сполуки Карбіцил – науково-дослідного препарату, кардіотонічного та метаболічного лікарського засобу. Карбіцил обмежено описаний в літературі та потребує різновекторних досліджень, які повинні розпочинатися з комп'ютерного аналізу програмами AI Tools технологій Swiss TargetPredictio (SIB Swiss Institute of Bioinformatics) та Protox. AI Tools технології з використанням штучного інтелекту (ШІ) відкриває можливості для розширення подальшого вивчення властивостей Карбіцилу як перспективного лікарського засобу.

Мета і завдання дослідження. Дослідити фізико-хімічні, фармакологічні та токсичні властивості лікарського засобу Карбіцил за допомогою AI Tools технологій (Swiss TargetPredictio та Protox) та аналізу його хімічної структури *in silico*.

Завдання дослідження:

- проаналізувати особливості хімічної структури лікарського засобу Карбіцил;
- виконати прогнозування фізико-хімічних та біологічних властивостей за допомогою AI Tools технологій (Swiss TargetPredictio та Protox) лікарського засобу Карбіцил;
- зробити порівняльний аналіз та інтерпретувати отримані результати щодо потенційних властивостей нових анельованих похідних урацилу та їх структурно споріднених сполук.

Методи дослідження. AI Tools технології (Swiss TargetPredictio, Protox), дослідження *in silico*, CADD (Computer-aided drug design), iLOGP (фізична модель ліпофільності), BOILED-Egg (інтуїтивна графічна модель класифікації для поглинання сполук у шлунково-кишковому тракті та їх доступу до мозкової тканини), структурні фізико-хімічні фільтри Lipinski, Veber, Egan; Bioavailability платформа.

Новизна та значення одержаних результатів. Новизна експериментального дослідження *in silico* полягає в імплементації отриманих

результатів аналізу особливостей хімічної структури лікарського засобу Карбіцил та прогнозування його властивостей з використанням AI Tools технології (Swiss TargetPredictio, Protox) у медичну та фармацевтичну практики.

Апробація результатів дослідження. Результат досліджень апробовано на науково-практичній конференції з міжнародною участю.

Публікації: За матеріалами дослідження опубліковано тези доповіді та зроблена усна доповідь на Науково-практичній конференції з міжнародною участю «PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА» в онлайн форматі 23 січня 2026 р., м. Київ, Україна.

Структура роботи: загальну кількість сторінок – 41, кількість розділів–3, кількість додатків–1, кількість використаних джерел – 28.

ОСНОВНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 1. СИНТЕЗ ТА ВЛАСТИВОСТІ УРАЦИЛІВ

1.1.Методи синтезу

Нуклеотиди є будівельними блоками РНК та ДНК в клітинах. Вільні нуклеотиди беруть участь у основних аспектах метаболізму. Важливість цього відображається в ретельному регулюванні їх внутрішньоклітинних рівнів.

АТФ є основною речовиною, що використовується для перенесення енергії від реакцій, що виробляють енергію, до процесів, що потребують енергії. ГТФ має особливе значення для синтезу білка. Нуклеотиди можуть реагувати як активовані проміжні продукти - нуклеозиддифосфатні цукри - УДФ-глюкоза та ЦДФ-діацилгліцерол. Вони беруть участь у синтезі вуглеводів та ліпідів. Вони є компонентами основних коферментів, деякі є вітамінами, гістидину.

Нуклеотиди діють метаболічні сигнальні молекули, нуклеозид-5'-фосфати, модифіковані нуклеотиди - 3',5'-циклічний аденозинмонофосфат (АМФ), гуанозинтетрафосфат (ppGpp), 3',5'-циклічний диГМФ.

Нуклеотиди синтезуються *de novo* з малих молекул-попередників, з попередньо сформованих основ і нуклеозидів за допомогою шляхів утилізації.

Основна увага приділяється метаболізму нуклеотидів *Bacillus subtilis*. Ця грампозитивна бактерія демонструє властивості, що нагадують вивчені бактерії, такі як *Escherichia coli* та нижчі еукаріоти (рис.1.1.1).

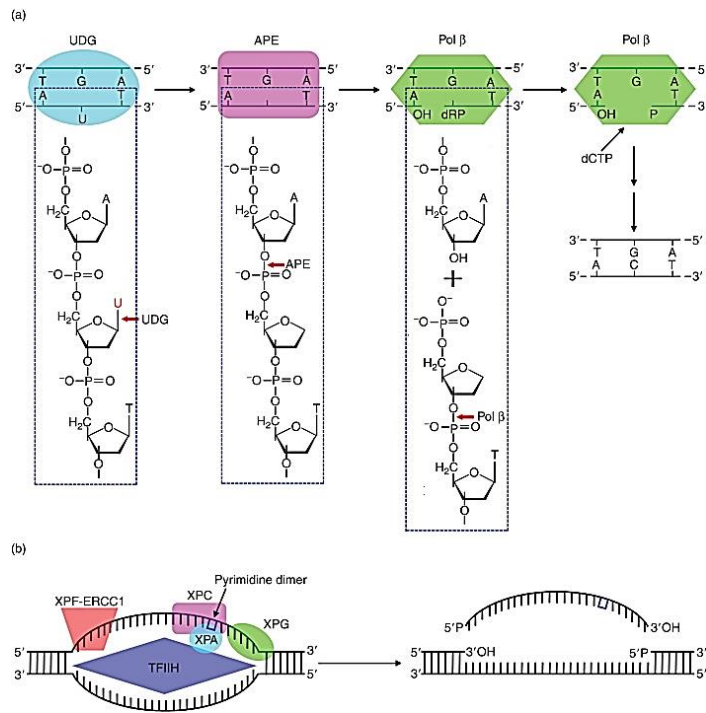


Рисунок 1.1.1. Нуклеотиди та їх функції.

Аналоги піримідину та фторпіримідини. Аналоги піримідину є антиметаболітами, які перешкоджають синтезу нуклеїнових кислот.

Це гідрофільні молекули, які потребують спеціалізованих мембранних транспортерів для потрапляння в клітини. Внутрішньоклітинні ферменти - дезоксицитидинкіназа, перетворюють препарати на активні метаболіти шляхом фосфорилування. Антипроліферативний ефект досягається шляхом включення в ДНК. Це викликає обрив ланцюга та пригнічення синтезу ДНК. Вони можуть впливати на ферменти [5-10]. Азациитидин – аналог нуклеозиду цитидину, який пригнічує метилювання ДНК. Аберантне метилювання ДНК є ознакою мієлоїдної злоякісності, може призвести до епігенетичного заглушення генів-супресорів пухлин. Це пов'язано з поганими клінічними результатами. Азациитидин пригнічує ДНК-метилтрансферазу, має протилейкемічну дію через індукцію клітинної диференціації шляхом реактивації заглушених генів, пряму цитотоксичність. Схвалення було надано Управлінням з контролю за продуктами харчування та лікарськими засобами США [11-15].

5-Фторурацил (5-FU) – аналог фторпіримідину, розроблений понад 50 років тому. Він продовжує широко використовуватися в лікуванні раку. Фторурацил є основою комбінованих схем хіміотерапії. Він використовується в лікуванні колоректального раку, раку молочної залози, дихальних шляхів та травного тракту. При колоректальному раку спостерігаються вищі показники відповіді та краща переносимість при інфузіях, ніж при болюсних режимах, з додаванням лейковорину. Диверсифікація антитіл під час гуморальної відповіді. Наївні та В-клітини пам'яті взаємодіють зі спорідненим антигеном через свій поверхневий В-клітинний рецептор та можуть ініціювати генетичні механізми для модифікації генів імуноглобулінів (Ig).

Метою змін, які найчастіше відбуваються всередині зародкового центру, є зміна афінності та функції антитіла. Це досягається процесами соматичної гіпермутації (SHM), рекомбінації перемикання класів (CSR). SHM і CSR ініціюються ферментом [15-18]. SHM та CSR можна описати як біохімічні шляхи, в яких один фермент генерує субстрат. Деякі види використовують механізм на основі рекомбінації, який називається конверсією генів Ig, на додаток до SHM для диверсифікації IgV. Ці процеси механістично пов'язані та ініціюються AID через одну ферментативну реакцію: дезамінування цитозинових основ ДНК для перетворення їх на урацили.

Активаційно-індукована дезаміназа. AID виявлена як фактор, що підвищується в лінії В-клітин лімфоми мишей CH12F3 після стимуляції CSR. Генетична недостатність продемонструвала, що AID є важливим для SHM та CSR у мишей та людей, для конверсії генів Ig у курячих DT40 В-клітинах. Ідентифікація AID була важливою для розкриття молекулярних механізмів диверсифікації генів вторинних антитіл. AID ініціює каскад репарації ДНК. Робота призвела до детального розуміння каскаду біохімічних реакцій. Вони починаються з розпізнавання AID-каталізованих урацилів у ДНК та лежать в основі SHM та CSR.

Молекулярні механізми, ініційовані AID для SHM та CSR, подібні, але не еквівалентні. AID можна вважати необхідним після дезамінування. CSR може бути запущений незалежно від AID сайт-специфічною ендонуклеазою. Частота AID-незалежної CSR нижча, ніж природної CSR. Їй бракує переважної орієнтації, яка робить CSR ефективною. Функціональний опис націлювання AID на локуси Ig значно просунувся за останні роки. Невирішеними питаннями є: яка молекулярна основа переваги AID для суперенхансерів. Чому локуси Ig є мішенню набагато частіше, ніж інші гени, які пов'язані з суперенхансерами та транскрибуються подібним чином. Роль транскрипційних факторів у націлюванні AID.

У всіх клітинах дезамінування цитозину до урацилу поступається лише депуринізації - найпоширенішій гідролітичній події пошкодження ДНК. Апуриновий/апіримідиновий (AP) сайт є переважно цитотоксичним ураженням. Він пригнічує реплікацію або транскрипцію, дезаміновані цитозини призводять до перехідних мутацій G · C до A · T. Вони не репаруються перед синтезом ДНК. Деяка частина dUTP уникає гідролізу dUTPase. Це призводить до введення певної кількості урацилу в ДНК навпроти аденіну під час реплікації. Урацил видаляється з ДНК специфічним монофункціональним ферментом урацил-ДНК-глікозилази у всіх організмах, включаючи ті, що живуть за найвищих температур. Після ферментативно-каталізованого, а також спонтанного видалення основ. Один нуклеотид повторно вставляється послідовною дією 5'-діючої AP-ендонуклеази, 5'-дезоксирибозофосфат (5'-dRP) ліази, ДНК-полімерази, ДНК-лігази. Вони утворюють режим короткої ланки шляху ексцизійної репарації основ (BER). У еукаріотів - ссавці, активність 5'-dRP ліази (35, 41) є функцією ДНК-полімерази β .

BER є кількісно найважливішим механізмом репарації для видалення спонтанно утворених модифікацій основ у ДНК. Він необхідний для забезпечення цілісності геному.

Залишок 5'-AP-сайту після розрізу ланцюга блокує лігування. Якщо він хімічно модифікований таким чином, що ефективно видалення 5'-dRP-ліазою перешкоджає, полімеризація продовжиться після одного нуклеотиду. Нижній ланцюг ДНК зміщується. Режим BER з довгою ділянкою генерує дислокований одноланцюговий клапоть ДНК. Він видаляється структурно-специфічною ендонуклеазою клапця для підготовки до лігування [18-22].

Шлях BER є найважливішим механізмом для видалення «неминучих» пошкоджень ДНК. Вони утворюються внаслідок гідролізу та метаболічних процесів. Він мало вивчений у архей. Було досліджено лише два гіпертермофільних археони: аеробний кренархей *Rugobasulum aerophilum* та анаеробний евриархей *Archaeoglobus fulgidus*. *R. aerophilum* здійснює заміну урацилу загальним способом. *A. fulgidus* віддає перевагу використанню 3'-діючої AP-ліази, а потім 3'-фосфодіестерази, для видалення проміжного сайту AP. Обидва організми використовують підшлях репарації коротких ділянок.

BER для підтримки геному. Дослідили шлях BER у евриархеоні *Thermoplasma acidophilum* (оптимальна температура 59°C). Вона має найменший геном (1,56491 Мб.п.н.) серед вільноживучих організмів. Аргументом на користь вибору евриархеона, а не кренархеона, є те, що перший є більш підходящою моделлю для механізму обробки інформації еукаріотичних клітин. Екстракт клітин *T. acidophilum* виконував BER уражень, викликаних урацилом, інакше, ніж екстракти клітин раніше досліджених *R. aerophilum* та *A. fulgidus*. Перевага надавалася одонуклеотидній заміні. *T. acidophilum* здатний ефективно виконувати АТФ/АДФ-стимульований BER з довгими латками у присутності дезоксинуклеозидтрифосфатів (dNTP).

Після отримання та характеристики рекомбінантних версій ініціювального UDG (rTaUDG; рамка зчитування [ORF] Ta0477) та термінуючої ДНК-лігази (rTalg; Ta1148). Відомо про молекулярне прийняття рішень між підшляхами репарації коротких та довгих латок у архей. Висока концентрація rTaUDG спрямовує репарацію в режим коротких латок для економії енергії та підготовки клітини до швидкого лігування ДНК. Перша демонстрація регуляторної ролі UDG у репарації пов'язана з очевидною відсутністю гомологів XRCC1 (для перехресної комплементатії рентгенівської репарації 1) та полі(АДФ-рибозної) полімерази 1 або 2 (PARP1/2) у архей, білків - виконують такі регуляторні функції у еукаріотів [21-25].

1.2.Хімічні модифікації

Культивування *T. acidophilum* та приготування клітинного екстракту. Штам типу *T. acidophilum* DSM вирощували при 56°C у середовищі DSMZ 158. Клітини збирали в експоненціальній фазі центрифугуванням та зберігали при -20°C. Клітинний екстракт готували шляхом розморожування та ресуспендування клітин: 70 mM MOPS [3-(N-морфоліно)пропансульфоновій кислоті (pH 7,5)], 1 mM EDTA, 1 mM дитіотреїтолі (DTT), у гліцерині, в 45 mM HEPES-KOH (pH 7,8), 0,4 mM EDTA, 1 mM DTT та 2% гліцерині.

Потім процедурк проводили з подальшим лізисом клітин шляхом заморожування у 70% етанольній бані, обережного розморожування у крижаній бані з вихровим перемішуванням. Для екстракції використовували 5 мл буфера на г клітинного матеріалу. Клітинний дебрис видаляли високошвидкісним центрифугуванням за допомогою мікроцентрифуги. Клітинні екстракти зберігали при -70°C. Зразок замороженого екстракту розморожували та використовували один раз.

Ферментативний аналіз активності UDG. Субстратну ДНК інкубували з білковим екстрактом, ферментом у 50 мкл 70 мМ MOPS (pH 7,5), 1 мМ EDTA, 1 мМ DTT, 100 мМ KCl та 5% гліцерину при 60°C. ДНК, що містить [3H]урацил (1110 dpm/pmol). Аналізи для розрізу фрагментів ДНК з урацилом у складі. Одноланцюгові олігонуклеотиди (кінець захищений фосфоротіоатом, щоб уникнути деградації субстрату нуклеазами, присутніми в клітинному екстракті; температура 65,8°C), з залишком урацилу, були поставлені Eurogentec S.A., мічені 32P на 5'-кінці за допомогою T4 полінуклеотидкінази та [γ -32P]ATP (Amersham Biosciences). Або - на 3'-кінці шляхом подовження на один нуклеотид за допомогою [α -32P]dCTP (PerkinElmer NEN, NEG513H) або [α -32P]dATP кордицепіну (PerkinElmer NEN, NEG026250UC), термінальної дезоксинуклеотидилтрансферази (Amersham Biosciences). Потім очищені на 20% поліакриламідних гелях, що містять 7 М сечовини.

Дволанцюгові олігонуклеотидні субстрати отримані шляхом відпалу одноланцюгового олігомеру, міченого 32P, до комплементарного ланцюга із залишком А або G - навпроти U. Субстрат 1 - це 5'-, мічений 32P. G навпроти U, субстрати 2a та 2b мають таку ж послідовність, як і субстрат 1. Вони мічені 3' [α -32P]dCMP та [α -32P]dAMP кордицепіном. Реакції з клітинним екстрактом проводили в 45 мМ HEPES-KOH (pH 7,8), 0,4 мМ EDTA, 1 мМ DTT, 70 мМ KCl та 2% гліцерині, завершували додаванням 20 мМ EDTA, 0,5% SDS та протеїнази К (190 мкг/мл) з подальшою інкубацією. Після проводили екстракцію фенол-хлороформ-ізоаміловим спиртом (25:24:1) та осадження етанолом. Розділення продуктів розрізу проводили на 20% поліакриламідних гелях. Вони містять 7 М сечовини, з часом витримки 3 години при 300 В. Інкубацію з E. coliUng + AP-ендонуклеазою (Nfo) або AP-ліазою (Nth або Fpg) проводили для визначення 3'-кінця розрізаної ДНК. E. coliUng було надано Invitrogen (18054-015); Nfo надано Trevigen (4050-100-EB). Білки Nth та Fpg подаровані Serge Boiteux. Інкубацію з лужною фосфатазою (50 U; Invitrogen, 18011-015) проводили при 65°C.

Аналіз BER. Загальний опис аналізів, що контролюють BER. Дволанцюговий олігонуклеотидний субстрат з урацилом (субстрат 3, який є ідентичною неміченою версією субстрату 1), інкубували з клітинним екстрактом у реакційному буфері 2, доповненому 5 мМ MgCl₂, 40 мкМ dATP, 40 мкМ dTTP, 40 мкМ dGTP та [α -32P]dCTP (для виключно моніторингу репарації довгих ділянок, доповненому [α -32P]dTTP замість [α -32P]dCTP) у суміші об'ємом 10 мкл, 20 мкл. Проміжні продукти та продукти репарації розділяли для аналізів інцизії. Клітинний екстракт фільтрували через гель за допомогою колонок MicroSpin Sephacryl HR (S-400), що постачаються GE Healthcare (27-5140-01). Вони були врівноважені 10 мМ Tris–1 мМ EDTA (pH 7,6) (TE-буфер). ДНК-лігазні аналізи. Утворення ДНК-лігази-аденілату досліджували, використовуючи [α -32P]ATФ (3000 Ки/ммоль, 10 мКи/мл; BLU503H250UC), [α -32P]dATФ (3000 Ки/ммоль, 10 мКи/мл; NEG512H250UC), [32P]НАД (800 Ки/ммоль, 5 мКи/мл; NEG023X250UC). Вони постачаються PerkinElmer NEN (NEG023X250UC) як косубстрати. rTalg (1 одиниця ДНК-лігази T4 - Fermentas [EL0015, 1 одиниця/мкл], використовується як позитивний контроль) інкубували з радіоактивно міченим нуклеотидом у 50 мМ Tris-HCl (pH 7), 5 мМ DTT та 0,1 мМ MgCl₂ при 50°C, у суміші об'ємом 20 мкл. Ефективність аденілювання в пмоль нуклеотиду, зв'язаного з ферментом розраховували, використовуючи ступінь аденілювання ДНК-лігази T4 - внутрішній стандарт. Реакції зупиняли додаванням SDS до 1%. Продукти реакції розділяли за допомогою SDS-PAGE. Аналіз лігування ДНК - за методом Muerhoff та Poidevin з деякими модифікаціями. Концентрації білка визначали методом Бредфорда з використанням BSA - як стандарту. Використовували маркери розміру дезоксиолігонуклеотидів від 6 до 61 нуклеотиду (нт), мічені на 3'-кінці шляхом одонуклеотидного подовження з використанням [α -32P]dATP-кордицепіну NEN (NEG026250UC), термінальної дезоксинуклеотидилтрансферази Fermentas (EP0161).

РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ КОМПОЗИЦІЙ УРАЦИЛІВ

2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості

Видалення урацилу з ДНК за допомогою клітинного екстракту *T. acidophilum*. Високотемпературні умови росту *T. acidophilum* свідчать про швидкість спонтанного гідролітичного дезамінування цитозинів ДНК на урацили. Це вимагає репарації урацилу. Інкубація ДНК, міченої [3H]урацилом (субстрат UDG з урацилом навпроти аденіну) з клітинним екстрактом *T. acidophilum* при рН 7,5. Це відповідає оптимальній температурі росту *T. acidophilum*, призвела до білок-залежного вивільнення урацилу з ДНК. У межах використаних концентрацій білка за найкоротших часів інкубації реакція проходила за лінійним ходом. Максимальне вивільнення урацилу з ДНК становило 0,2 фмоль/хв/мкг білка (рис. 2.1.1)

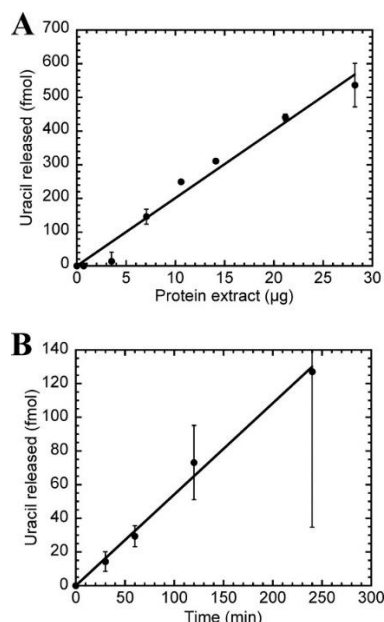


Рисунок 2.1.1. Залежність від білка та часу для видалення урацилу з ДНК клітинного екстракту *T. acidophilum*. Різні кількості клітинного екстракту інкубували з ДНК - містить [3H]урацил в реакційному буфері 1 при 60°C.

Кожна точка даних представляє середнє значення трьох незалежних вимірювань.

Характеристика продуктів після видалення урацилу з ДНК за допомогою екстракту клітин *T. acidophilum*. Після видалення пошкоджених, неспоріднених основ за допомогою ДНК-глікозилази, більшість досліджуваних організмів використовують гідролітичні функції AP-ендонуклеази для розрізу ДНК 5' до AP-сайту. Визначено ендонуклеазою IV *E. coli* (Nfo). Результатом є 3'-кінець, закріплений вільною ОН-групою. Вона необхідна для репараційної реплікації. Інша можливість полягає в тому, що функція AP-ліази розрізає ДНК 3' до AP-сайту за допомогою механізму β -елімінування. Залишається залишок AP-сайту на 3'-кінці у вигляді 3'- α,β -ненасиченого альдегіду або у вигляді 3'-фосфатної групи, якщо за реакцією β -елімінування слідує δ -елімінування. Використовували ендонуклеазу III *E. coli* (Nth) для визначення 3'- β продукту та ДНК-глікозилазу *E. coli* (Fpg) для визначення 3'- δ продукту. 3'- α,β -ненасичений альдегід і 3'-фосфат блокують полімеризацію ДНК і повинні бути видалені відповідно 3'-фосфодіестеразою та 3'-фосфатазою перед репараційною реплікацією (рис. 2.1.2).

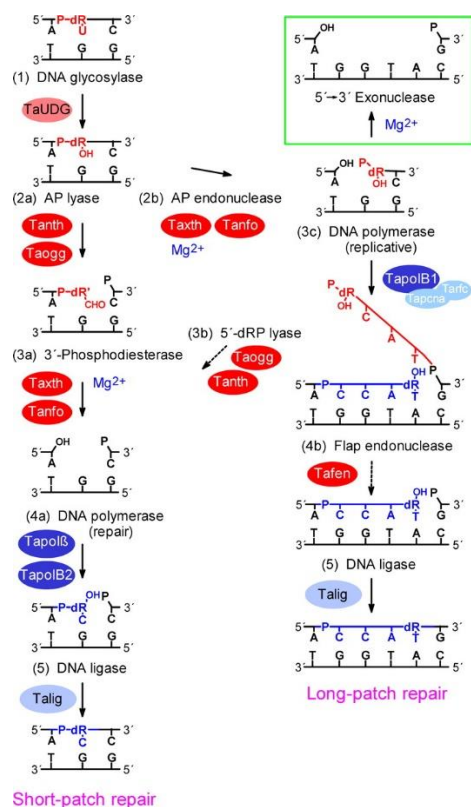


Рисунок 2.1.2. Діаграма етапів шляху BER *T. acidophilum* для репарації урацилу в ДНК. Видалені залишки та результати заміни; білки з підтвердженою біохімічною активністю; білки на основі геномних послідовностей (ORF).

Гени, що кодують білки, є наступними: TaUDG, Ta0477 (Q9HKW6); Taogg, Ta0014m (Q9NM55); Tanth, Ta0790m (Q9HK18); Tanfo, Ta0891 (Q9HJS3); Taxth, Ta1506m (exoA) (Q9HI41); Tapol β , Ta0758 (Q9HK48); TapolB1, Ta0907 (PCNA-зв'язування, вказує на PCNA-залежне постреплікативне сприйняття урацилу) (Q9HJR0); TapolB2, Ta0450 (Q9HKZ3); Tarfc, велика субодиниця (Ta1285 [Q9HIP7]) та мала субодиниця (Ta1500m [Q9HI47]).

Деякий 3'-ОН продукт спостерігався, коли MgCl₂ не додавали. Продукт δ -елімінації визначений *E. coli*Fpg не виявлено. Специфічна функція ендонуклеази AP визначена *E. coli*Nfo та спостерігалася, коли значна фракція надрізаної ДНК містила 5'-dRP фрагмент. Це показано, коли ланцюг, що

містить урацил, був мічений ^{32}P на 3'-кінці. Переважали 5'-фосфати, визначені *E. coli*Fpg або Nth (дані не показані). dRP фрагменти значною мірою відокремлюються від 5'-кінців в лужних умовах під час електрофорезу, залишаючи 5'-фосфатні кінці. Кількість спостережуваних 5'-dRP кінців слід вважати заниженою. У контрольній доріжці - не додавали клітинний екстракт, надрізу не спостерігалось. Наявність фосфатної групи на обох типах 5'-кінців, утворених шляхом розрізу AP-сайту була підтверджена обробкою лужною фосфатазою [18-28] (рис. 2.1.3, 2.1.4).

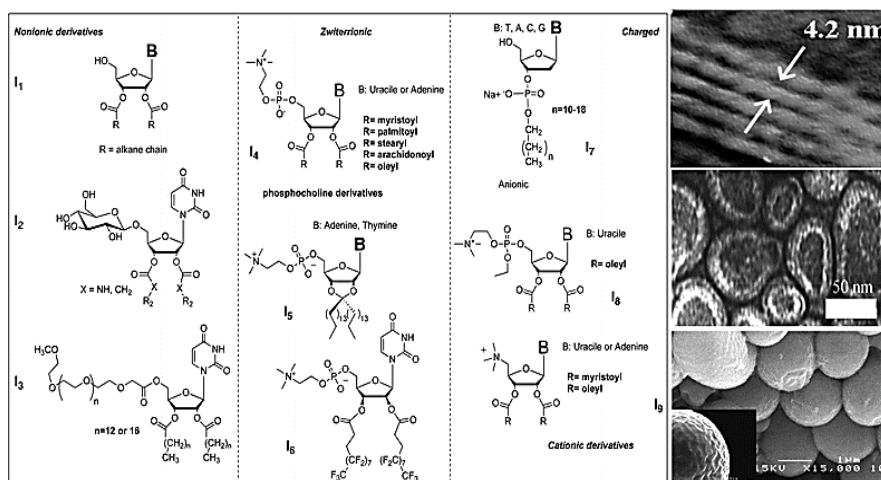


Рисунок 2.1.3. Нуклеозиди, нуклеотиди та олігонуклеотиди амфіфільні.

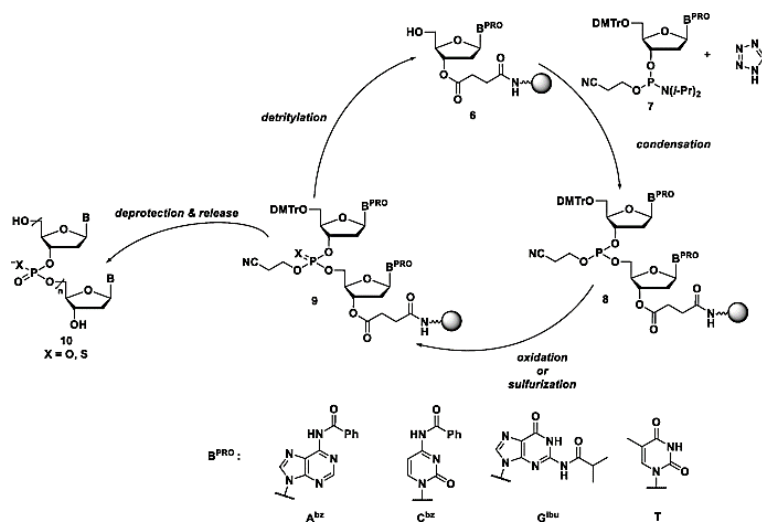


Рисунок 2.14. Нові молекулярні технології для олігонуклеотидів терапевтичних.

РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Карбіцил або (1,3-біс-(2-гідроксіетил)піримідин-2,4(1H,3H)-діон є похідною гетероциклу урацилу, в молекулі якої присутні функціональні групи: оксогрупи: двох карбонільних груп (C=O) у 2-му та 4-му положеннях кільця, до атомів Нітрогену приєднано два однакові бічні ланцюги — 2-гідроксіетильні групи ($\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—OH}$) (рис. 3.1).

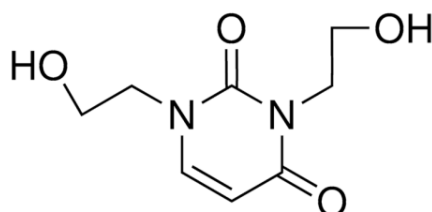


Рисунок 3.1. Хімічна формула Карбіцилу.

Основа молекули – кільце урацилу. Каркас (скаффолд) – піримідинове ядро: шестичленне гетероциклічне кільце з двома атомами Нітрогену в позиціях 1 та 3.

Синтез лікарського засобу Карбіцил (Carbicil)

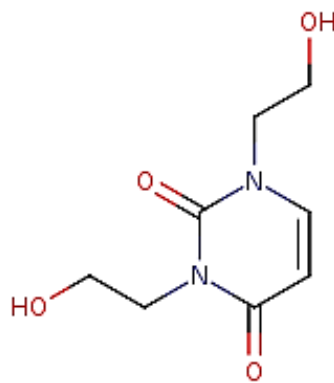
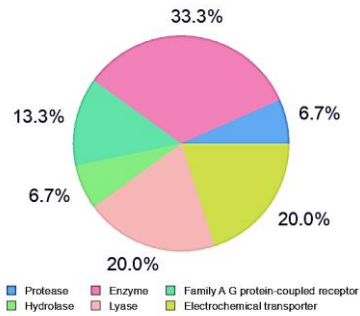
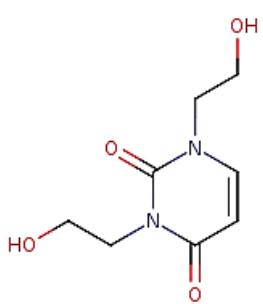
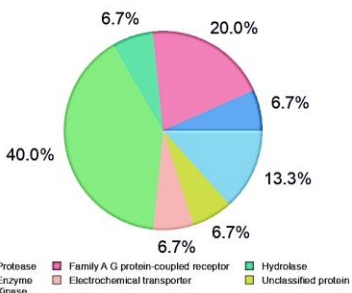
- Оскільки це похідне урацилу, базовий синтез включає модифікацію піримідинового кільця.
- Урацил можна отримати шляхом конденсації сечовини з яблучною кислотою в присутності сульфатної кислоти. Подальша хімічна модифікація (введення специфічних радикалів) перетворює його на карбіцил.

Отримані результати:

Мета експериментальної роботи: дослідити фізико-хімічні, фармакологічні та токсичні властивості лікарського засобу Карбіцил за допомогою AI Tools технологій (Swiss TargetPredictio та Protox) та аналізу його хімічної структури *in silico*, CADD (Computer-aided drug design).

Результати комп'ютерного аналізу молекули Карбіцилу представлено у таблицях 3.1, 3.2, на рисунку 3.2.

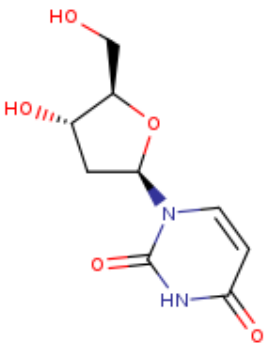
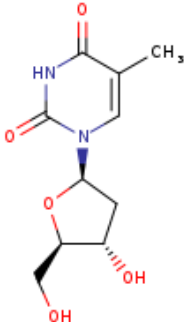
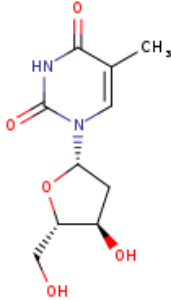
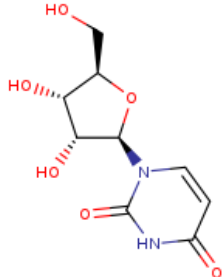
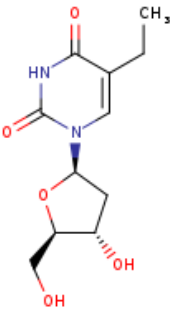
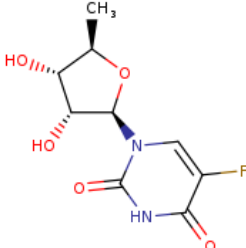
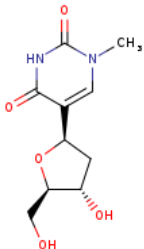
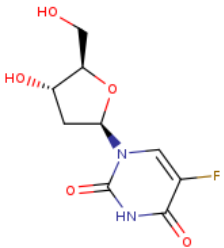
Таблиця 3.1. Результати інструментарію *SwissDock* (працює на основі EADock DSS) для прогнозування молекулярних взаємодій, які можуть виникнути між цільовим білком і малою молекулою; інструментарію *SwissParam* – наближення вільної енергії зв'язування ліганд з мішенню, використовується для порівняння різних комбінацій мішеней/лігандів (організм людини, *mus musculus*).

 <i>SwissDock</i>	
<i>Організм людини (Homo sapiens)</i>	
	
<i>Миші (Mus musculus)</i>	
	
 <i>SwissParam</i>	

SwissTargetPrediction						
Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Epoxide hydrolase 1 (by homology)	EPHX1	P07099	CHEMBL1968	Protease	0.0312265582077	2 / 0
Purine nucleoside phosphorylase	PNP	P00491	CHEMBL4338	Enzyme	0.0312265582077	50 / 0
Adenosine A1 receptor (by homology)	ADORA1	P30542	CHEMBL226	Family A G protein-coupled receptor	0.0312265582077	212 / 106
Lysosomal alpha-glucosidase	GAA	P10253	CHEMBL2608	Hydrolase	0.0312265582077	4 / 0
Alpha-L-fucosidase I	FUCA1	P04066	CHEMBL4176	Enzyme	0.0312265582077	36 / 0
Bifunctional protein NCOAT	OGA	O60502	CHEMBL5921	Enzyme	0.0312265582077	33 / 0
Adenosylhomocysteinase	AHCY	P23526	CHEMBL2664	Enzyme	0.0312265582077	80 / 0
Adenosine A2a receptor (by homology)	ADORA2A	P29274	CHEMBL251	Family A G protein-coupled receptor	0.0312265582077	175 / 30
Hydroxyacid oxidase 2 (by homology)	HAO2	Q9NYQ3	CHEMBL2169732	Enzyme	0.0312265582077	25 / 0
Carbonic anhydrase II	CA2	P00918	CHEMBL205	Lyase	0.0312265582077	66 / 0
Carbonic anhydrase I	CA1	P00915	CHEMBL261	Lyase	0.0312265582077	66 / 0
Low affinity sodium-glucose cotransporter	SLC5A4	Q9NY91	CHEMBL1770047	Electrochemical transporter	0.0312265582077	9 / 0
Sodium/glucose cotransporter 2	SLC5A2	P31639	CHEMBL3884	Electrochemical transporter	0.0312265582077	121 / 0
Sodium/glucose cotransporter 1	SLC5A1	P13866	CHEMBL4979	Electrochemical transporter	0.0312265582077	58 / 0
Carbonic anhydrase XII	CA12	O43570	CHEMBL3242	Lyase	0.0312265582077	47 / 0
Carbonic anhydrase IX	CA9	Q16790	CHEMBL3594	Lyase	0.0312265582077	45 / 0
Glutamate carboxypeptidase II	FOLH1	Q04609	CHEMBL1892	Protease	0.0312265582077	28 / 0
Cytidine deaminase	CDA	P32320	CHEMBL4502	Enzyme	0.0312265582077	25 / 2
Cyclin-dependent kinase 1	CDK1	P06493	CHEMBL308	Kinase	0.0	2 / 0
Liver glycogen phosphorylase	PYGL	P06737	CHEMBL2568	Enzyme	0.0	27 / 0
Adenosine kinase	ADK	P55263	CHEMBL3589	Enzyme	0.0	46 / 0
Glutathione S-transferase Pi	GSTP1	P09211	CHEMBL3902	Enzyme	0.0	3 / 0
Glutathione S-transferase Mu 2	GSTM2	P28161	CHEMBL4589	Enzyme	0.0	3 / 0
Fructose-1,6-bisphosphatase	FBP1	P09467	CHEMBL3975	Enzyme	0.0	19 / 0
Aldo-keto-reductase family 1 member C3	AKR1C3	P42330	CHEMBL4681	Enzyme	0.0	66 / 0
Aldo-keto reductase family 1 member C2	AKR1C2	P52895	CHEMBL5847	Enzyme	0.0	49 / 0
Methionine aminopeptidase 1	METAP1	P53582	CHEMBL2474	Protease	0.0	1 / 0
Adenosylhomocysteinase 2	AHCYL1	O43865	CHEMBL3751646	Enzyme	0.0	3 / 0

Таблиця 3.2. Результати інструментарію *SwissSimilarity* - віртуального скринінгу на основі лігандів (використовували комбінаторні бібліотеки, принцип гомології).

	<i>SwissSimilarity</i> Знайдено 400 аналогів Комбінаторні бібліотеки Принцип гомології
---	--

DB02256, 2'-Deoxyuridine Score : 0.957 	DB04485, Thymidine Score : 0.953 	DB01265, Telbivudine Score : 0.952 	DB02745, Uridine Score : 0.949 
DB13421, Edoxudine Score : 0.945 	DB12947, Doxifluridine Score : 0.935 	DB03763, 5-methyl-2'-deoxypseudouridine Score : 0.934 	DB00322, Floxuridine Score : 0.923 

2'-Deoxyuridine. An antimetabolite that is converted to deoxyuridine triphosphate during DNA synthesis. Laboratory suppression of deoxyuridine is used to diagnose megaloblastic anemias due to vitamin B12 and folate deficiencies. Groups Experimental

2'-Дезоксиуридин. Антиметаболіт, який перетворюється на дезоксиуридинтрифосфат під час синтезу ДНК. Лабораторне пригнічення дезоксиуридину використовується для діагностики мегалобластичних анемії, спричинених дефіцитом вітаміну B12 та фолієвої кислоти. Експериментальні групи

Thymidine is a deoxynucleoside that is a fundamental building block of DNA used to treat thymidine deficiency. Groups Approved, Investigational

Тимидин – це дезоксинуклеозид, який є фундаментальним будівельним блоком ДНК, що використовується для лікування дефіциту тимідину.

Група- схвалені для дослідження.

Telbivudine is a thymidine nucleoside analog used for the treatment of chronic hepatitis B with clinical evidence of viral replication or persistent elevations in serum aminotransferases (ALT or AST).

Groups Approved, Withdrawn

Телбівудин – це аналог тимідинового нуклеозиду, який використовується для лікування хронічного гепатиту В з клінічними ознаками реплікації вірусу або стійким підвищенням рівня сироваткових амінотрансфераз (АЛТ або АСТ). Група- схвалені для дослідження, призупинено.

Uridine is a drug used to manage neuropsychiatric deficits associated with cerebrovascular diseases in combination with cytidine. Groups Approved, Withdrawn

Уридин – це препарат, який використовується для лікування нейропсихіатричних дефіцитів, пов'язаних з цереброваскулярними захворюваннями, у поєднанні з цитидином. Група- схвалені для дослідження.

Edoxudine is a deoxythymidine analog used to treat herpetic keratitis. Groups Approved, Withdrawn

Едоксудин – це аналог дезокситимідину, який використовується для лікування герпетичного кератиту. Група- схвалені для дослідження, призупинено.

Doxifluridine has been investigated for the treatment of Stomach Cancer. Groups Investigational

Доксифлуридин досліджували для лікування раку шлунка.

Група- схвалені для дослідження.

Floxuridine is an antimetabolite used as palliative management for liver metastases of gastrointestinal malignancy. Groups Approved, Investigational

Флоксуридин – це антиметаболіт, який використовується як паліативне лікування метастазів шлунково-кишкових злоякісних новоутворень у печінці. Група- схвалені для дослідження.

На рисунку 3.2. представлена модель BOILED-Egg (інтуїтивна графічна модель класифікації для поглинання сполуки Карбіцилу у шлунково-кишковому тракті та можливість проникнення у тканину мозку (біодоступність Карбіцилу): шляхом обчислення ліпофільності та полярності малих молекул (ліків).

BOILED-Egg - інтуїтивна графічна модель класифікації для поглинання сполук у шлунково-кишковому тракті та їх доступу до мозкової тканини

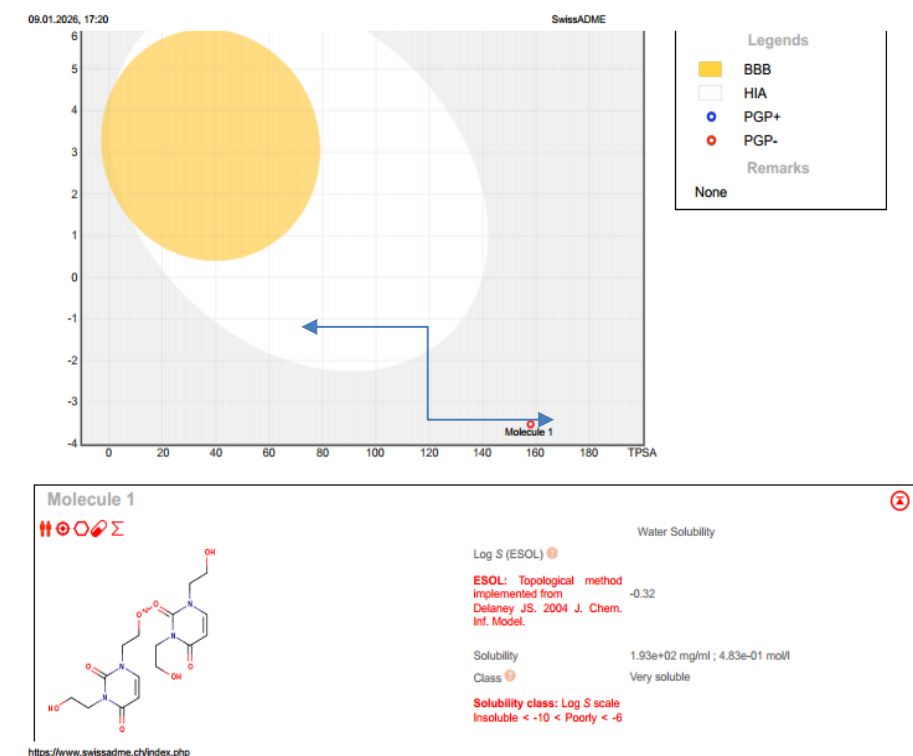


Рисунок 3.2. ВВВ- гематоенцефалічний бар'єр, РGР⁻ - глікопротеїн, негативна – стійкість до проникнення у мозкову тканину. Проникнення у ШКТ.

Сонячна сторона вгору: модель для одночасної оцінки доступу молекул до мозку та їх всмоктування у шлунково-кишковому тракті шляхом обчислення двох простих фізико-хімічних дескрипторів.

Прогнозовано фізико-хімічні характеристики Карбіцилу. Значення ліпофільності визначено за методом logP (коефіцієнт ліпофільності) (Вайлдман та Кріппен)) надає вичерпний хімічний опис.

Методи: iLOGP (фізична модель ліпофільності), logP (коефіцієнт ліпофільності) (Вайлдман та Кріппен)), структурні фізико-хімічні фільтри Lipinski, Veber, Egan; Bioavailability платформа.

Аналогічно розраховували топологічну площу полярної поверхні (tPSA). iLOGP (фізична модель ліпофільності), аналіз за фізико-хімічними фільтрами Lipinski, Veber, Egan; даними Bioavailability платформи представлено в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3. Результати прогнозування фізико-хімічних характеристик Карбіцилу.

Formula	C ₈ H ₁₂ N ₂ O ₄
Molecular weight	200.19 g/mol
Num. heavy atoms	14
Num. arom. heavy atoms	6
Fraction Csp ³	0.50
Num. rotatable bonds Кількість поворотних зв'язків	4
Num. H-bond acceptors Кількість. Н-зв. акцепторів	4
Num. H-bond donors Кількість Н-зв. донорів	2
Molar Refractivity Молярна рефракція	49.42
TPSA 	84.46 Å ²

Загальний простат-специфічний антиген, використовують в аналізі крові для діагностики захворювань простати.	
---	--

Lipophilicity/Ліпофільність	
Log $P_{o/w}$ (iLOGP) ?	1.42
Log $P_{o/w}$ (XLOGP3) ?	-1.98
Log $P_{o/w}$ (WLOGP) ?	-2.01
Log $P_{o/w}$ (MLOGP) ?	-0.97
Log $P_{o/w}$ (SILICOS-IT) ?	-0.58
Consensus Log $P_{o/w}$?	-0.82
Ліпофільність Log $P_{o/w}$	
Речовина є гідрофільною, водорозчинною.	

Water Solubility Розчинність у воді	
Log S (ESOL) ?	0.11
Solubility	2.60e+02 mg/ml ; 1.30e+00 mol/l
Class ?	Highly soluble Високо розчинна
Log S (Ali) ?	0.73
Solubility	1.07e+03 mg/ml ; 5.37e+00 mol/l
Class ?	Highly soluble Високо розчинна
Log S (SILICOS-IT) ?	-0.29
Solubility	1.02e+02 mg/ml ; 5.12e-01 mol/l
Class ?	Soluble
Pharmacokinetics Фармакокінетика	
GI absorption ? Гастроінтестинальна абсорбція	High Висока
BBB permeant ?	No
P-gp substrate ?	No
CYP1A2 inhibitor ?	No
CYP2C19 inhibitor ?	No
CYP2C9 inhibitor ?	No
CYP2D6 inhibitor ?	No
CYP3A4 inhibitor ?	No
Log K_p (skin permeation) ?	-8.93 cm/s
Druglikeness Спорідненість до ліків	

Lipinski ?	Yes; 0 violation- Позитивна
Ghose ?	No; 1 violation: WLOGP<-0.4
Veber ?	Yes- Позитивна
Egan ?	Yes - Позитивна
Muegge ?	Yes - Позитивна
Bioavailability Score ? Показник біодоступності	0.55

Показник біодоступності прогнозує, наскільки добре речовина засвоюється та використовується організмом після перорального прийому, діючи як швидкий фільтр для кандидатів у ліки. Такі показники, як *показник Ебботта*, вказують на ймовірність (наприклад, 85%, 56%, 11%) на основі молекулярних властивостей (площа полярної поверхні - ППП) потенційного успіху ($F > 10\%$). Це вирішальний показник у розробці ліків, який оцінює фракцію, що потрапляє в кровотік, часто з використанням обчислювальних моделей, що оцінюють фактори - розмір, заряд і полярність.

Medicinal Chemistry	
PAINS ?	0 alert
Brenk ?	0 alert
Leadlikeness ?	No; 1 violation: MW<250
Synthetic accessibility ? Синтетична доступність (SA Score), висока від 1 до 10.	2.16

Кольорова зона на діаграмі є відповідним фізико-хімічним простором для пероральної біодоступності (рис. 3.3, 3.4).

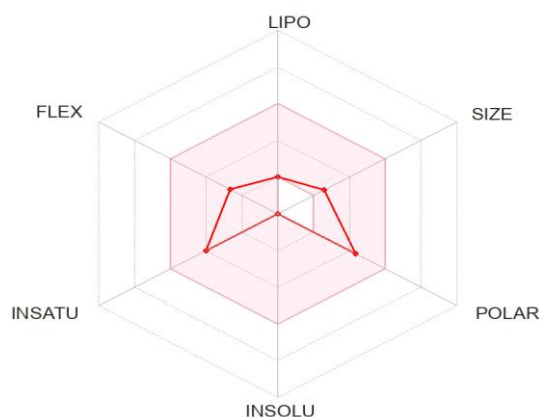


Рисунок 3.3. Діаграма із зображенням фізико-хімічних властивостей Карбіцилу.

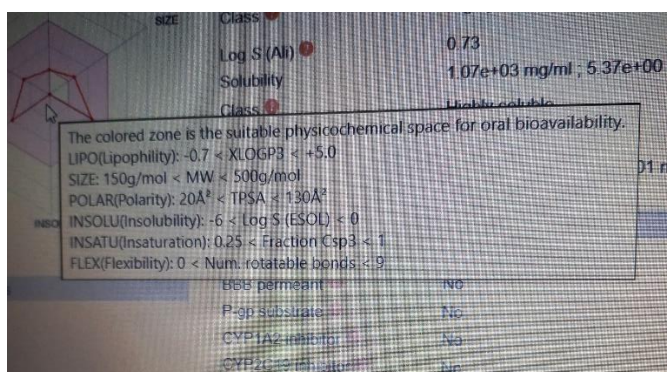


Рисунок 3.4. Фізико-хімічні властивості Карбіцилу.

LIPO (Lipophilicity): $-0.7 < XLOGP3 < +5.0$

Діапазон $-0.7 < XLOGP3 < +5.0$ визначає оптимальну ліпофільність молекули для забезпечення її біодоступності при пероральному прийомі.

XLOGP3: сучасний алгоритм розрахунку коефіцієнта розподілу октанол-вода ($\log P_{\text{log cap PlogP}}$) передбачає, наскільки добре речовина розчиняється в жирах у порівнянні з водою. Нижня межа (-0.7): Молекули з нижчим значенням надто гідрофільні (водорозчинні) - ускладнює їх проходження через ліпідні бар'єри клітинних мембран шляхом пасивної дифузії. Верхня межа ($+5.0$): відповідає класичному «Правилу п'яти» Lipinski's Rule of Five. Якщо $\log P > 5$ - молекула вважається занадто ліпофільною, що веде до: поганої розчинності у водних середовищах (шлунковому соку, крові), підвищеного ризику токсичності через неспецифічне зв'язування з

тканинами, швидкого метаболізму в печінці. Значення - Дотримання цього діапазону збільшує ймовірність того, що лікарська речовина ефективно всмоктуватиметься в ШКТ і досягне своєї мішені в організмі. Речовини, що виходять за ці рамки, часто вимагають спеціальних систем доставки або хімічної модифікації.

SIZE: 150 g/mol < MW < 500 g/mol

Діапазон молекулярних мас (150-500 г/моль) охоплює більшість малих органічних молекул - значну частину лікарських засобів, пестицидів та ароматичних сполук. Наприклад: Аспірин - ~180 г/моль. Ібупрофен - ~206 г/моль.

POLAR (Polarity): 20 Å² < TPSA < 130 Å²

Стосується загальної полярності молекули, яка є ключовим фактором у визначенні того, наскільки добре препарат може проходити через клітинні мембрани. TPSA (Топологічна полярна площа поверхні): розрахований молекулярний дескриптор, що визначається як сума площ поверхні всіх полярних атомів, головним чином кисню та азоту, включаючи приєднані до них атоми водню. Він виражається в одиницях квадратних Å (Å²). Діапазон (20 Å² < TPSA < 130 Å²): Цей діапазон є оптимізованим вікном, яке використовується як критерій скринінгу у відкритті ліків.

TPSA більше 20 Å², вона має достатню полярність, щоб бути розчинною у воді та біологічних рідинах.

TPSA менше 130-140 Å², вона вважається здатною ефективно проникати через клітинні мембрани (хороша біодоступність для прийому внутрішньо).

Для проникнення в мозок (через гематоенцефалічний бар'єр) показник має бути ще нижчим – менше 60–90 Å².

INSOLU (Insolubility): -6 < LogS (ESOL) < 0

Діапазон розчинності -6 < LogS (ESOL) < 0 вказує на те, що речовина має низьку або дуже низьку розчинність у воді, згідно з моделлю ESOL (оцінена розчинність). LogS являє собою загальний (десятковий) логарифм

розчинності (S) сполуки, виміряний у молях на літр (моль/л). *ESOL* – обчислювальна модель/набір даних (набір даних Делані) для оцінки розчинності у воді безпосередньо зі структури молекули. $\text{Log}S = 0$ відповідає розчинності (S) $(10^0=1)$ моль/л - дуже висока розчинність. $\text{Log}S = -6$ відповідає розчинності (S) $(10^{-6}=0,000001)$ моль/л (1 мікромоляр, мкМ) - надзвичайно низька розчинність. ***Сполука в діапазоні $-6 < \text{Log}S < 0$ має розчинність у воді від 1 мкМ до 1 М.***

INSATU (Insaturation): $0.25 < \text{Fraction Csp}^3 < 1$

При розробці ліків INSATU (ненасиченість) – це фізико-хімічний дескриптор, що представляє частку атомів вуглецю в sp^3 -гібридизації (фракція Csp^3) в молекулі. Визначає ступінь ненасиченості сполуки.

FLEX (Flexibility): $0 < \text{Num. rotatable bonds} < 9$

FLEX (Гнучкість): визначає бажаний діапазон молекулярної гнучкості - молекула повинна мати від 1 до 8 обертових зв'язків: не є ні надто жорсткою (0 зв'язків), ні надмірно гнучкою (9 або більше). Дескриптор використовують для прогнозування хорошої біодоступності та властивостей при пероральному застосуванні. Занадто багато обертових зв'язків може перешкоджати зв'язуванню або метаболізму.

За допомогою платформи AI Tools технології (Swiss TargetPrediction, Proton), методів CADD (Computer-aided drug design), iLOGP (фізична модель ліпофільності), BOILED-Egg (графічна модель класифікації для поглинання сполук у шлунково-кишковому тракті та мозковій тканині), фізико-хімічних фільтрів Lipinski, Veber, Egan; Bioavailability платформа досліджено властивості Карбіцилу *in silico* та прогнозовано його властивості:

- ***Фізико-хімічні характеристики:*** кількість поворотних зв'язків у молекулі 4 (добра біодоступність), 2 *H*-зв'язаних донорів, 4 *H*-зв'язаних акцепторів; значення молярної рефракції $49.42 \text{ см}^3/\text{мол}$ (для порівняння значення молярної рефракції води дорівнює $3.72 \text{ см}^3/\text{мол}$); діапазон

молекулярних мас $150 \text{ g/mol} < MW < 500 \text{ g/mol}$ відповідає вимогам малих органічних молекул (Карбіцил 200.19 г/моль); *полярність* Карбіцилу у діапазоні $20 \text{ Å}^2 < \text{TPSA} < 130 \text{ Å}^2$ позитивна для проходження через клітинні мембрани ШКТ та не достатня для проникнення у тканини мозку (за моделлю BOILED-Egg).

- **Фармакокінетичні характеристики:** *ліпофільність* $\text{Log } P_{o/w} -0.82$: Карбіцил є *гідрофільною, водорозчинною* ($1.07\text{-}5.37$), діапазон $-0.7 < \text{XLOGP3} < +5.0$ визначає оптимальну ліпофільність молекули для забезпечення її біодоступності при пероральному прийомі; всмоктування хімічної речовини - гастро-інтестинальна абсорбція Карбіцилу висока, молекули не здатні дифундувати крізь мембрани ГЕБ (*гематоенцефалічний бар'єр*); біодоступність 0.55 .
- **Медико-хімічні характеристики:** *спорідненість до ліків* – за фільтрами Lipinski, Veber, Egan, Muegge висока; синтетична доступність (SA Score), висока від 1 до 10 – для Карбіцилу 2.16 ; прогнозовані біомішені впливу Карбіцилу: 33.3% - ензими, 20.0% - ліази, 20.0% - електрохімічні переносники (*Homo sapiens*), 40.0% - ензими, 20.0% - A-G-протеїн-зв'язані рецептори, 13.3% - гідролази (*Mus musculus*).
- **Фармакологічні характеристики (виявлено 400 структурних аналогів, бази комбінаторних бібліотек):** прогнозовано влиствості Карбіцилу як антиметаболіт (для діагностики мегалобластичних анемії, спричинених дефіцитом вітаміну B12 та фолієвої кислоти) (аналог 2'-Дезоксиуридин), для паліативного лікування метастазів шлунково-кишкових злоякісних новоутворень у печінці (аналог Флоксуридин), для лікування раку шлунка (аналог Доксифлуридин); для лікування герпетичного кератиту (аналог Едоксудин), для лікування хронічного гепатиту В з клінічними ознаками реплікації вірусу або стійким підвищенням рівня сироваткових амінотрансфераз (аналог Телбівудин).

ВИСНОВКИ

1. За допомогою програм платформи AI Tools технології проаналізовано особливості хімічної будови лікарського засобу Карбіцилу та прогнозовано його фізико-хімічні, фармакокінетичні, медико-хімічні та фармакологічні властивості.
2. Виявлено, що молекула Карбіцилу містить *кількість поворотних зв'язків* у молекулі 4 (прогнозує високу біодоступність), *2 Н-зв'язаних донорів*, *4 Н-зв'язаних акцепторів*; значення *молярної рефракції* 49.42 см³/мол, *діапазон молекулярних мас* 150 g/mol < MW < 500 g/mol відповідає вимогам малих молекул (Карбіцил 200.19 г/моль), *полярність* Карбіцилу (20 Å² < TPSA < 130 Å²) позитивна для проходження через клітинні мембрани ШКТ та не достатня для проникнення у тканини мозку (за моделлю BOILED-Egg), *ліпофільність* Log P_{o/w} -0.82 (Карбіцил є *гідрофільною сполукою*) (1.07-5.37), діапазон -0.7 < XLOGP3 < +5.0 визначає оптимальну ліпофільність, всмоктування Карбіцилу - гастро-інтестинальна абсорбція висока, молекули не здатні дифундувати крізь мембрани ГЕБ (*гематоенцефалічний бар'єр*), значення біодоступності 0.55.
3. За фільтрами Lipinski, Veber, Egan, Muegge спорідненість до ліків висока; синтетична доступність (SA Score) Карбіцилу висока - 2.16; прогнозовані біомішені впливу Карбіцилу: 33.3% - ензими, 20.0% - ліази, 20.0% - електрохімічні переносники (*Homo sapiens*), 40.0% - ензими, 20.0% - А-Г-протеїн-зв'язані рецептори, 13.3% - гідролази (*Mus musculus*); *виявлено 400 структурних аналогів* Карбіцилу: антиметаболіти для діагностики мегалобластичних анемії, паліативного лікування метастазів шлунково-кишкових злоякісних новоутворень у печінці, для лікування раку шлунка, для лікування герпетичного кератиту та хронічного гепатиту В.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Богданов В.Л. 70-річчя члена-кореспондента НАН України І.С. Чекмана // Вісн. НАН України. — 2006. — № 10.
2. Вчені України — фармацевти / Під ред. проф. І.М. Перцева. — Х., 1991.
3. Біографічний словник завідувачів кафедр та професорів НМУ імені О.О. Богомольця (1841–2006) / За ред. В.Ф. Москаленко, І.М. Полякової. — К., 2006.
4. Свінціцький А.С., Загородний М.І. Навчально-методичні засади викладання питань клінічної фармакології метаболічних препаратів у рамках дисципліни «Внутрішня медицина». Медична освіта Практикуючий лікар. 2024, № 3. С. 128-131.
5. R. Freund, S. Canossa, S. M. Cohen, W. Yan, H. Deng, V. Guillerm, M. Eddaoudi, D. G. Madden, D. Fairen-Jimenez, H. Lyu, L. K. Macreadie, Z. Ji, Y. Zhang, B. Wang, F. Haase, C. Wöll, O. Zaremba, J. Andreo, S. Wuttke and C. S. Diercks. 25 Years of Reticular Chemistry. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2021, 60, 23946–23974.
6. A. Li, R. B. Perez, S. Wiggin, S. C. Ward, P. A. Wood and D. Fairen-Jimenez. The launch of a freely accessible MOF CIF collection from the CSD. *Matter*, 2021, 4, 1105–1106.
7. A. A. Kotova, D. Thiebaut, J. Vial, A. Tissot and C. Serre. Metal-organic frameworks as stationary phases for chromatography and solid phase extraction: A review. *Coord. Chem. Rev.*, 2022, 455, 214364.
8. A. Bavykina, N. Kolobov, I. S. Khan, J. A. Bau, A. Ramirez and J. Gascon. Metal-Organic Frameworks in Heterogeneous Catalysis: Recent Progress, New Trends, and Future Perspectives. *Chem. Rev.*, 2020, 120, 8468–8535.
9. B. I. Z. Ahmad, K. T. Keasler, E. E. Stacy, S. Meng, T. J. Hicks and P. J. Milner. MOFganic Chemistry: Challenges and Opportunities for Metal-

- Organic Frameworks in Synthetic Organic Chemistry. *Chem. Mater.*, 2023, 35, 4883–4896.
10. Z. Zhou, M. Vázquez-González and I. Willner. Stimuli-responsive metal–organic framework nanoparticles for controlled drug delivery and medical applications. *Chem. Soc. Rev.*, 2021, 50, 4541–4563.
 11. L.-T. Zhang, Y. Zhou and S.-T. Han. The Role of Metal–Organic Frameworks in Electronic Sensors. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2021, 60, 15192–15212. DOI: [10.1002/anie.202006402](https://doi.org/10.1002/anie.202006402)
 12. M. Kim, M. Pander and H. R. Moon. Advancing Metal–Organic Framework Designs for Room-Temperature Chemiresistive Gas Sensors. *ACS Appl. Electron. Mater.*, 2024, 6, 3024–3038.
 13. S. Mandal, S. Natarajan, P. Mani and A. Pankajakshan. Post-Synthetic Modification of Metal–Organic Frameworks Toward Applications. *Adv. Funct. Mater.*, 2020, 31, 2006291. <https://doi.org/10.1002/adfm.202006291>
 14. L. Chai, J. Pan, Y. Hu, J. Qian and M. Hong. Rational Design and Growth of MOF-on-MOF Heterostructures. *Small*, 2021, 17, 2100607. DOI: [10.1002/sml.202100607](https://doi.org/10.1002/sml.202100607)
 15. D. Jędrzejowski, M. Pander, E. Stachura, K. Matlak, W. Bury and D. Matoga. Tracing proton conduction pathways in polycrystalline MOF-based core–shell systems. *J. Mater. Chem. A*, 2025, 13, 23671–23679.
 16. S. Jeoung, S. Kim, M. Kim and H. R. Moon. Pore engineering of metal–organic frameworks with coordinating functionalities. *Coord. Chem. Rev.*, 2020, 420, 213377. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213377>.
 17. Ü. Kökçam-Demir, A. Goldman, L. Esrafilı, M. Gharib, A. Morsali, O. Weingart and C. Janiak. Coordinatively unsaturated metal sites (open metal sites) in metal–organic frameworks: design and applications. *Chem. Soc. Rev.*, 2020, 49, 2751–2798.
 18. A. Valverde, G. I. Tovar, N. A. Rio-López, D. Torres, M. Rosales, S. Wuttke, A. Fidalgo-Marijuan, J. M. Porro, M. Jiménez-Ruiz, V. García Sakai, A.

- García, J. M. Laza, J. L. Vilas-Vilela, L. Lezama, M. I. Arriortua, G. J. Copello and R. Fernández de Luis. Designing Metal-Chelator-like Traps by Encoding Amino Acids in Zirconium-Based Metal–Organic Frameworks. *Chem. Mater.*, 2022, 34, 9666–9684.
19. X.-J. Hu, G. Huang, S. Zhang, Z.-B. Fang, T.-F. Liu and R. Cao. An easy and low-cost method of embedding chiral molecules in metal–organic frameworks for enantioseparation. *Chem. Commun.*, 2020, 56, 7459–7462.
20. J. Jia, X.-M. Li, H. Wu, Q. Huang and J. Gao. Achieving High Intrinsic Proton Conductivity via Functionalization of MOF-808 by Ionic Liquid. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 2023, 11, 13502–13507.
21. X. Tang, L. Jia, X. Wang, S. Su, Y. Chen, X.-J. Kong, Z.-M. Ye, H. Xie, W. Gong, E. Du, Y. Liu, K. O. Kirlikovali, O. K. Farha and Y. Cui. The Last Piece of the Puzzle: Access to 7-Connected Zirconium Metal–Organic Frameworks for Hexane Separation. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2025, 64, e202424859. <https://doi.org/10.1002/anie.202424859>
22. R. Abazari, S. Sanati, M. A. Bajaber, M. S. Javed, P. C. Junk, A. K. Nanjundan, J. Qian and D. P. Dubal. Design and Advanced Manufacturing of NU-1000 Metal–Organic Frameworks with Future Perspectives for Environmental and Renewable Energy Applications. *Small*, 2024, 20, e2306353. <https://doi.org/10.1002/sml.202306353>
23. M. Pander, R. Gil-San-Millan, P. Delgado, C. Perona-Bermejo, U. Kostrzewa, K. Kaczkowski, D. J. Kubicki, J. A. R. Navarro and W. Bury. MOF/polymer hybrids through *in situ* free radical polymerization in metal–organic frameworks. *Mater. Horiz.*, 2023, 10, 1301–1308.
24. I. Abánades Lázaro, C. J. R. Wells and R. S. Forgan. Multivariate Modulation of the Zr MOF UiO-66 for Defect-Controlled Combination Anticancer Drug Delivery. *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2020, 59, 5211–5217. <https://doi.org/10.1002/anie.201915848>

- 25.H. Xie, K. O. Kirlikovali, Z. Chen, K. B. Idrees, T. Islamoglu and O. K. Farha. A synthetic strategy towards single crystals of Zr_6 cluster and phosphonate-based metal–organic frameworks. *J. Mater. Chem. A*, 2024, 12, 6399–6404.
- 26.T. M. Rayder, F. Formalik, S. M. Vornholt, H. Frank, S. Lee, M. Alzayer, Z. Chen, D. Sengupta, T. Islamoglu, F. Paesani, K. W. Chapman, R. Q. Snurr and O. K. Farha. Unveiling Unexpected Modulator- CO_2 Dynamics within a Zirconium Metal–Organic Framework. *J. Am. Chem. Soc.*, 2023, 145, 11195–11205.
- 27.W. Jang, H. Yoo, D. Shin, S. Noh and J. Y. Kim. Colorimetric identification of colorless acid vapors using a metal-organic framework-based sensor. *Nat. Commun.*, 2025, 16, 385.
- 28.M. Martos and I. M. Pastor. Node Modification of Metal-Organic Frameworks for Catalytic Applications. *ChemistryOpen*, 2025, 14, e202400428. <https://doi.org/10.1002/open.202400428>.

SUMMARY

Gavriuschenko Alvina

STUDY OF THE PROPERTIES OF A BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUND – A DERIVATIVE OF A SATURATED SIX-MEMBERED HETEROCYCLE WITH TWO NITROGEN ATOMS USING COMPUTER PREDICTION PROGRAMS

The department of medicinal chemistry and toxicology

Scientific supervisor: prof., doctor of med. sc. Nizhenkovska I.V.

Keywords: biologically active compound, a derivative of a saturated six-membered heterocycle, uraci, target, analysis, computer prediction programs.

Introduction. Carbicyll is a research drug developed by Ukrainian pharmacologist, academician I.S. Chekman. It is a chemical substance of non-steroidal structure with a pronounced cardiotonic effect that activates energy metabolism in the myocardium. Carbicyl is one of the first drugs created based on the theory of drug complexation with biomembranes. It is used mainly in experimental studies to study the effects on the cardiovascular system.

Materials and methods. Al Tools technologies (Swiss TargetPredictio, Protox), in silico research, CADD (Computer-aided drug design), iLOGP (physical lipophilicity model), BOILED-Egg (intuitive graphical classification model for the absorption of compounds in the gastrointestinal tract and their access to brain tissue), structural physicochemical filters Lipinski, Veber, Egan; Bioavailability platform.

Results. Using the programs of the Al Tools technology platform, the features of the chemical structure of the drug Carbicyl were analyzed and its physicochemical, pharmacokinetic, medical-chemical, and pharmacological properties were predicted. 2. The Carbicyl molecule was found to contain a number of reversible bonds in the molecule of 4 (which predicts high bioavailability), 2 H-bonded donors, 4 H-bonded acceptors; molar refraction value of 49.42 cm³/mol, molecular weight range of 150 g/mol < MW < 500 g/mol meets the requirements of small organic molecules (Carbicyl 200.19 g/mol).

Conclusions. According to the Lipinski, Veber, Egan, Muegge filters, it is high; the synthetic availability (SA Score) of Carbicyl is high - 2.16; predicted biotargets of Carbicyl's effect: 33.3% - enzymes, 20.0% - lyases, 20.0% - electrochemical transporters (Homo sapiens), 40.0% - enzymes, 20.0% - A-G-protein-coupled receptors, 13.3% - hydrolases (Mus musculus); 400 structural analogues of Carbicyl have been identified: antimetabolites for the diagnosis of megaloblastic anemias.

ДОДАТОК 1

Публікації, участь у конференціях.



Ректор Національного медичного університету
імені О. О. Богомольця, д. м. н., професор

В. а. завідувача кафедри фармакогнозії та ботаніки,
д. фарм. н., професор



Юрій КУЧИН

Уляна КАРПЮК