Teorijske osnove i pristupi u QSAR modeliranju

Vučković, Valentin

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:334122

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
I
MEDICINSKI FAKULTET

Valentin Vučković

TEORIJSKE OSNOVE I PRISTUPI U QSAR MODELIRANJU

Diplomski rad

Akademska godina:
2015. / 2016.

Mentorica:
prof. dr. sc. Marica Medić-Šarić

Split, rujan 2016.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet
Integrirani preddiplomski i diplomski studij FARMACIJA
Sveučilište u Splitu, Republika Hrvatska

Znanstveno područje:	Biomedicinske znanosti
Znanstveno polje:	Farmacija
Nastavni predmet:	Farmaceutska kemija
Tema rada	je prihvaćena na . sjednici Vijeća studija Farmacija te potvrđena na 4. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko tehnološkog fakulteta i . sjednici fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta
Mentor:	prof. dr. sc. Marica Medić-Šarić
Pomoć pri izradi:	prof. dr. sc. Marica Medić-Šarić

TEORIJSKE OSNOVE I PRISTUPI U QSAR MODELIRANJU

Valentin Vučković, 59

Sažetak: QSAR je jedna od najpopularnijih metoda kojom se farmaceutska industrija danas služi u pronalasku novih ljekovitih tvari i njihovoj optimizaciji. Primarna svrha te metode je određivanje povezanosti kemijske strukture niza spojeva i određenog kemijskog ili biološkog procesa. Cilj ovog rada je bio prikazati temeljne pristupe kojima se farmaceutska industrija danas služi u postupku dizajniranja novih lijekova te dati uvid u njihove osnovne značajke, a poseban naglasak bio je stavljen na QSAR pristup, topološke indekse i njihovu važnost u modeliranju novog lijeka. Unutar metode QSAR postoje brojni pristupi (npr. molekularni deskriptori) kojima se pojedina molekula može okarakterizirati. Jedan od najvažnijih molekularnih deskriptora u metodi QSAR je koeficijent razdjeljenja između oktan-1-ola i vode (fosfatni pufer, pH = 7,4), log*P*. Numerički indeks koji karakterizira molekulu naziva se topološki indeks. On numerički izražava topološku informaciju za određeni spoj koja nam daje naznake o veličini i obliku, tj. prirodi kemijske strukture. Do danas je poznat čitav niz topoloških indeksa kojima se znanstvenici svakodnevno koriste, ali smo se u ovom radu posvetili osnovnim, dobro poznatim indeksima koji vrlo dobro opisuju strukturu molekule. To su: Wienerov broj, Randićev indeks, Balabanov indeks, Trinajstićev broj i informacijsko-teorijski indeks. Najsuvremeniji pristup u dizajniranju lijekova je metoda molekularnog modeliranja. Ta metoda podrazumijeva dizajniranje lijekova pomoću računala, CADD (engl. ***C**omputer-**A**ided **D**rug **D**esign*). U ovom smo radu dobivene vrijednosti topoloških indeksa korelirali sa fizičko-kemijskim svojstvima serije spojeva iz skupine sulfonamida te smo uočili određene povezanosti. Vrijednost Wienerovog broja, Randićevog indeksa, Balabanova i informacijsko-teorijskog indeksa pokazuju linearnu ovisnost s brojem vrhova molekule i molekulskom masom. Primjenom QSAR metode u postupku dizajniranja lijekova uvelike se unapređuje proces dizajna te omogućuje identifikacija odgovarajuće molekule prije njezine sinteze.

Ključne riječi: QSAR, molekularno modeliranje, topološki indeksi, sulfonamidi, dizajn lijekova.

Rad sadrži: 89 stranica, 16 slika, 10 tablica, 58 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Izv. prof. dr. sc. Darko Modun - predsjednik
2. Doc. dr. sc. Ivana Mudnić - član
3. Prof. dr. sc. Marica Medić-Šarić - član-mentor

Datum obrane: 22. rujna 2016.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u knjižnicama Kemijsko-tehnološkog fakulteta Sveučilišta u Splitu, Split, Ruđera Boškovića 35 i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu, Split, Šoltanska 2.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Faculty of Chemistry and Technology and School of Medicine
Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy
University of Splitu, Croatia

Scientific area:	Biomedical sciences
Scientific field:	Pharmacy
Course title:	Pharmaceutical chemistry
Thesis subject	was approved by Council of Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy, session no. as well as by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 4 and Faculty Council of School of Medicine, session no.
Mentor:	Marica Medić-Šarić, PhD.
Technical assistence:	Marica Medić-Šarić, PhD.

THEORETICAL BASIS AND APPROACHES IN QSAR MODELING

Valentin Vučković, 59

Summary: QSAR is one of the most popular methods that pharmaceutical industry uses nowadays to find new therapeutic agents and in their optimisation. The primary purpose of this method is to determine the correlation of chemical structure of the series of compounds and a specific chemical or biological process. The aim of this study was to show the basic approaches that pharmaceutical industry uses nowadays in the design of new drugs and to give insight into their basic features. A special emphasis was put on the QSAR approach, the topological indices and their importance in the modeling of a new drug. Within the QSAR method there are numerous approaches (e.g. molecular descriptors) that individual molecules can be characterised with. One of most important molecular descriptors in the QSAR method is the partition coefficient between octan-1-ol and water (phosphate-buffer, pH = 7,4), log*P*. The numerical index that characterises molecules is called topological index. It numerically expresses the topological information for the compound, which gives some indication of its size and shape, i.e. the nature of the chemical structure. To date, a whole range of topological indices that scientists use on a daily basis is known, but in this work we are dedicated to basic, well-known indices that very well describe the structure of molecules. These are: Wiener's number, Randic's index, Balaban's index, Trinajstic's number and information-theoretical index. The most modern approach to drug design is the method of molecular modeling. This method involves drug design using computer, CADD (engl. ***C**omputer-**A**ided **D**rug **D**esign*). **:** The obtained values of topological indices were compared to the physico-chemical properties of series of compounds from the group of sulfonamides and we noticed some connections. The values of Wiener's number, Randić's, Balaban's and information-theoretical indices are proportional to the number of peaks of molecules and to the molecular weight. The application of the QSAR method in the drug design process has greatly improved the design process itself and has enabled identification of an appropriate molecule before its synthesis.

Key words: QSAR, molecular modeling, topological indices, sulfonamides, drug design.

Thesis contains: 89 pages, 16 figures, 10 tables, 58 references

Original in: Croatian

Defence committee:

1. Darko Modun – PhD, assistant prof. chair person
2. Ivana Mudnić – PhD, associate prof. member
3. Marica Medić-Šarić – PhD, full prof. supervisor

Defence date: September 22, 2016.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposed in Library of Faculty of Chemistry and Technology University of Split, Split, Ruđera Boškovića 35 and Library of School of Medicine, University of Split, Split, Šoltanska 2.

SADRŽAJ

1. UVOD ... 8

1.1. POVIJESNI RAZVOJ LIJEKOVA KROZ QSAR ... 9
1.2. STANJE DANAS U ISTRAŽIVANJU NOVIH LIJEKOVA ... 10
1.3. ŠTO JE QSAR? ... 11

2. CILJ ISTRAŽIVANJA ... 13

3. MATERIJALI I METODE ... 15

3.1. MATERIJALI KORIŠTENI ZA IZRADU RADA ... 16
3.2. QSAR METODA I NJENI OSNOVNI PARAMETRI ... 20
3.2.1. Molekularni deskriptori ... 20
3.2.1.1. Fizičko-kemijski deskriptori - log*P* ... 22
3.2.1.2. Kromatografski parametar R_M ... 29
3.2.2. Teorija grafa i topološki deskriptori ... 30
3.2.2.1. Wienerov broj ili Wienerov indeks, *W*(G) ... 31
3.2.2.2. Randićev indeks povezanosti, χ(G) ... 33
3.2.2.3. Balabanov indeks, *J*(G) ... 35
3.2.2.4. Trinajstićev indeks (modificirani Balbanov indeks) ... 36
3.2.2.5. Informacijsko-teorijski indeks, *I*(G) ... 39
3.3. MOLEKULARNO MODELIRANJE U DIZAJNU LIJEKOVA ... 41
3.3.1. Molekularna mehanika ... 41
3.3.1.1. Traženje najstabilnijih konformera ... 41
3.3.2. Kvantno-kemijske metode ... 44
3.4. *IN SILICO* MODELIRANJE LIJEKOVA ... 46
3.4.1. Novi pristup modeliranju bolesti ... 46
3.4.2. Računalno modeliranje lijekova, CADD (engl. *Computer Aided Drug Design*) ... 47

4. REZULTATI ... 50

4.1. IZRAČUNAVANJE TOPOLOŠKIH INDEKSA I PRIKAZ DOBIVENIH REZULTATA NA SPOJEVIMA IZ SKUPINE SULFONAMIDA ... 51
4.1.1. Izračunavanje Wienerovog indeksa, *W*(G), za sulfacetamid i sulfagvanidin ... 51
4.1.2. Izračunavanje Randićevog indeksa, χ(G) za sulfanilamid ... 53
4.1.3. Izračunavanje log*P* metodom po Rekkeru za sulfametiltiazol ... 55
4.1.4. Utvrđivanje kvantitativnih odnosa između strukture i fizičko-kemijskih svojstava (QSPR) istraživanih sulfonamida ... 56

5. RASPRAVA ... 65

6. ZAKLJUČCI ... 74

7. LITERATURA ... 77

8. SAŽETAK ... 82

9. SUMMARY ... 85

10. ŽIVOTOPIS..... 88

ZAHVALA

Veliku zahvalnost, u prvom redu, dugujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Marici Medić-Šarić koja mi je svojim stručnim savjetima pomogla pri izradi ovog diplomskog rada te je uvijek imala strpljenja i vremena za moje brojne upite.

Također se želim zahvaliti i svim svojim kolegama i prijateljima koje sam upoznao na fakultetu što su svojim prisustvom uljepšali moje studentsko razdoblje.

Od srca zahvaljujem svojoj obitelji na strpljenju i moralnoj podršci te povjerenju koje su mi ukazali tijekom studija.

POPIS KRATICA

AIDS	*Acquired Immune Deficiency Syndrome* (engl.) - sindrom stečene imunodeficijencije
CADD	*Computer Aided Drug Design* (engl.) - dizajn lijekova pomoću računala
CAMD	*Computer Aided Molecular Design* (engl.) - dizajn molekula pomoću računala
GC	*Gas Chromatography* (engl.) - plinska kromatografija
HIV	*Human Immunodeficiency Virus* (engl.) - virus humane imunodeficijencije
HPLC	*High Performance Liquid Chromatography* (engl.) - tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti
HTS	*High Throughput Screening* (engl.) - visokoproduktivno probiranje
LCAO	*Linear Combination of Atomic Orbitals* (engl.) - linearna kombinacija atomskih orbitala
QSAR	*Quantitative Structure-Activity Relationship* (engl.) - kvantitativni odnos strukture i aktivnosti
QSPR	*Quantitative Structure-Property Relationship* (engl.) - kvantitativni odnos strukture i svojstava
RP-HPLC	*Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography* (engl.) - tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti obrnutih faza
SAR	*Structure-Activity Relationship* (engl.) - odnos strukture i aktivnosti
UV-Vis	*UltraViolet-Visible spectrophotometry* (engl.) - spektroskopija vidljivog i ultraljubičastog zračenja

1. UVOD

1.1. Povijesni razvoj lijekova kroz QSAR

Otkriće ljekovite supstancije često je bilo slučajno, kao naprimjer, otkriće penicilina (A. Fleming, 1928.) koje je pokrenulo antibiotsku revoluciju i potaknulo pitanje produženja životnog vijeka [1]. Dikumarol, antagonist vitamina K i prvi antikoagulans također je otkriven sasvim slučajno kada je uočeno da ovce ugibaju kad pasu kokotac (*Melilotus sp.*) zbog snažnog krvarenja želuca koje se ne može spontano zaustaviti uslijed snažnog antikoagulacijskog učinka navedene trave. Još jedan važan lijek, nitroglicerin otkriven je slučajno. Danas je jedan od najpoznatijih lijekova protiv angine pektoris, a njegovo otkriće pripisuje se zapažanju da radnici u tvornicama nitroglicerina pate od jakih glavobolja koje su pripisivane dilataciji krvnih žila.

Međutim, treba spomenuti i lijekove čije je djelovanje odmah ispravno protumačeno. Riječ je o lijekovima jednostavnog djelovanja, a to su sredstva za čišćenje (purgativi) i povraćanje (emetici). Te dvije skupine se smatraju i prvim modernim lijekovima iz razloga što imaju jasno fiziološko djelovanje te su dobiveni sintetskim putem [2].

Ako ne igrom slučaja, do otkrića novog lijeka može se doći kroz sustavno eksperimentiranje ili kemijsku intuiciju. Ti pristupi se zasnivaju na sintetiziranju biblioteke mogućih kombinacija kemijskih spojeva koje se zatim provjeravaju na željenu fiziološku aktivnost. Ovakav pristup je dugotrajan, zahtjeva intenzivan rad i velike troškove. Prihvatljivije rješenje ovog problema je računalno dizajniranje lijekova koje se koristi različitim metodama i postupcima, a koje omogućuje identifikaciju odgovarajuće molekule prije njezine sinteze. Kroz povijest su se predlagali i razvijali brojni pristupi i različite metode sa svrhom olakšanog pronalaska ljekovite supstancije. Jedan od prvih pristupa bio je QSAR (engl. ***Q**uantitative **S**tructure-**A**ctivity **R**elationship*). QSAR predstavlja pokušaj povezivanja strukture ili strukturnih parametara (molekularnih deskriptora) s aktivnošću molekule [1]. Početak QSAR-a datira iz 19. stoljeća i vezan je uz znanstvenike Crum Brown-a i Fraser-a koji su 1867. godine, istražujući alkaloide, došli na zamisao o povezanosti strukture molekule i njezine fiziološke aktivnosti te postavili prvi matematički model prikazan izrazom:

$$BA = f(C)$$

gdje *BA* označuje mjerljiv biološki učinak molekule, a *C* kemijsku strukturu te molekule [3].

Kratko nakon njihova otkrića, Richet (1893.), Meyer (1899.) i Overton (1901.) su otkrili linearnu povezanost između lipofilnosti i biološkog učinka. Nakon njih, Hammet je 1935.

godine objavio metodu za izračunavanje učinka supstituenata na mehanizam reakcije, kroz korištenje jednadžbe koja je u obzir uzimala dva parametra: konstantu supstituenta (*i*) i konstantu reakcije (*ii*). Taft je 1956. godine upotpunio Hammet-ov model i predložio pristup za izračunavanje učinka supstituenta na mehanizam reakcije koji omogućuje razdvajanje učinka koji se javlja zbog razlike u polarnosti od učinka koji se javlja zbog razlike u steričkim obilježjima pojedinih supstituenata. Njihova otkrića postavila su temelj na kojemu je Hansch razvio linearnu jednadžbu za izračunavanje lipofilnosti koja integrira tri grupe parametara: hidrofobne, elektronske i steričke [1].

Ta otkrića obilježila su početak razvoja metode QSAR koja postaje sve popularnija u dizajniranju lijekova.

1.2. Stanje danas u istraživanju novih lijekova

Danas živimo u razdoblju kemoterapeutika, sintetskih lijekova kojima se uništavaju uzročnici infektivnih bolesti. Baš kao što je u prošlosti najteži problem bio pronaći nešto ljekovito, neku rijetku biljku, tako je i danas to postao pronalazak kemijskog spoja koji pokazuje fiziološko djelovanje. Takav spoj, koji se većinom otkrije slučajno, zove se vodeći ili temeljni spoj (engl. *lead compound*). Postoje tri pristupa koji vode od vodećeg spoja do lijeka na tržištu: rastavni (disjunktivan), sastavni (konjuktivan) i analogni pristup. Koji će se od ta tri pristupa izabrati ovisi o vodećem spoju. Taj vodeći spoj treba prilagoditi farmakokinetičkim i farmakodinamičkim zahtjevima te voditi računa o troškovima njegove sinteze jer nije rijetkost da se na tržištu pojavi aktivni spoj koji nije farmakološki najpovoljniji, ali je njegova sinteza povezana s malim proizvodnim troškovima. U predviđanju svojstava novih spojeva istraživači se pretežito služe metodom QSAR ili metodama molekularnog modeliranja [2].

Vodeći se spoznajom o nedjeljivosti kemijske strukture lijeka i funkcije u živom organizmu može se izvesti pretpostavka o postojanju odnosa između strukture i biološkog učinka te tvari. U današnje vrijeme postoji veliki broj metoda kojima se nastoje povezati fizičko-kemijski parametri i struktura molekule s njezinim fiziološkim učinkom. Istraživanja se temelje na optimizaciji vodećeg spoja uvođenjem različitih, novih supstituenata na vodeći spoj, a sve s ciljem da se postignu željene promjene u biološkoj aktivnosti.

Put od sinteze novog lijeka do njegove primjene u terapiji jako je dug, zahtjeva mnogo rada, vremena i novčanih sredstava koji mogu narasti i do milijarde dolara. Proces

traje godinama i zahtjeva ispitivanje tisuća spojeva. Statistika je pokazala da od 10 000 novosintetiziranih spojeva samo jedan dolazi na tržište kao komercijalni lijek (Slika 1) [4].



Slika 1. Brojnost spojeva u pojedinim fazama istraživanja lijekova [5]

1.3. Što je QSAR?

QSAR je skraćenica koja znači ***Q****uantitative* ***S****tructure-****A****ctivity* ***R****elationship* (kvantitativni odnos strukture i aktivnosti). Iz samog naziva može se zaključiti da je QSAR metoda kojom se neko strukturno svojstvo molekule želi dovesti u kvantitativnu vezu s njezinom biološkom aktivnošću. Metodi QSAR prethodi metoda QSPR (engl. ***Q****uantitative* ***S****tructure-****P****roperty* ***A****ctivity*). Naime, u metodi QSPR je cilj da se bilo koje fizičko-kemijsko svojstvo dovede u kvantitativnu vezu s nekim strukturnim parametrom [6]. QSAR se danas u velikoj mjeri primjenjuje u širokom rasponu znanstvenih disciplina, uključujući kemiju, biologiju i toksikologiju [7]. Posljednjih 10-tak godina postao je neizostavan alat u farmaceutskoj industriji, od otkrića vodećeg spoja, njegove optimizacije i daljnjeg razvoja [8]. Rastući trend je rana primjena QSAR-a kao sredstva provjere u postupku otkrivanja ljekovite supstancije te kao alata za eliminaciju molekula kojima nedostaju određena svojstva ili onih za koje se predviđa da će izazvati toksičan odgovor iz daljnjeg razvoja. Ovaj scenarij razvoja QSAR-a daje naslutiti mogućnost njegova širenja izvan okvira farmaceutske industrije do ljudskih i ekoloških regulatornih tijela za uporabu u toksikologiji [9,10].

Prvi korak korištenja metode QSAR podrazumijeva pronalazak grupe kemijskih spojeva ili vodećeg spoja koji pokazuju željenu biološku aktivnost. Zatim se uspostavlja kvantitativni odnos između fizičko-kemijskih parametara i biološke aktivnosti nakon čega se, pomoću QSAR modela, provodi optimizacija aktivnih spojeva kako bi se povećala odgovarajuća biološka aktivnost. Odgovarajući se spojevi nakon uspostavljanja kvalitetnog matematičkog modela, eksperimentalno testiraju na željenu aktivnost. Eksperiment je nužan za potvrđivanje ispravnosti i točnosti dobivenog matematičkog modela. Na ovaj se način

QSAR metoda može upotrijebiti kao vodeće sredstvo za određivanje odgovarajućih izmjena u vodećem spoju kojima bi se poboljšala njegova biološka aktivnost [11]. Primijenjena promišljeno, ova metoda može uštedjeti znatnu količinu vremena, novca i ljudskih resursa.

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

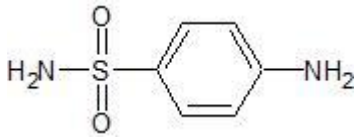
Cilj ovog rada je prikazati temeljne pristupe kojima se farmaceutska industrija danas služi u postupku dizajniranja novih lijekova te dati uvid u njihove osnovne značajke. Poseban naglasak će biti stavljen na QSAR pristup te topološke indekse i njihovu važnost u modeliranju novog lijeka.

3. MATERIJALI I METODE

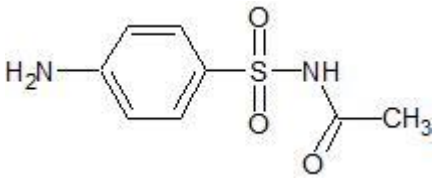
3.1. Materijali korišteni za izradu rada

U ovom diplomskom radu istraživana je kongenerična serija od dvanaest sulfonamida:

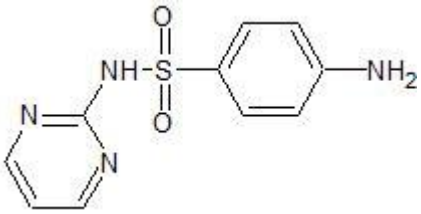
1. Sulfanilamid



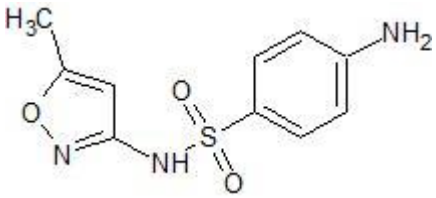
2. Sulfacetamid



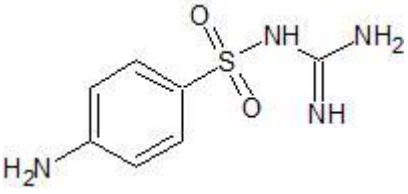
3. Sulfadiazin



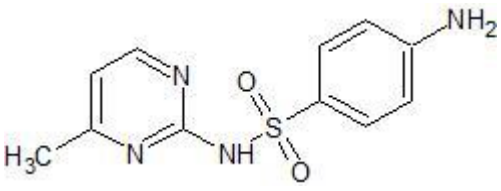
4. Sulfametoksazol



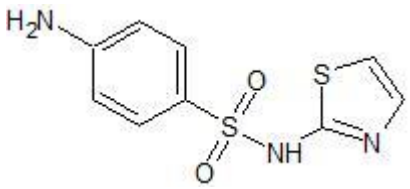
5. Sulfagvanidin



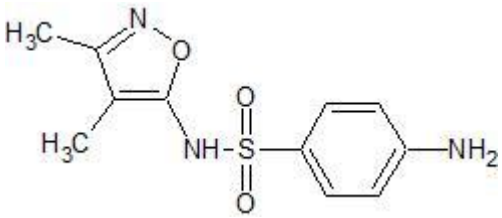
6. Sulfamerazin



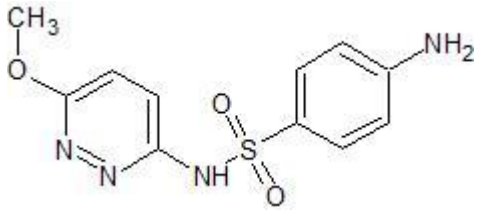
7. Sulfatiazol



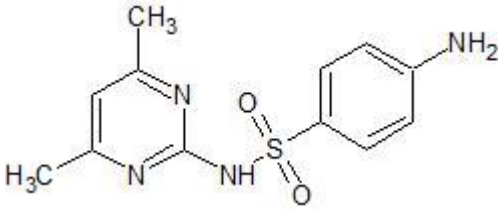
8. Sulfafurazol



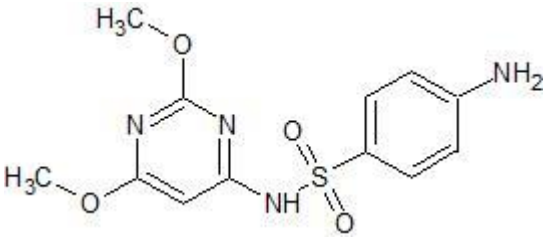
9. Sulfametoksipiridazin



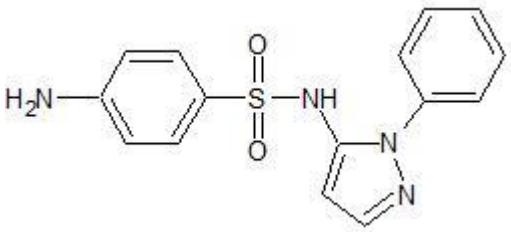
10. Sulfadimidin



11. Sulfadimetoksin



12. Sulfafenazol



Koristeći računalni program TAM koji je razvijen u okviru tima M. Medić-Šarić i suradnici proveli smo izračunavanje topoloških indeksa (W, χ, J i I) za seriju spojeva iz skupine sulfonamida te ih korelirali s fizičko-kemijskim svojstvima tih spojeva. Izračunate vrijednosti topoloških indeksa i pripadajuća fizičko-kemijska svojstva prikazana su u tablici 10.

Za istraživanje odnosa između strukture kongenerične serije spojeva iz skupine sulfonamida s fizičko-kemijskim parametrima, provedena je QSPR analiza. Taj odnos prikazan je u obliku matematičkih modela. Konačni cilj ovakvog modeliranja je predviđanje svojstava ili aktivnosti promatrane molekule. U ovom radu korišteni su strukturno-eksplicitni modeli koji omogućuju da se strukture istraživanih sulfonamida izraze brojčano i tako omogući istraživanje odnosa između fizičko-kemijskih svojstava i strukture.

Ispitivali smo linearnu i nelinearnu vezu između izračunatih topoloških indeksa i odabranih fizičko-kemijskih svojstava sulfonamida. Za testiranje kvalitete i vrednovanje izračunatih i predloženih modela, korišteni su sljedeći parametri: broj ispitivanih sulfonamida, N, koeficijent korelacije, r, srednje kvadratno odstupanje, R^2, standardna devijacija, S_d i odnos između varijance dobivenih i izračunatih vrijednosti, F.

Uz primjere izračunavanja odabranih topoloških indeksa za kongeneričnu seriju sulfonamida, u ovom radu će biti prikazana još dva slučaja dizajna novih lijekova iz drugih farmakoterapijskih skupina, uz pomoć računalnog modeliranja.

Pretraživanje literature je obavljeno elektroničkim putem pomoću osobnog računala. Pretražena je osnovna baza podataka *PubChem* te ostali izvori relevantni za izradu ovog rada. Strukture lijekova jednoznačno su prikazane korištenjem programa *ACD/ChemSketch* [12].

Literatura je pretražena prema temi istraživanja, predmetu istraživanja, časopisu, autorima, naslovu rada i uvriježenim kraticama koje se koriste u molekularnom modeliranju. Pri pretraživanju literature korištene su sljedeće ključne riječi: QSAR, *molecular descriptors*, *topological index*, log*P*, *chemical graph theory*, *molecular modelling, in silico modelling,* CAMD (engl. ***C**omputer **A**ided **M**olecular **D**esign*) *software, drug discovery, drug development, virtual screening, computational modeling...*

Pri pretraživanju literature traženi su odgovori na specifična pitanja vezana za problematiku ovoga diplomskog rada. Literatura je pretraživana od općih prema

specijaliziranim člancima i pojmovima pri čemu su odabrani oni koji su relevantni za problematiku ovoga diplomskog rada.

Pri proučavanju relevantnih članaka izdvojene su najvažnije metode koje ovaj rad proučava i čiju problematiku želi približiti čitatelju. Vodeći se njima provedena su istraživanja čiji su rezultati prikazani ovim diplomskim radom. Temeljem dobivenih rezultata napisan je i kritički osvrt na problematiku rada te su navedeni i glavni zaključci.

3.2. QSAR metoda i njeni osnovni parametri

Kao što je već naglašeno, QSAR je jedna od najpopularnijih metoda kojom se farmaceutska industrija danas služi u pronalasku novih ljekovitih tvari i njihovoj optimizaciji. Unutar QSAR metode raspolaže se brojnim strukturnim parametrima, odnosno molekularnim deskriptorima kojima se opisuje pojedina molekula. U ovom poglavlju poseban naglasak bit će stavljen na topološke deskriptore te će se prikazati i primjeri izračunavanja pojedinog deskriptora.

3.2.1. Molekularni deskriptori

Molekularni deskriptori su rezultat logičkih i matematičkih transformacija kemijske informacije. Dijele se na eksperimentalne i teorijske. Eksperimentalni deskriptori predstavljaju rezultat nekog standardiziranog pokusa, a opisuju fizička svojstva molekula, kao što su molekulska masa, topljivost, lipofilnost (log*P*), polarizabilnost, molekularna refraktivnost, dipolni moment i dr. Teorijski molekularni deskriptori, koji su obično dobivali nazive prema autoru koji ih je predložio (Wienerov, Randićev, Balabanov indeks itd.), pretvaraju strukturu u koristan broj te se temelje na simboličkom prikazu molekule, a prema dimenzionalnosti strukturne informacije dijele se na:

- 0*D* – opisuju svojstva molekula temeljem sažete molekulske formule, npr. broj atoma
- 1*D* – opisuju svojstva supstituenata, fragmenata, funkcionalnih skupina
- 2*D* – opisuju veze između atoma u molekuli – topološki indeksi
- 3*D* – opisuju konfiguraciju molekule – geometrijski, sterički i volumni deskriptori.

Topološki indeksi čine najveću skupinu teorijskih molekularnih deskriptora. Osim jednostavnih deskriptora koji se temelje na prebrojavanju (npr. atoma u molekuli) koriste se i sterički, hidrofobni, i elektronski parametri koji se najčešće dobivaju primjenom kvantno-kemijskih proračuna (npr. log*P*, molarna refraktivnost, parcijalni naboji...).

Potrebno je napomenuti da se odabir određenog molekularnog deskriptora ili većeg broja deskriptora temelji na njihovoj mogućnosti, odnosno jednostavnosti interpretacije. Pri odabiru treba voditi računa da odabrani skup molekularnih deskriptora sadrži one koji ne nose istu informaciju i koji su međusobni slabo korelirani (Tablica 1) [13].

Tablica 1. Molekularni deskriptori [2]

Fizičko-kemijski deskriptori

- relativna molekulska masa (M_r)
- gustoća (ρ)
- talište, točka taljenja (*t.t.*)
- vrelište, točka vrenja (*t.v.*)
- koeficijent razdjeljenja oktan-1-ol/voda (P, log$P$)
- molekularna refraktivnost (MR)

Topološki deskriptori

- fragmenti atoma i kemijske veze
- supstrukture (atomske grupe)
- okolina supstrukture
- broj ugljikovih atoma
- broj prstenova (policiklički spojevi)
- molekularna povezanost (stupanj grananja) – topološki indeksi

Geometrijski deskriptori

- van der Waalsov volumen (V_w)
- površina van der Waalsove ovojnice (S)
- Taftov sterički parametar (E_s)
- Verloopova dužina (l)
- Verloopova širina (B_5)

Elektronski deskriptori

- Hammet-Taftova konstanta (σ)
- elektronska gustoća
- reaktivnost π veze
- molna elektronska polarizibilnost (P_e)
- dielektrična konstanta (ε)
- dipolni i viši momenti (μ)
- ionizacijski potencijal (I)
- elektronski afinitet

Fizičko-kemijski deskriptori predstavljaju fizička i kemijska svojstva nekog spoja. Posebno treba istaknuti koeficijent razdjeljenja (log*P*) između oktan-1-ola i vode (fosfatni pufer, pH = 7,4). Njegovim otkrićem je započela intenzivna primjena metode QSAR, a i danas je jedan od najvažnijih molekularnih, fizičko-kemijskih deskriptora u QSAR-u.

Topološki deskriptori u strukturi molekule vide samo mogućnost povezivanja atoma. Oni numerički izražavaju topološku informaciju za neki spoj te se mogu direktno upotrijebiti kao jednostavni deskriptori za uspoređivanje s fizičkim, kemijskim ili biološkim parametrima molekule u QSAR-u. Njih čine tzv. topološki indeksi: Wienerov, Randićev, Balabanov i mnogi drugi [14].

Geometrijski i elektronski deskriptori opisuju raspodjelu naboja u molekuli. Mogu se izračunati molekularno-mehaničkim i kvantno-kemijskim proračunima. Nakon otkrića tih deskriptora pojavila se i nova inačica metode QSAR – 3D QSAR, koja je utemeljena na tim deskriptorima [15].

3.2.1.1. Fizičko-kemijski deskriptori - log*P*

Postoji više fizičko-kemijskih deskriptora, ali u ovom radu posebna pažnja je posvećena fizičko-kemijskom deskriptoru čijim je otkrićem započela sustavna primjena metode QSAR. Riječ je o koeficijentu razdiobe, log*P*, između oktan-1-ola i vode (fosfatni pufer, pH = 7,4). O njemu ovisi čitav niz čimbenika, odgovornih za djelovanje lijeka u organizmu, kao što su npr. raspodjela lijeka u organizmu, vezivanje lijeka za receptor, prolazak lijeka kroz biološke membrane itd. Ovaj parametar postao je opće prihvaćen u QSAR-u za kvantitativni opis lipofilnog karaktera biološki učinkovitih spojeva te jedan od najvažnijih parametara u dizajniranju novih lijekova, odnosno utvrđivanju biološke učinkovitosti sintetiziranih spojeva. Zbog tako velike važnosti koeficijenta razdiobe, zadnjih dvadesetak godina razvijen je velik broj empirijskih i teorijskih pristupa određivanja, odnosno izračunavanja vrijednosti log*P* [13].

1. EKSPERIMENTALNO ODREĐIVANJE log*P*

Najčešća eksperimentalna metoda za određivanje koeficijenta razdiobe je metoda izmućkavanja (engl. *shake-flask methode*) kombinirana s različitim analitičkim tehnikama: UV-Vis (engl. ***U****ltra****V****iolet-****V****isible spectrophotometry*), HPLC (engl. ***H****igh* ***P****erformance* ***L****iquid* ***C****hromatography*), GC (engl. ***G****as* ***C****hromatography*). Princip je jednostavan no

zahtjeva dosta vremena, strogo određene uvjete, a osim toga neprimjenjiv je za nesintetizirane spojeve. Pri određivanju se moraju poštovati važne odredbe [16]:

a) potrebno je rabiti parove otapala koja su zasićena jedno drugim jer će se, u suprotnom, promijeniti njihov volumen tijekom izmućkavanja;
b) izmućkavanje treba provoditi u dobro zatvorenim posudama, pola sata;
c) analiza ispitivane supstancije provodi se u obje faze, a vrijednost log*P* izračunava se iz Nernstove jednadžbe:

$$\log P = \log(C_o/C_v)$$

gdje su C_o i C_v molarne koncentracije ispitivane tvari u organskoj fazi (o = n-oktanol), odnosno vodenoj fazi (v = voda, odnosno fosfatni pufer, pH = 7,4);

d) potrebna je visoka čistoća ispitivane tvari, jer i najmanje onečišćenje može pokvariti pokus;
e) na točnost rezultata utjecat će i temperatura sustava te pH vrijednost vodene faze. Ako temperatura sustava nije stalna ne važi Nernstov zakon razdiobe. Najprikladniji je pH onaj kod kojeg je 99,9% ispitivane supstancije u neioniziranom obliku. Ako se koeficijent razdiobe određuje kod pH gdje je supstancija djelomično ionizirana u obzir se mora uzeti i stupanj ionizacije.

Eksperimentalno određivanje koeficijenta razdiobe ima mnoge nedostatke, u prvom redu to su: složenost postupka i nemogućnost određivanja za nesintetizirane spojeve.

2. RAČUNANJE log*P* PUTEM π KONSTANTI

Prve metode računanja log*P* vrijednosti razvili su Hansch, Fujita i Iwasa, a temelje se na zamjeni vodikova atoma nekim drugim supstituentom na osnovnoj strukturi molekule poznatog log*P* [17, 18]. Pri određivanju lipofilnosti ne uzima se u obzir čitava molekula, već skup derivata osnovnog spoja, gdje je veći dio strukture ostao isti. Kako bi istraživanje koeficijenta razdiobe bilo moguće, Hansch i suradnici su definirali π parametar:

$$\pi_x = \log P_{(R-X)} - \log P_{(R-H)}$$

odnosno

$$\log P_{(R-X)} = \log P_{(R-H)} + \pi_x$$

gdje $P_{(R\text{-}X)}$ i $P_{(R\text{-}H)}$ čine koeficijente razdiobe struktura *R-X* i *R-H* s tim da je struktura *R-X* izvedena iz strukture *R-H* zamjenom jednog vodikovog atoma supstituentom *X* [19]. Log*P* nije suma π vrijednosti već se π vrijednost supstituenta mora pribrojiti na log*P* osnovne strukture. Vrijednosti π konstanti donekle se razlikuju od strukture do strukture kao što se vidi iz tablice 2.

Tablica 2. Vrijednost π_x za različite osnovne strukture [20]

X	**X–C_6H_5**	**4–X–$C_6H_4OCH_2COOH$**	**4–X–$C_6H_4NO_2$**	**4–X–C_6HOH**
–H	0	0	0	0
–CH3	0,56	0,52	0,52	0,49
–F	0,14	0,15		0,31
–Cl	0,71	-0,78	0,54	0,93
–OH	-0,67	-0,61	0,11	-0,87
–OCH3	-0,02	-0,04	0,18	-0,12
–NH2	-1,23		-0,46	-1,63
–NO2	-0,28	0,24	-0,39	0,5
–CN	-0,57	-0,32	-0,66	0,14

Iz tablice je vidljivo da inertne skupine kao alkilne imaju relativno konstantne π vrijednosti dok su halogeni (–F, –Cl) donekle osjetljiviji na prisutnost drugog supstituenta. Najosjetljiviji su oni supstituenti koji imaju jedan slobodan elektronski par na heteroatomu izravno vezan na aromatski prsten (–OH, $–OCH_3$, $–NH_2$).

U kasnijem tabeliranju π konstanti, Hansch je odlučio načiniti oštru razliku između alifatskih i aromatskih supstituenata [20].

Očigledni je nedostatak π sustava u činjenici da je većina tih vrijednosti izvedena iz samo jedne vrijednosti log*P*, od koje je odbijena vrijednost log*P* osnovne strukture – benzena. Kako bi se ovako dobivene vrijednosti log*P* mogle uspješno primijeniti u korelacijskoj analizi, potrebno je eksperimentalno odrediti dovoljan broj log*P* za skup srodnih struktura tako da se mogu otkriti sve interakcije funkcionalnih skupina koje utječu na konačne rezultate.

3. REKKEROV FRAGMENTARNI SUSTAV RAČUNANJA log*P*

U izračunavanjima koeficijenta razdiobe preko π konstanti [17-20] dobiveni su pogrešni podaci za neke alifatske ugljikovodike, što je dovelo do zaključka da je prava hidrofobnost vodikova atom u sustavu *n*-oktanol/voda blizu nule. Davis je prvi upozorio na pogreške u tom pristupu, dokazavši da je hidrofobnost metilne skupine ($–CH_3$) znatno viša od hidrofobnosti metilenske skupine ($–CH_2$) [21]. Sljedeći ovaj pristup, Nys i Rekker su statistički obradili koeficijente razdiobe dostupne do 1973. godine na osnovi čega su stvorili skup fragmentarnih vrijednosti (Tablica 3) [16, 22, 23]. Iz tih vrijednosti, log*P* se mogao dobiti zbrajanjem prema formuli:

$$\log P = \sum a_n f_n$$

f – označava hidrofobnu fragmentarnu konstantu, odnosno lipofilni doprinos određenog dijela strukture ukupnoj lipofilnosti;

a – pokazuje broj pojavljivanja danog fragmenta u strukturi.

Tablica 3. Rekkerove konstante (*f*) za pojedini fragment [16]

FRAGMENT	***f***
–C_6H_5	1,886
–C_6H_4	1,688
–Cl ar.	0,922
–CH_3	0,702
–CH_2–	0,530
–CH= ar.	0,430
–S–	0,360
–CH–	0,235
–C= ar. al.	0,200
–Cl al.	0,061
–C≡N ar.	-0,205
–OH ar.	-0,343
–O– ar. Al.	-0,433
–N–	-0,520
–NH_2 ar.	-0,854
–C≡N al.	-1,066
–N= ar.	-1,012
–NH_2 al.	-1,428
–OH al.	-1,491
–SO_2– NH_2 ar.	-1,530
–C=O	-1,703
–NH– al.	-1,825
–SO_2– NH ar.	-1,992

Nys i Rekker su razvijali metodu kroz sedam koraka te utvrđivali vrijednosti koje odstupaju. Podaci dobiveni putem tih koraka pokazali su da je postignuto izvrsno slaganje između alifatskog i aromatskog skupa *f*-vrijednosti, što u π-sustavu nije bilo moguće. Učestalost pojavljivanja faktora 0,289 u tim istraživanjima potaknula ih je na proučavanje ove, kako ju je Rekker nazvao, „magične konstante“ (C_M). Ona je prikazana kao vrijednost koja poništava razliku između eksperimentalno određenih vrijednosti log*P* i onih dobivenih

jednostavnim zbrajanjem fragmentarnih vrijednosti. Općenito, primjena ove značajne konstante može se prikazati sljedećom jednadžbom:

$$\log P = \sum f + \sum k_n C_M$$

gdje C_M čini „magičnu konstantu“ (0,289), a k_n broj pojavljivanja C_M u strukturi koja se promatra (Tablica 4) [16].

Tablica 4. Pregled uporabe faktora C_M („magične konstante“) [16]

IZVOR	***k*n**
1. Blizina elektronegativnih grupa	
»1C« separacija	
$Cl–CH_2–Cl$	3x
»2C« separacija	
$Cl–CH_2–CH_2–OH$	2x
»3C« separacija	
$Cl–CH_2–CH_2–CH_2–OH$	0x
2. Kondenzirane aromatske strukture	1x
3. Aril-aril konjugacije	1x
4. Unakrsne konjugacije	1x
5. Konjugacije u ispruženim lancima	2x
6. Vodik vezan na elektronegativnu skupinu	1x
7. Razlika između alifatskog i aromatskog vezanja funkcionalnih skupina	najčešće 3x, ponekad 2x ili 4x
Primjeri:	
–COOH	3x
–OH	4x
–NH2	2x
8. Vodikove veze	2x
9. Rezonantne interakcije razdvojene utjecajem sterićkih faktora	1-4x
10. Razlike u hidrataciji funkcionalnih skupina	
sustavi otapala, osim n-oktanol/voda	promjenjivo
RPTLC	promjenjivo
HPLC	promjenjivo

4. FRAGMENTARNI SUSTAV HANSCHA I LEOA

Nedugo nakon Rekkera i suradnika, koji su objavili svoj vlastiti fragmentarni sustav, Leo i Hansch su predstavili svoj fragmentarni sustav. Oni su kao osnovu metode pažljivo odabrali nekoliko određenih koeficijenata razdiobe, koji u sebi ne uključuju nikakvu interakciju, koja bi mogla utjecati na hidrofobnost pojedinog fragmenta.

Osnovne fragmente u svom sustavu su izveli iz vrijednosti log*P* za metan, etan i vodik. Kombinirajući *f*(CH_3) i *f*(H) dobivene su i druge vrijednosti: *f*(CH_2), *f*(CH) i *f*(C). Fragmentarne vrijednosti za H i C atome smatraju se osnovnim vrijednostima potrebnim za izračunavanje log*P* svih alifatskih struktura. Sljedeći korak u njihovom sustavu bio je utvrđivanje faktora koji utječu na razdiobu tvari u sustavu otapala, a zbog kojih bi obično zbrajanje fragmentarnih vrijednosti dalo netočne rezultate. Stoga su Hansch i Leo, Rekkerovu jednadžbu proširili na:

$$\log P = \sum a_n f_n + \sum b_m F_m$$

f – označava hidrofobnu fragmentarnu konstantu, odnosno lipofilni doprinos određenog dijela strukture ukupnoj lipofilnosti;

a – pokazuje broj pojavljivanja danog fragmenta u strukturi;

F – faktor koji utječe na jednadžbu razdjeljenja ispitivane supstancije u sustavu otapala;

b – broj ponavljanja faktora *F*.

Da bi omogućili pravilno računanje log*P* vrijednosti, Leo i Hansch su izveli mnogo korekcijskih faktora. Između ostalog, to su korekcije za: dužinu lanca, veličinu prstena, konjugacije, aromatičnost, intramolekularne vodikove veze, vezanje prstenova, nezasićenost (dvostruke i trostruke veze) [20, 24].

5. RAČUNALNI PROGRAMI U IZRAČUNAVANJU LIPOFILNOSTI

Primjena računala značajno je utjecala na razvoj metoda izračunavanja lipofilnosti koje zamjenjuju dugotrajne eksperimentalne postupke. Pri izračunavanju log*P* koriste se brojni programski paketi od kojih su najpoznatiji Pro_log*P* 4.1., Clog*P* i LogKow. Za nesintetizirane spojeve računalne metode predstavljaju jedinu moguću metodu dobivanja log*P*

vrijednosti. Međutim, rutinska primjena računalnih programa zahtijeva njihovu stalnu provjeru i usporedbu s eksperimentalnim vrijednostima [25-27].

Pro_log*P* 4.1 je zadnja verzija programa za izračunavanje log*P*. Algoritam za izračunavanje se temelji na Rekkerovoj fragmentarnoj metodi. Nakon ucrtavanja strukturne formule istraživane supstancije, program izračunava njihove log*P* vrijednosti na osnovi zadane kemijske strukture. Također, program rasčlanjuje molekulu na najprikladnije fragmente.

Clog*P* program se temelji također na Rekkerovoj fragmentarnoj metodi. Međutim, način na koji Clog*P* objašnjava steričke, elektronske i interakcije nastale uslijed stvaranje vodikovih veza, znatno se razlikuje od Rekkerova pristupa. Putem jednostavnih pravila, program strukturu razbija u fragmente nakon čega konzultira „Fragmentarnu bazu podataka" u kojoj se nalazi čitav niz fragmentarnih vrijednosti struktura, čiji su koeficijenti razdiobe određeni [27].

LogKow program izračunava vrijednost log*P* koristeći se atom/fragmentarnom metodom. Vrlo je točan i jednostavan za korištenje. Verzija prilagođena Windows programskom paketu poznata je kao KowWin [28].

3.2.1.2. Kromatografski parametar R_M

Hidrofobnost se, osim koeficijentom razdjeljenja, log*P*, može izraziti i preko kromatografskog parametra R_M. Za određivanje R_M vrijednosti koristi se tankoslojna kromatografija, a u novije vrijeme sve više tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti obrnutih faza, RP-HPLC (engl. ***R**eversed-**P**hase **H**igh-**P**erformance **L**iquid **C**hromatography*). U provedbi eksperimenta metodom tankoslojne kromatografije, koriste se kromatografske ploče sa silikagelom kao nepokretnom fazom, impregnirane otopinom parafinskog ili silikonskog ulja u *n*-heksanu, a kao pokretna faza obično se koriste otopine pufera uz dodatak različitih koncentracija etanola ili acetona. Nakon provedbe eksperimenta i raspodjele ispitivane supstancije između pokretne i nepokretne faze (hidrofilne i lipofilne), R_M parametar se može izračunati prema jednadžbi:

$$R_M = log\left(\frac{R_F}{1 - R_F}\right) = log\left(\frac{1}{R_F} - 1\right)$$

R_F se eksperimentalno odredi kao omjer između udaljenosti koju je na kromatografskoj ploči prešla ispitivana supstancija, od starta do mjesta identifikacije, u odnosu na udaljenost koju je prešla pokretna faza, od starta do fronta [29, 30].

3.2.2. Teorija grafa i topološki deskriptori

Teorija grafa je grana matematike, koja se bavi proučavanjem načina povezanosti određenih objekata. U njoj, graf predstavlja geometrijski oblik koji se može direktno upotrijebiti za predstavljanje molekule, kada je jedino poznato svojstvo unutarnja povezanost (npr. da li postoji ili ne veza između dva atoma u molekuli).

Na jednostavan način može se prikazati pretvorba molekularne strukture u graf:

Kemijski naziv	**Graf teorijski naziv**
kemijska struktura	graf
atom	vrh (verteks)
kemijska veza	brid (linija)
kemijska veza između specifičnih elemenata (C-N, C-O)	utežani brid
valencija atoma	valencija vrha
aciklička struktura	stablo grafa
linearni alkan ili polien	lanac
cikloalkan ili anulen	cklus
Hückelova (topološka) matrica	matrica susjedstva

Karakterizacija molekule pomoću grafa može se ostvariti pomoću matrice ili niza brojeva. Numerički indeks koji karakterizira molekulu naziva se topološki indeks. On numerički izražava topološku informaciju za određeni spoj koja nam daje naznake o veličini i obliku, tj. prirodi kemijske strukture.

Postavljanje shema pomoću topoloških indeksa odvija se u dva koraka:

1. Molekularna struktura se prikaže brojem pomoću određenog topološkog indeksa.
2. Pronalazi se kvantitativni odnos (matematički model) između topološkog indeksa i fizičko-kemijskih svojstava (QSPR) ili biološke aktivnosti (QSAR) serije spojeva koji se ispituju.

Do danas je poznat čitav niz topoloških indeksa kojima se znanstvenici svakodnevno koriste [31, 32, 33]. U ovom radu ćemo se posvetiti osnovnim, dobro poznatim indeksima koji vrlo dobro opisuju strukturu molekule. To su: Wienerov broj, Randićev indeks, Balabanov indeks, Trinajstićev broj i informacijsko-teorijski indeks. Danas su ovi indeksi doživjeli brojne modifikacije i sastavni su dio različitih programskih paketa kojima se struktura molekule izražava brojem (Tablica 5).

Tablica 5. Programski paketi [43-51]

Računalni programi za predviđanje ADME parametara			
Programi koji promatraju dijelove molekule (engl. *sub-structure approach*)		**Programi koji promatraju molekulu u cijelini** (engl. *whole molecule approach*)	
Metode atomskih doprinosa	Fragmentarne metode	Topološki indeksi	Molekularni lipofilni potencijal
XLOG*P*, HyperChem, Osiris, VEGA ZZ (Crippen i Broto)	CLOG*P*, KowWin, miLog*P*, MolLog*P*	ChemSilico, ALOG*P*S, MLOG*P*, IA_LOG*P*	VEGA ZZ (Virtual log*P*)

3.2.2.1. Wienerov broj ili Wienerov indeks, *W*(G)

Topološki indeks koji je danas poznat kao Wienerov broj ili Wienerov indeks otkrio je 1947. godine američki kemičar Herbert Wiener [34]. U svojim je radovima pisao o povezanosti novootkrivenog indeksa i velikog broja fizičko-kemijskih svojstava alkana. U kasnijim istraživanjima pokazano je da se Wienerov broj može primijeniti i na cikličke strukture.

Ovaj broj govori o topološkoj udaljenosti između dva vrha (atoma) u grafu (molekuli). Prema Wieneru topološka udaljenost između dva vrha (atoma) u grafu jednaka je najmanjem broju bridova (veza) među njima. Wienerov broj predstavlja zbroj svih topoloških udaljenosti u nekoj strukturi G, a računa se prema jednadžbi:

$$W(G) = \frac{1}{2} \cdot \sum_{ij} (D)_{ij}$$

gdje D_{ij} predstavlja elemente matrice udaljenosti.

Matrica udaljenosti *D* tvori se brojanjem veza najkraće udaljenosti između parova atoma u strukturi. Budući da je matrica udaljenosti simetrična matrica, dovoljno je razmotriti gornji trokut matrice.

Wienerov indeks postao je uobičajeno mjerilo za kompaktnost molekule; što je Wienerov indeks manji, veća je kompaktnost molekule [30, 35].

Wienerov broj raste s veličinom molekule, a opada s njezinom razgranatošću što se lijepo vidi na primjeru izomera oktana (Tablica 6) [2].

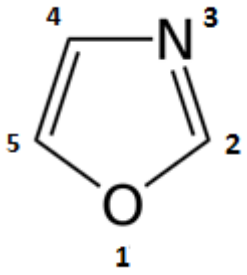
Tablica 6. Topološki indeksi za izomere oktana [2]

UGLJIKOVODIK	***W*(*G*)**
oktan	84
3-etilheksan	72
4-metilheptan	75
3-metilheptan	76
2-metilheptan	79
2,5-dimetilheksan	74
2,2,3-trimetilpentan	63
2,2,3,3-tetrametilbutan	58

Wienerov broj ne razlikuje heteroatome u molekuli pa je to njegov najveći nedostatak. Time strukturna svojstva određena Wienerovim indeksom nisu potpuna. Iz tog razloga koriste se i drugi topološki indeksi (Randićev, Balabanov, Trinajstićev itd.) koji strukturu razmatraju na drugačiji način.

Primjer izračunavanja Wienerovog indeksa

STRUKTURA *G*



MATRICA UDALJENOSTI *D*

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	
1	0	1	3	3	1	= 8
2	1	0	2	3	2	= 8
3	3	2	0	1	3	= 9
4	3	3	1	0	2	= 9
5	1	2	3	2	0	= 8
						∑ = 42

$$W(G) = \frac{1}{2} \cdot \sum_{ij} (D)_{ij}$$

$$W(G) = \frac{1}{2} \cdot 42$$

$$W(G) = 21$$

3.2.2.2. Randićev indeks povezanosti, χ(G)

Vrsta atoma i način na koji su povezani u molekuli je osnovna karakteristika strukture pa tako i svojstava molekule. Polazeći od topoloških teorija, Milan Randić je uveo pojam indeksa molekularne veze (χ), a Kier i suradnici su zatim taj indeks primijenili na nekoliko primjera u medicinskoj kemiji. Empirijski su potvrdili da postoji linearna ovisnost između χ i veličine molekule, površine molekule, topljivosti u vodi, vrelišta i polarnosti, a također i biološke aktivnosti.

Randić je okarakterizirao vezanje iz grafa tako da je sve veze u molekuli prikazao parovima vrijednosti (m, n) gdje m i n predstavljaju valenciju za svaki vrh. Potom se određuje vrijednost pojedinom paru (m, n) kako bi se njihov doprinos što bolje slagao u dobivenom parametru kada se zbroje vrijednosti svih parova (veza) u molekuli. Prema Randiću indeks povezanosti jednak je zbroju drugog korijena recipročnih vrijednosti produkata valencija dvaju susjednih vrhova te je definiran izrazom:

$$\chi(G) = \sum_{i=1}^{n} \frac{1}{\sqrt{V_i V_j}}$$

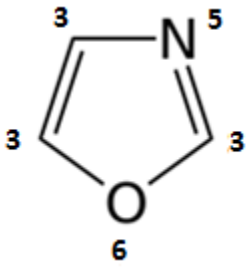
Kier i suradnici su modificirali Randićev indeks uvodeći poseban tretman za heteroatome [36].

Tablica 7. Vrijednosti valencija za heteroatome prema Kieru [37]

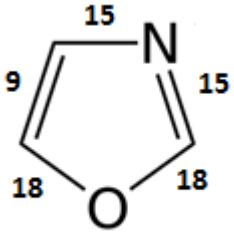
FRAGMENT	**valencija**	**FRAGMENT**	**valencija**
Piridin N	6	C=NH	4
Nitro N	6	H_20	4
N^+	6	NH_2	3
O	6	NH_2^+	3
C=O	6	H_30^+	3
O=NO	6	NH_3	2
N	5	NH_4	1
C=N	5	Cl	0,690
OH	5	Br^-	0,254
NH	4	I	0,085

Primjer izračunavanja Randićevog indeksa

VALENCIJE VRHOVA:



TEŽINE GRANA:



$$\chi(G) = \sum_{i=1}^{5} \frac{1}{\sqrt{V_i V_j}}$$

$$\chi(G) = \frac{2}{\sqrt{18}} + \frac{2}{\sqrt{15}} + \frac{1}{\sqrt{9}}$$

$$\chi(G) = 1{,}321$$

3.2.2.3. Balabanov indeks, *J*(G)

Topološki indeks, označen s *J*(*G*) 1982. godine predložio je Balaban i po njemu se naziva Balabanov indeks. Balaban je, zbog jednostavnosti indeksa povezanosti i strukture matrice, predložio indeks povezanosti koji uključuje zbroj prosječnih udaljenosti između atoma u strukturi. Indeks *J* neke strukture *G* definira se izrazom:

$$J(G) = \frac{M}{c+1} \sum_{bridovi} (d_i d_j)^{-1/2}$$

gdje je *M* broj bridova (veza) u grafu (strukturi), *c* ciklomatski broj grafa, a d_i zbroj udaljenosti u grafu od određenog vrha (tj. elementi d_i jednaki su zbroju svih elemenata u pojedinom retku matrice udaljenosti).

Ciklomatski broj *c* ukazuje na broj prstenova u strukturi i jednak je najmanjem broju bridova koji se trebaju ukloniti kako bi se (poli)ciklička struktura prevela u acikličku. Uveden je u formulu jer prstenovi u strukturi znatno smanjuju vrijednost d_i, a definiran je izrazom:

$$c = M - N + 1$$

gdje je *N* broj atoma (vrhova) u molekuli [38].

3.2.2.4. Trinajstićev indeks (modificirani Balbanov indeks)

Trinajstić i suradnici su 1983. godine modificirali Balabanov indeks tako da se može primijeniti na heterosustave. Oni su dali novi prijedlog slaganja matrice udaljenosti za heterosustave, koji se prikazuju utežanim grafovima. Elementi matrice udaljenosti za heterosustave se definiraju ovako:

a) Dijagonalni elementi $(D)_{ii} = 1 - Z_c/Z_i$

gdje je *Zc* broj svih elektrona ugljika, a *Zi* broj svih elektrona.

b) Nedijagonalni elementi

$$(D)_{ij} = \sum_r kr$$

$$kr = \frac{1}{br} \cdot \frac{Z_c^2}{Z_i Z_j}$$

gdje je *br* red veze (1 za jednostruku, 2 za dvostruku, 3 za trostruku vezu) [39].

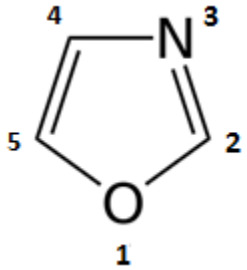
Tablica 8. Vrijednost $(D)_{ii}$ [40]

$(D)_{ii}$	Atom *i*
0	ugljik
0,143	dušik
0,25	kisik
0,625	sumpor
0,333	fluor
0,647	klor
0,6	fosfor

Tablica 9. Parametri k_r za neke kemijske veze [40]

k_r	kemijska veza
1	C–C
0,5	C=C
0,333	C≡C
0,67	arom. C–C
0,857	C–N
0,429	C=N
0,571	arom. C–N
0,75	C–O
0,375	C=O
0,735	N–N
0,368	N=N
0,667	C–F
0,353	C–Cl

Primjer izračunavanja Balabanovog indeksa:



$N = 5$

$M = 5$

$C = M - N + 1 = 1$

MATRICA UDALJENOSTI *D*

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	
1	0,25	0,75	1,179	1,25	0,75	$d_1 = 4{,}179$
2	0,75	0	0,429	1,286	1,5	$d_2 = 3{,}965$
3	1,179	0,429	0,143	0,857	1,357	$d_3 = 3{,}744$
4	1,25	1,286	0,857	0	0,5	$d_4 = 3{,}893$
5	0,75	1,5	1,357	0,5	0	$d_5 = 4{,}107$

$$J(G) = \frac{M}{c+1} \sum_{bridovi} (d_i d_j)^{-1/2}$$

$$J(G) = \frac{5}{2} \cdot \left[(d_1 d_2)^{-1/2} + (d_2 d_3)^{-1/2} + (d_3 d_4)^{-1/2} + (d_4 d_5)^{-1/2} + (d_5 d_1)^{-1/2}\right]$$

$$J(G) = \frac{5}{2} \cdot \left[\frac{1}{\sqrt{8{,}144}} + \frac{1}{\sqrt{14{,}845}} + \frac{1}{\sqrt{14{,}575}} + \frac{1}{\sqrt{15{,}988}} + \frac{1}{\sqrt{17{,}163}}\right]$$

$$J(G) = 3{,}408$$

3.2.2.5. Informacijsko-teorijski indeks, *I*(G)

Informacijsko-teorijski indeks se temelji na pretpostavci da svaka struktura posjeduje određeni sadržaj informacije koji kemičari nazivaju „kemijski sadržaj informacije“, za razliku od „sadržaja informacije“ koji jedino ima precizno značenje u matematičkoj teoriji komunikacija. Teorija informacije u Shannonovoj formulaciji upotrijebljena je za izvođenje informacijskih indeksa, koji mjere stupanj složenosti molekulske strukture.

Stupanj složenosti *S* nekog kemijskog sustava (molekule) od *N* elemenata dan je relacijom:

$$S = -\sum_{i=1}^{n} \frac{N_i}{N} log_2 \frac{N_i}{N}$$

gdje je *S* sadržaj informacije, *N* broj elemenata, a *n* broj različitih skupova elemenata populacije N_i, a zbroj ide preko svih skupova. Uzet je logaritam s bazom 2 da bi se sadržaj informacije izrazio u bitima. Bit je jedinica informacije u teoriji informacije i jednaka je količini informacije potrebnoj da se specificira jedna od mogućnosti, tj. da se razlikuje 1 ili 0 u binarnoj notaciji. Gornja se jednadžba zove Shannonova jednadžba i može se primijeniti na različite molekulske strukture, matematičke sustave, kvantno-kemijske sustave itd.

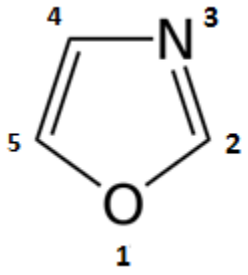
Ako se Shannonova jednadžba primijeni na matricu udaljenosti, dobije se jedan od informacijskih indeksa koji je izražen relacijom:

$$S_d = -\sum_{i=1}^{n} \frac{2N_i}{N(N-1)} log_2 \frac{2N_i}{N(N-1)}$$

Budući da je matrica udaljenosti simetrična matrica, dovoljno je razmotriti gornji trokut matrice jer sadrži sve relevantne podatke za primjenu teoriju informacija kao i cijela matrica [4].

Primjer izračunavanja informacijsko-teorijskog indeksa:

STRUKTURA *G*



MATRICA UDALJENOSTI *D*

	1	**2**	**3**	**4**	**5**
1	0	1	3	3	1
2	1	0	2	3	2
3	3	2	0	1	3
4	3	3	1	0	2
5	1	2	3	2	0

$N = 5$

i = 1 $N_i = 3$

i = 2 $N_i = 3$

i = 3 $N_i = 4$

$$S_d = -\sum_{i=1}^{n} \frac{2N_i}{N(N-1)} log_2 \frac{2N_i}{N(N-1)}$$

3.3. Molekularno modeliranje u dizajnu lijekova

Molekularno modeliranje je najsuvremeniji pristup u dizajniranju lijekova u kojemu se prvenstveno misli na dizajniranje lijekova pomoću računala, CAMD (engl. ***C**omputer-**A**ided **M**olecular **D**esign*). Dvije temeljne metode, na kojima počiva molekularno modeliranje, su molekularna mehanika i kvantna-kemija.

3.3.1. Molekularna mehanika

Temelj molekularne mehanike čini pojam konformacijskog potencijala (steričkog napona) koji se može izraziti jednandžbom:

$$V_{tot} = V_1 + V_\theta + V_\varphi + V_{nv} + ..$$

Iz jednadžbe se vidi da se ukupna potencijalna energija (V_{tot}) prikazuje kao zbroj energija koje ovise o duljini kemijskih veza (V_1), valencijskih (V_θ) i torzijskih (V_φ) kutova te nevezanih udaljenosti (V_{nv}) uz moguće dodatne članove. Iz navedene jednadžbe se vidi da molekularna mehanika odstupa od idealne strukture molekule, koja bi imala idealne vrijednosti navedenih parametara, te polazi od klasične predodžbe molekule kao skupine atoma povezanih vezama pa se zbog toga zove još i metoda klasičnog polja sila.

Svaka konformacija ima određenu energiju koja se može izračunati iz prethodno navedene jednadžbe. U molekularnoj mehanici ta energija nije toliko bitna, već se traže minimumi te funkcije koji odgovaraju stabilnim stanjima sustava. Problem je taj što jedna molekula može imati na tisuće stabilnih konformacija odnosno minimuma te funkcije, a da bi se taj problem rješio potrebno je za svaku pretpostavljenu stabilnu konformaciju konstruirati početnu strukturu (jedna struktura daje jedan minimum) [2].

3.3.1.1. Traženje najstabilnijih konformera

Kao što je već navedeno, osnovni cilj molekularne mehanike je pronaći konformaciju koja ima minimalnu energiju. Svaka molekula ima velik broj konformera (npr. 3^{n-2} za alifatski lanac, gdje je *n* broj veza C–C). Međutim, postoje metode koje traže konformere niske energije, a smatra se da su samo konformeri s energijom manjom od 30 kJ mol^{-1} farmakološki aktivni, tj. da se mogu vezati za aktivno mjesto receptora.

Metode za traženje konformacija niske energije mogu se podijeliti na tri osnovne skupine:

1. **Intuitivno-empirijske metode**. Polaze od pretpostavke da se unaprijed mogu isključiti strukture koje će dati konformacije visoke energije.
2. **Metode izgradnje molekularne geometrije**. Polaze od pretpostavke da je energija molekule jednaka sumi energije njezinih segmenata, tj. da se interakcije među segmentima mogu zanemariti.
3. **Metoda istraživanja plohe konformacijske energije**. Dvije su osnovne skupine tih metoda: metode Monte Carlo (MC) kojima se promjene konformacije simuliraju stohastički i metode utemeljene na molekularnoj dinamici (MD) koje izazivaju promjene konformacije simuliranjem internog gibanja molekule [2].

Tablica 8. Metode za pronalaženje konformacija niske energije [2]

Metoda/program	**Vrsta**	**Opis**
CONGEN CONCORD	intuitivno-iskustvena	Konstrukcija i isključivanje početnih konformacija po više kriterija (R. E. Bruccoleri, 1987; R. S. Pearlman, 1987., 1993.)
biblioteka rotamera	intuitivno-iskustvena	Pregled konformacija pobočnih lanaca proteinskih aminokiselina s pripadnim energijama (J. Ponder, 1987.)
generička	intuitivno-iskustvena	Pronalazi kriterije prema kojima konformer ima nisku energiju (M. J. J. Blommers, 1992.)
algoritam A	segmentna	Analiza puta kojim se od subkonformacija dolazi do konformacija (A. R. Leach, 1990.)
SMAPPS	Monte Carlo (importance sampling)	Stohastičko pretraživanje konformacijskog prostora s usredotočenjem na predjele niske energije (G. H. Paine, 1985.)
simulirano otpuštanje (engl. *simulated annealing*)	molekularno-dinamička	Simulacija postepenog gubljenja interne energije konformera (S. R.Wilson, 1990).

3.3.2. Kvantno-kemijske metode

Kvantna kemija polazi od predodžbe molekule kakvom je vidi fizičar. S tog gledišta molekula predstavlja skup čestica koje se gibaju u električnom polju koje same stvaraju. To gibanje se može najopćenitije prikazati Schrödingerovom jednadžbom:

$$H\psi = E\psi$$

gdje je *H* operator sveukupne energije sustava (hamiltonijan), *E* je energija sustava, a ψ valna funkcija.

Energija je mjerljivo svojstvo sustava (opservabla), a ψ je mjera vjerojatnosti (p) pronalaženja čestice u nekom dijelu prostora. Hamiltonov operator *H* povezuje geometrijska svojstva sustava s njegovom energijom.

Glavni zadatak kvantne kemije je rješiti Schrödingerovu jednadžbu za neki sustav (npr. atom, molekulu ili molekularni kompleks). To nije jednostavan zadatak budući da osim opservabli (energije) nije ništa drugo poznato. Međutim, postoje metode koje olakšavaju navedeni problem. Jedna od metoda je metoda linearne kombinacije atomskih orbitala (engl. ***L**inear **C**ombination of **A**tomic **O**rbitals*, LCAO) koja omogućuje konstrukciju valne funkcije sustava, ψ, iz temeljnih atomskih orbitala, φ, a definira se izrazom:

$$\psi = \sum c_i \varphi_i$$

gdje su c_i parametri, a φ_i elementarne valne funkcije.

Osim te metode u kvantnoj se kemiji rjeđe koristi perturbacijska metoda koja polazi od pretpostavke da je pravo rješenje pomaknuto (perturbirano) za neki iznos γ od početnog, aproksimativnog rješenja. Napiše li se Schrödingerova jedndžba za aproksimativno rješenje:

$$H_o\psi_{no} = E_{no}\psi_{no}$$

tada će pravo, perturbirano rješenje imati:

$$(H_o + \gamma H)\psi_n = E_n\psi_n$$

Temeljni problem kvantno-kemijskih metoda je presložena Schrödingerova jednadžba koja se rješava bez aproksimacija. Stoga se kvantno-kemijske metode razvijaju, uglavnom

namjenski, za proračun određenog fizičkog svojstva ili za istraživanje neke određene klase molekula [2].

Tablica 9. Prikladnost kvantno-kemijskih metoda za proračun svojstava molekule [2]

Svojstva molekule	**Metoda**
Toplina atomizacije	MINDO
Ionizacijski potencijal	MINDO
Dipolni moment	CNDO, EHM
Duljina veze	MINDO, CNDO, PPP
Vezni kutovi	CNDO, EHM
Konformacijska energija	MINDO, EHM, PCILO
Elektronski prijelazi	PPP, CNDO
Reaktivnost	MINDO

3.4. In silico modeliranje lijekova

Otkriće lijekova krajem dvadesetog i početkom dvadeset i prvog stoljeća doživjelo je veliki broj promjena pomoću kojih se unaprijed moglo predvidjeti hoće li određeni spoj imati željeni biološki učinak. Te promjene uključuju korištenje računalnih metoda (*in silico*), koje su komplementarne tradicionalnom *in vivo* i *in vitro* pristupu, za pronalaženje i optimizaciju vodećeg spoja. *In silico* modeliranje je dodatno olakšano postojanjem velikih skupova podataka dobivenih metodom probira, HTS (engl. ***H****igh* ***T****hroughput* ***S****creening*) [41].

3.4.1. Novi pristup modeliranju bolesti

U istraživanju novih lijekova glavni problem je postavljanje modela bolesti jer zahtjeva dokaze o vezi između modela fenotipa bolesti i stvarne bolesti u čovjeka. Razvojem *in silico* modela u dizajnu lijekova dizajniranje se započelo provoditi na modelima bolesti koji se temelje na određenim pretpostavkama da bi se zatim na tim modelima ispitivalo djelovanje potencijalnih lijekova pomoću računalnih alata koji simuliraju djelovanje lijeka. Međutim, šezdesetih godina dvadesetog stoljeća, kada se *in silico* model počeo razvijati, klasifikacija bolesti nije bila optimalna u svrhu otkrivanja novih lijekova. Razlog je činjenica da isti lijek nema istu učinkovitost u subpopulacijama pacijenata te da se pronalaze alternativne indikacije za različite lijekove. Pokušao se pronaći novi način klasificiranja bolesti koji bi znatno pomogao u razvoju novih lijekova.

In silico model je najveći napredak dobio razvojem molekularne biologije, otkrićem ljudskog genoma te rastavljanjem bioloških sustava na molekularne razine i razumijevanjem činjenice da se jedan biološki sustav može razumijeti tek simulacijama na više različitih razina i integriranjem simulacija sa nižih razina (molekularnih) u simulacije na višim razinama (organi). U kasnijim godinama, razvojem analitičke i računalne tehnologije u biologiji, omogućeno je određivanje preklapanja između modela bolesti i stvarnih mehanizama bolesti na molekularnoj razini, što je znatno doprinijelo razvoju *in silico* modela [40, 42].

3.4.2. Računalno modeliranje lijekova, CADD (engl. *Computer Aided Drug Design*)

Posljednjih dvadesetak godina razvili su se brojni programski paketi za dizajniranje molekula lijekova odnosno programi za stvaranje baza podataka potrebnih za računalno dizajniranje lijekova. Računalno dizajniranje liganada namijenjeno je dizajniranju molekula koje će se, zahvaljujući svojoj strukturi, dobro vezati za enzime ili receptore na ciljnom mjestu djelovanja. Međutim, osim strukture molekule potencijalnog lijeka potrebno je zadovoljiti još niz farmakoloških svojstava što danas još nije u potpunosti moguće (transport na specifično mjesto djelovanja, metaboličku stabilnost, mogućnost stvaranja ovisnosti, selektivnost, prikladnu molekulsku masu, itd.).

Najpoznatiji programski paketi za dizajniranje molekula lijekova npr. s obzirom na prolaz kroz staničnu membranu dijele se u dvije skupine (tablica 3):

1. Programi koji promatraju dio molekule (engl. *sub-structure approach*):
    - HyperChem 7,0 – program za izračunavanje log*P* vrijednosti prema metodi koju su utemeljili Ghose, Prichett i Crippen, a zasniva se na zbrajanju atomskih doprinosa [43].
    - XLOG*P* 2,0 – program za izračunvanje log*P* vrijednosti koji se zasniva na zbrajanju atomskih doprinosa (90 vrsta atoma i 10 faktora korekcije). Pokazao se točnijim od ostalih metoda koje se zasnivaju na atom-aditivnim doprinosima [44].
    - VEGA ZZ – program se koristi za izračunavanje log*P* vrijednosti, izračunavanje raspodjele lipofilnosti unutar molekule (lipol vrijednost) te zbroja umnoška udaljenosti atoma od središta molekule i lipofilnog doprinosa atoma [45].
    - Osiris – program za predviđanje ADME parametara (log*P*, toksičnost, mutagenost) [46].
    - KowWin – izračunava log*P* vrijednost za organske spojeve [47].
    - CLOG*P* – jedna od najstarijih metoda za izračunavanje log*P* vrijednosti koja se još uvijek smatra jednom od najtočnijih metoda za predviđanje lipofilnosti lijekova [48].

2. Programi koji promatraju molekulu u cijelini (engl. *whole structrue approach*):
    - ALOG*P*S 2,1 – program za predviđanje lipofilnosti i topljivosti organskih spojeva [49].
    - MLOG*P* – program za izračunavanje QSAR i QSPR deskriptora te predviđanje lipofilnosti na osnovu regresijske jednadžbe koja uključuje trinaest strukturnih parametara [50].
    - ChemSilico – služi za izračunavanje ADME parametara: lipofilnosti, intestinalna apsorpcija, stupanj vezivanja za proteine plazme, prolazak kroz krvno-moždanu barijeru, mutagenost [51].

Da bi se započelo s računalnim dizajniranjem lijekova potrebno je prethodno odrediti mjesta vezanja na ciljnoj molekuli proteina (metodom nuklearne magnetske rezonance, rendgenskom snimkom i kristalografijom) čija se struktura zatim koristi za pretraživanje postojeće baze podataka trodimenzijskih strukutra molekula ili za konstruiranje nove molekule potencijalnog lijeka. Nakon pronalaženja molekula koje se mogu vezati za protein korisno je pronaći 3D strukturu kompleksa protein-ligand, što može biti ključno za pronalaženje nove molekule koja ima bolji farmakološki profil od poznatih spojeva ili molekula iz već postojeće baze podataka. Nakon što se u potpunosti ustanovi struktura kompleksa slijedi optimizacija afiniteta vezanja liganda, fizičko-kemijskih i farmakoloških svojstava nove molekule.

Proces optimizacije molekule koji vodeće molekule pretvara u potencijalne lijekove najčešće uključuje povećanje molekulske mase, lipofilnosti, broja prstenova, rotirajućih veza te broja donora i akceptora vodikovih iona. Najvažniji faktor za uspješnu optimizaciju molekule potencijalnog lijeka je izbor prave molekule za optimizaciju, a on se najčešće svede na onu molekulu koja je najpotentnija. Osim potentnosti u obzir se treba uzeti i veličina molekule jer optimizacija obično dovodi do povećanja molekulske mase i lipofilnosti, što iziskuje dodatnu optimizaciju fizičko-kemijskih osobina molekula potencijalnog lijeka. Jedan od načina optimizacije je uklanjanje pojedinih dijelova molekule kako bi se odredila važnost nekog dijela molekule za biološku aktivnost. Uklanjanjem polarnih grupa iz molekule (osobito donora i akceptora vodikovih iona) može dovesti do jačanja vodikovih veza što može povećati biološku aktivnost i selektivnost molekule. Međutim, nije neuobičajeno ni da se optimizacija provodi na način da se prvo nađe najpotentnija molekula kojoj se tada pokušava povećati polarnost kako bi se povećala topljivost, a zatim se istim pristupom podešavaju i

ostala svojstva molekule. Kod ovakvog pristupa simultano poboljšavanje fizičko-kemijskih i farmakoloških svojstava obično je efikasnije.

Važno je naglasiti da se kod odabira molekula koje će se razvijati u potencijalni novi lijek uvijek odabire istraživanje grupe molekula, a ne samo jedne najizglednije molekule. Strategija može uključivati ispitivanje serije molekula, ali i podgrupe unutar serije ili nekoliko serija molekula. Razlog tog fokusiranja na serije molekula je ispitivanje značajnih grupa spojeva npr. grupa molekula koje pokazuju specifičan SAR (engl. ***S**tructure-**A**ctivity **R**elationship*) ili molekula koje imaju specifične interakcije s mjestom vezanja odnosno molekule koje pokazuju efikasnost na nekom modelu. Ispitivanje više skupina molekula koje imaju zajednička svojstva te evaluacija njihovih dobrih i slabih strana trebala bi u konačnici olakšati odluku o fokusiranju na neku skupinu molekula [40].

U računalnom dizajniranju lijekova i dan danas postoji mnogo prostora za daljni napredak. Stalno napredovanje metodologija i razvoj novih pristupa pomoću računala kao i sve veće mogućnosti računala predstavljaju temelj daljnjem napretku ove tehnologije.

4. REZULTATI

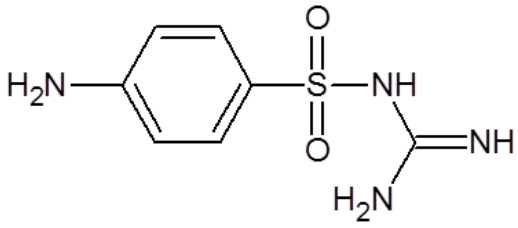
4.1. Izračunavanje topoloških indeksa i prikaz dobivenih rezultata na spojevima iz skupine sulfonamida

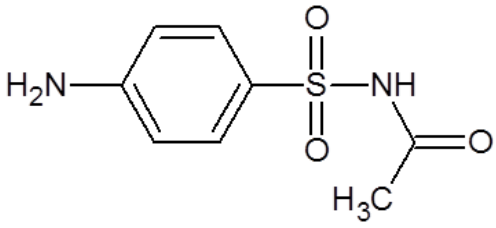
Za jednostavnije indekse poput Wienerovog, $W(G)$ i Randićevog, $\chi(G)$ indeksa u sljedećim poglavljima bit će detaljno prikazan princip izračunavanja. Međutim, zbog složenih proračuna i velike mogućnosti pogrešaka, a i zbog vrijednosti koje često nisu cjelovite, danas se svi indeksi isključivo izračunavaju putem programskih paketa. Izbor programskog paketa obično ovisi o vrsti indeksa koji se želi izračunati, s obzirom na svojstvo molekule koji taj indeks karakterizira, a često ovisi i o financijskim mogućnostima istraživača. U ovome radu za izračunavanje topoloških indeksa korišten je programski paket TAM [52].

4.1.1. Izračunavanje Wienerovog indeksa, *W*(G), za sulfacetamid i sulfagvanidin

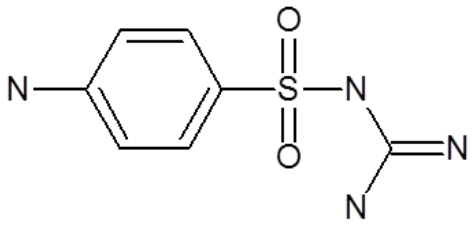
Wienerov indeks je određen za dvanaest istraživanih spojeva iz skupine sulfonamida, a provodi se u nekoliko koraka. Princip izračunavanja $W(G)$ bit će prikazan za sulfacetamid i sulfagvanidin, a svim ostalim sulfonamidima je izračunat na isti način.

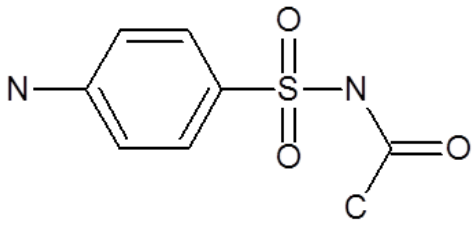
Prvi korak u računanju Wienerovog indeksa je prikazati strukturu molekule čiji indeks želimo izračunati. U ovom slučaju biti će prikazana struktura sulfacetamida i sulfagvanidina:



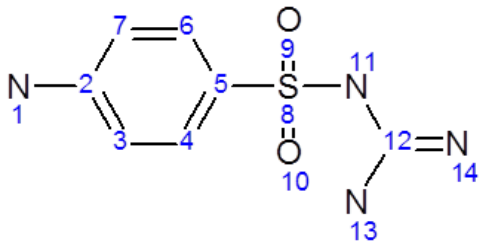


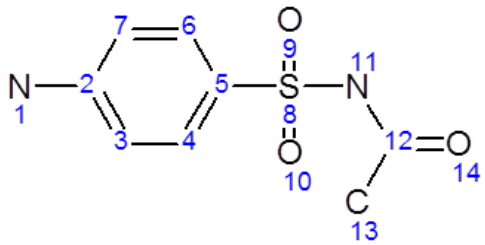
Sljedeći korak je prikaz H-suprimiranog grafa, tj. strukture bez H-atoma. Na taj način se smanjuje broj redaka i stupaca u matrici udaljenosti i pojednostavljuje izračunavanje indeksa.





Tako prikazanom H-suprimiranom grafu numeriraju se vrhovi molekula. Potpuno je svejedno od kojeg atoma započinje numeriranje.





Zatim, kao što smo već prikazali na jednostavnom primjeru molekule oksazola (vidi 3.2.2.1.), određujemo matricu udaljenosti. Matrica udaljenosti *D* tvori se brojanjem veza najkraće udaljenosti između parova atoma u strukturi. Budući da je matrica udaljenosti simetrična matrica, dovoljno je razmotriti samo gornji trokut matrice. Potom se zbroje vrijednosti u svakom retku i konačno se zbrajaju vrijednosti u dobivenom stupcu. Izračunata vrijednost predstavlja Wienerov indeks *W*(*G*).

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**	
1	0	1	3	4	5	4	2	6	8	8	7	8	9	10	= 75
2		0	2	3	4	3	1	5	7	7	6	7	8	9	= 62
3			0	1	3	4	3	4	6	6	5	6	7	8	= 53
4				0	2	3	4	3	5	5	4	5	6	7	= 44
5					0	1	3	1	3	3	2	3	4	5	= 25
6						0	2	2	4	4	3	4	5	6	= 30
7							0	4	6	6	5	6	7	8	= 42
8								0	2	2	1	2	3	4	= 14
9									0	4	3	4	5	6	= 22
10										0	3	4	5	6	= 18
11											0	1	2	3	= 6
12												0	1	2	= 3
13													0	3	= 3
14														0	= 0
															∑ = 397

Zadnji korak je prikazivanje rezultata koristeći jednažbu prema Wieneru:

$$W(G) = \frac{1}{2} \cdot \sum_{ij} (D)_{ij} = 397$$

$$W(G - sulfacetamid) = 397$$

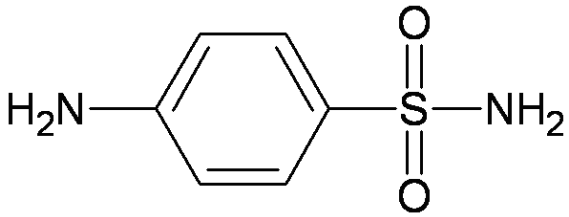
$$W(G - sulfagvanidin) = 397$$

Iz navedenih primjera vidimo kako Wienerov broj ne uvažava razlike u vrstama atoma tj. ne razlikuje C i H atome od heteroatoma, već je za njegov izračun, isključivo bitan broj veza u molekuli. Zbog toga, i dvije različite molekule kao što su sulfacetamid i sulfagvanidin, mogu imati istu vrijednost Wienerovog broja. To se smatra osnovnim nedostatkom Wienerovog indeksa.

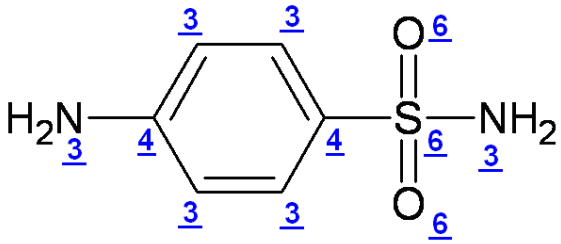
4.1.2. Izračunavanje Randićevog indeksa, $\chi(G)$, za sulfanilamid

Randićev indeks je određen za dvanaest istraživanih spojeva iz skupine sulfonamida, a provodi se u nekoliko koraka. Princip izračunavanja $\chi(G)$ bit će prikazan za sulfanilamid, a svim ostalim sulfonamidima je izračunat na isti način.

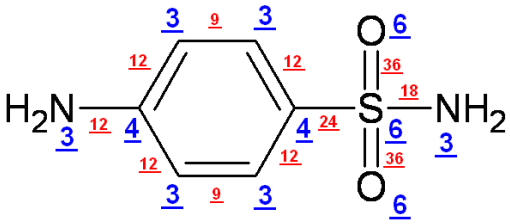
Prvi korak u računanju Randićeva indeksa je prikazati strukturu molekule čiji indeks želimo izračunati, u ovom slučaju strukturu sulfanilamida.



Zatim je potrebno odrediti „valencije“ vrhova. Valencije pišemo u navodnicima jer to nisu prave valencije već govore o broju veza na pojedinom atomu. Tako primjerice C-atom može biti „jednovalentan“, „dvovalentan“, „trovalentan“ ili „četverovalentan“ ovisno o broju veza na njemu.



Nakon određivanja valencija, računamo težine grana (veza između atoma) na taj način da pomnožimo valencije dvaju susjednih vrhova.



Zadnji korak je prikazivanje rezultata, uvrštavanjem gore dobivenih vrijednosti u jednadžbu za izračunavanje Randićevog indeksa:

$$\chi(G) = \sum_{i=1}^{12} \frac{1}{\sqrt{V_i V_j}}$$

$$\chi(G) = \frac{2}{\sqrt{9}} + \frac{5}{\sqrt{12}} + \frac{1}{\sqrt{18}} + \frac{1}{\sqrt{24}} + \frac{2}{\sqrt{36}}$$

$$\chi(G) = 0{,}667 + 1{,}443 + 0{,}236 + 0{,}204 + 0{,}333$$

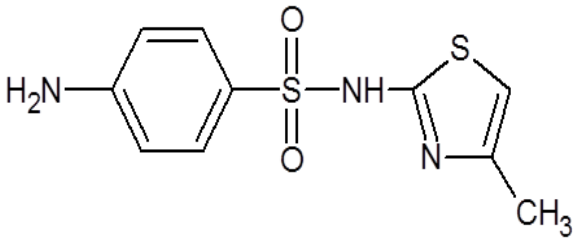
$$\chi(G) = 2{,}883$$

Randićev indeks, za razliku od Wienerovog, uvažava razlike između različitih vrsta atoma i veza.

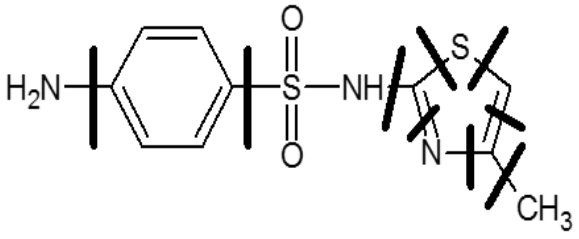
4.1.3. Izračunavanje log*P* metodom po Rekkeru za sulfametiltiazol

Koeficijent razdiobe je određen za dvanaest istraživanih spojeva iz skupine sulfonamida, a provodi se u nekoliko koraka. Princip izračunavanja log*P* biti će prikazan za sulfametiltiazol, a svim ostalim sulfonamidima je izračunat na isti način.

Prvi korak je prikazati strukturu molekule za koju želimo izračunati parametar lipofilnosti, u ovom slučaju strukturu sulfametiltiazola.



Sljedeći korak je razdijeliti istraživanu molekulu na fragmente dostupne u tablicama izračunatih Rekkerovih konstanti, a o kojima je bilo riječi u prethodnom poglavlju (tablica 3).



Koristeći se tablicom Rekkerovih konstanti izdvajaju se vrijednosti za svaki pojedini fragment i uvrštavaju u jednadžbu prema Rekkeru. Zbrajanjem dobivenih vrijednosti izračunali smo vrijednost log*P* za sulfametiltiazol:

$$logP = \sum_{i=1}^{9} a_i f_i$$

$$logP = -0{,}854 + 1{,}688 - 1{,}992 + 2x0{,}200 + 0{,}360 + 0{,}430 - 1{,}012 + 0{,}720$$

$$logP = -0{,}260$$

4.1.4. Utvrđivanje kvantitativnih odnosa između strukture i fizičko-kemijskih svojstava (QSPR) istraživanih sulfonamida

Istraživana je kongenerična serija antibakterijskih lijekova iz skupine sulfonamida. U tu svrhu za svaki ispitivani sulfonamid izračunati su gore spomenuti topološki indeksi i određeni su im parametri lipofilnosti (R_M i log$P$) te ispitane njihove međusobne ovisnosti i ovisnosti strukturnih parametara o temeljnim fizičko-kemijskim svojstvima, poput relativne molekulske mase, Mr i točke tališta, Tt.

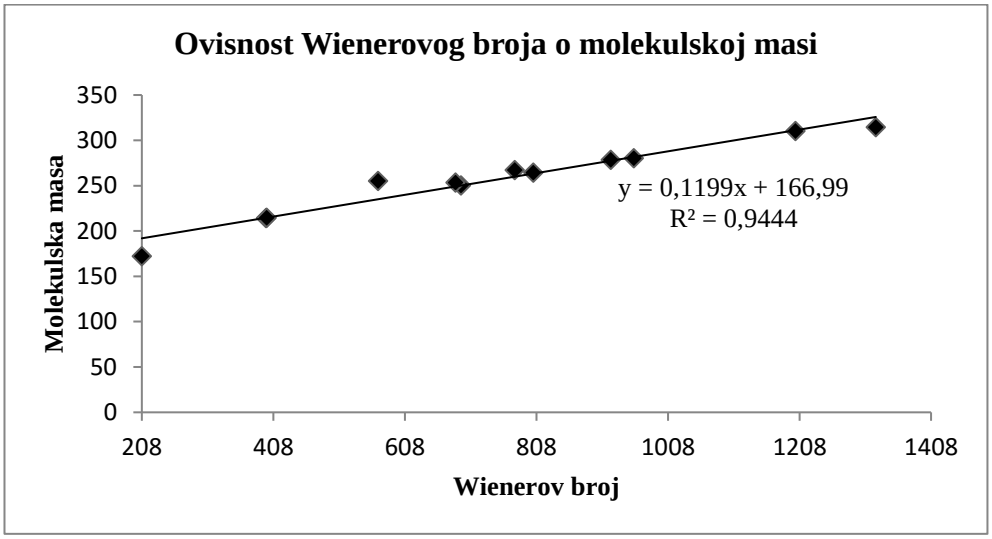
Tablica 10. Prikaz odabranih fizičko-kemijskih svojstava (relativna molekulska masa, M_r, točka tališta, T_t, broj vrhova molekule, N, negativan logaritam konstante disocijacije, pK_a) i izračunatih topoloških indeksa (Wienerov, $W(G)$, Randićev, $\chi(G)$, Balabanov, $J(G)$, informacijsko-teorijski indeks, $I(G)$, kromatografski parametar, R_M, koeficijent razdjeljenja, log P) za ispitivane sulfonamide.

	Fizičko-kemijska svojstva				**Topološki indeksi**					
Ispitivani spojevi	M_r	T_t	pK_a	N_{vrh}	R_M	log$P$	$W(G)$	$\chi(G)$	$J(G)$	$I(G)$
1. sulfanilamid	172,21	165	10,5	11	-1,279	-0,696	208	2,883	4,355	2,81
2. sulfacetamid	214,25	182	5,4	14	0,974	-2,159	397	3,805	4,411	3,06
3. sulfadiazin	250,29	254	6,4	17	-0,176	-1,692	693	4,73	3,276	3,33
4. sulfametoksazol	253,29	210	6,0	17	-0,043	-1,071	685	4,79	3,138	3,34
5. sulfagvanidin	214,70	192	12,1	14	-0,664	-4,211	398	3,64	4,432	3,06
6. sulfamerazin	264,21	236	7,0	18	0,308	-1,22	803	5,16	3,249	3,38
7. sulfatiazol	255,33	201	7,1	16	0,308	-0,75	567	4,35	3,427	3,21
8. sulfafurazol	267,31	196	4,9	18	0,8	-0,599	775	5,21	3,177	3,33
9. sulfametoksipiridazin	280,31	181	7,2	19	0,397	-1,653	956	5,27	3,116	3,65
10. sulfadimidin	278,34	198	7,4	19	0,404	0,746	921	5,57	3,254	3,41
11. sulfadimetoksin	310,34	202	6,1	21	0,6	-1,614	1202	5,8	3,233	3,51
12. sulfafenazol	314,37	181	5,9	22	0,269	0,256	1324	6,54	2,459	3,53

Uspoređujući povezanost između vrijednosti topoloških indeksa i fizičko-kemijskih svojstava uočili smo da postoje određene pravilnosti, s obzirom na glavne karakteristike statistički dobrog modela. Dobar QSPR i QSAR model mora imati visoki koeficijent korelacije $r > 0,90$, što manju vrijednost standardne devijacije (S_d) te što veću vrijednost F-testa [53]. Za svako razmatrano fizičko-kemijsko svojstvo prikazani su najbolji modeli za njihovo buduće predviđanje, dobiveni programom IBM SPSS Statistics 24 [54] uz 95%-tni interval pouzdanosti, a prema sljedećim jednadžbama:

1. Molekulska masa, M_r.

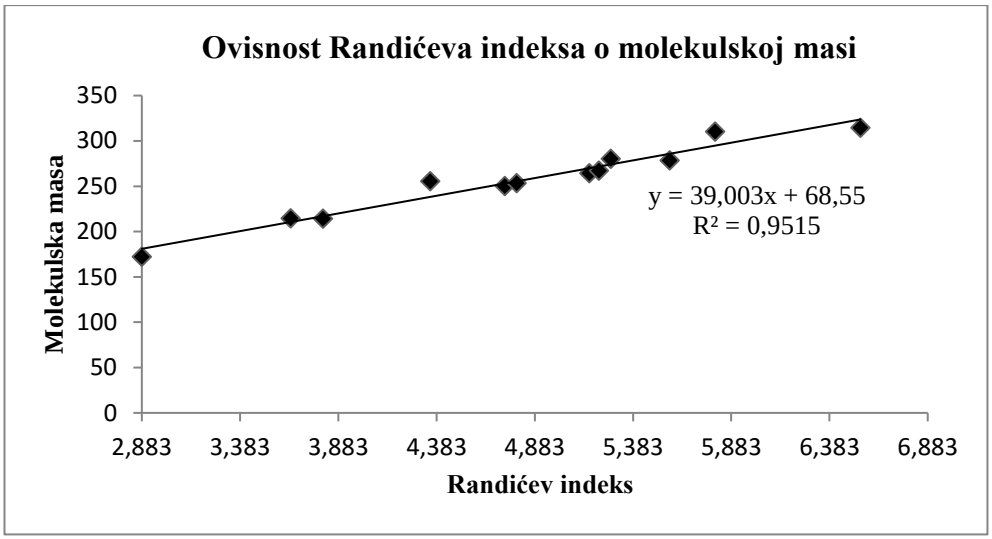
Od predloženih topoloških indeksa, od kojih svaki karakterizira strukturu sulfonamida na svoj način, svi indeksi daju zadovoljavajuće linearne molekularne modele (slike 2-5). Međutim, temeljem dobivenih statističkih parametara posebno se ističu Wienerov i Randićev indeks.



Slika 2. Linearni QSPR model za molekulsku masu ispitivanih sulfonamida, temeljen na Wienerovom indeksu

$N = 12 \quad r = 0{,}972 \quad F = 169{,}973 \quad R^2 = 0{,}944 \quad S_d = 10{,}043$

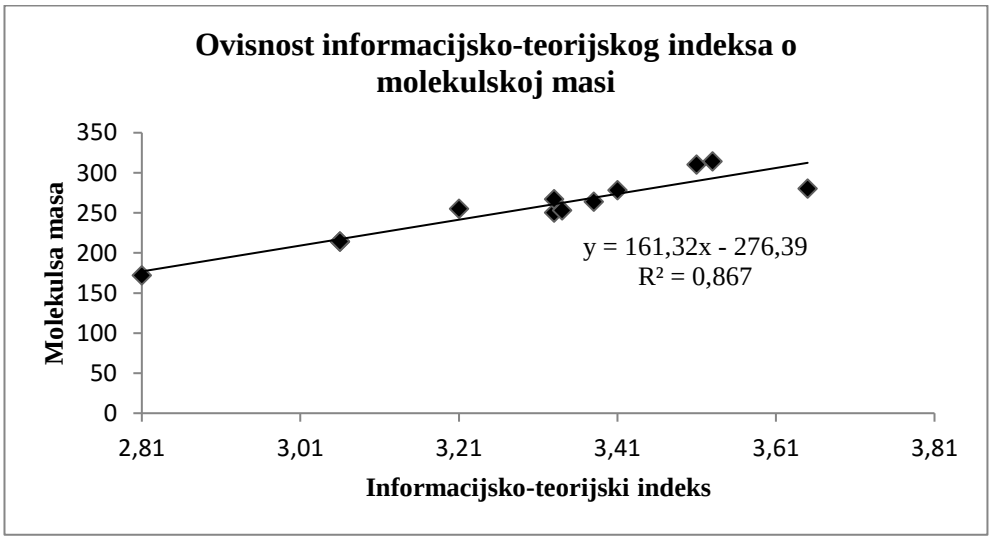
$$M_r = 0{,}1199(\pm 0{,}021)W + 166{,}99(\pm 16{,}565)$$



Slika 3. Linearni QSPR model za molekulsku masu ispitivanih sulfonamida temeljen na Randićevom indeksu

$N = 12 \quad r = 0{,}975 \quad F = 209{,}864 \quad R^2 = 0{,}951 \quad S_d = 9{,}087$

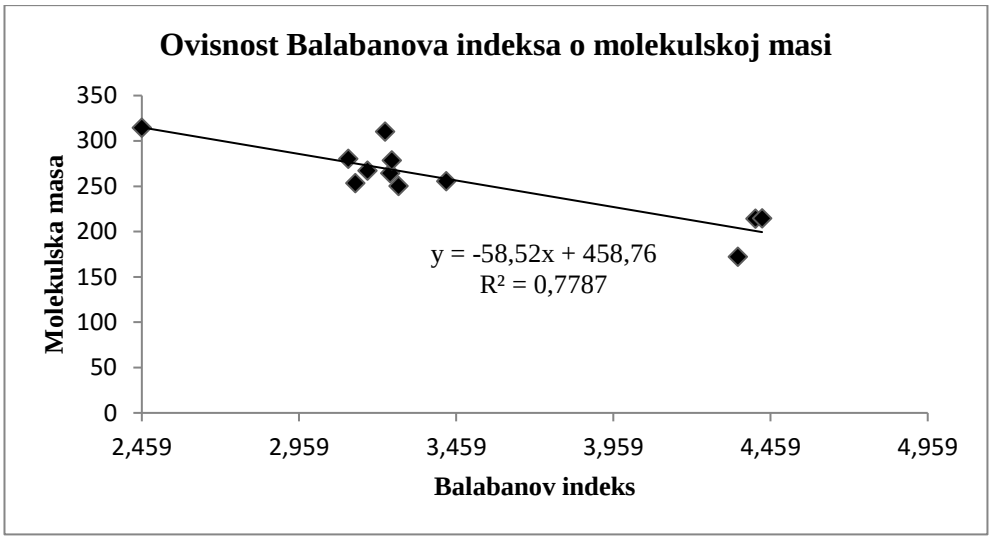
$$M_r = 39{,}003(\pm 6{,}109)\chi + 68{,}55(\pm 29{,}825)$$



Slika 4. Linearni QSPR model za molekulsku masu ispitivanih sulfonamida temeljen na informacijsko-teorijskom indeksu

$N = 12 \quad r = 0{,}931 \quad F = 65{,}168 \quad R^2 = 0{,}867 \quad S_d = 15{,}54$

$$M_r = 161{,}32(\pm 44{,}527)I - 276{,}39(\pm 147{,}352)$$



Slika 5. Linearni QSPR model za molekulsku masu ispitivanih sulfonamida temeljen na Balabanovu indeksu

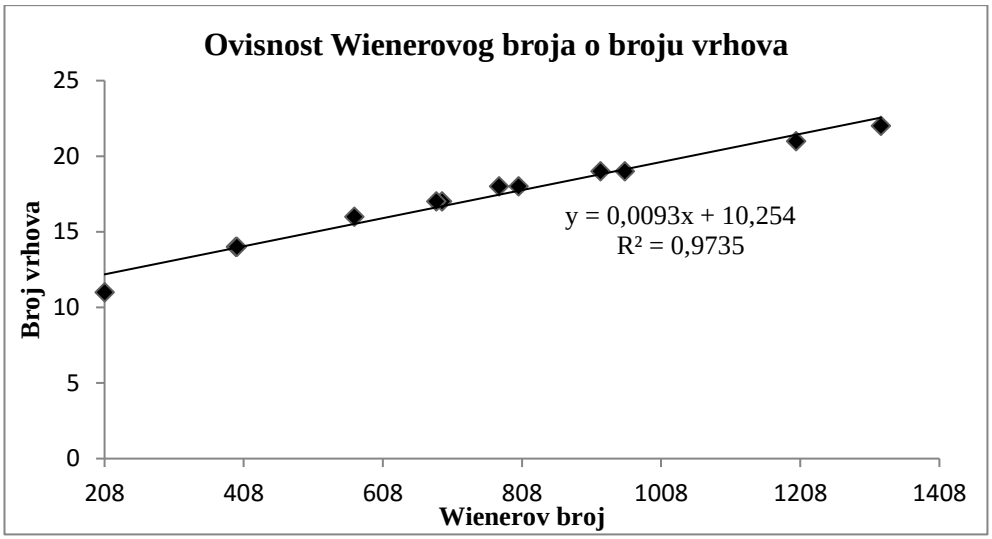
$N = 12 \quad r = 0{,}882 \quad F = 35{,}178 \quad R^2 = 0{,}779 \quad S_d = 20{,}046$

$$M_r = -58{,}52(\pm 21{,}984)J + 458{,}76(\pm 77{,}163)$$

Iz dobivenih rezultata je vidljivo da se od gore predloženih modela, za predviđanje molekulske mase nekog novog još ne sintetiziranog sulfonamida, najboljim pokazuje model temeljen na Randićevom indeksu povezanosti jer ima najprihvatljivije statističke parametre tj. najveći koeficijent korelacije, najveću vrijednost F i najmanju standardnu devijaciju ($r = 0{,}975 \quad F = 209{,}864 \quad R^2 = 0{,}951 \quad S_d = 9{,}087$).

2. Broj vrhova molekule, N_{vrh}.

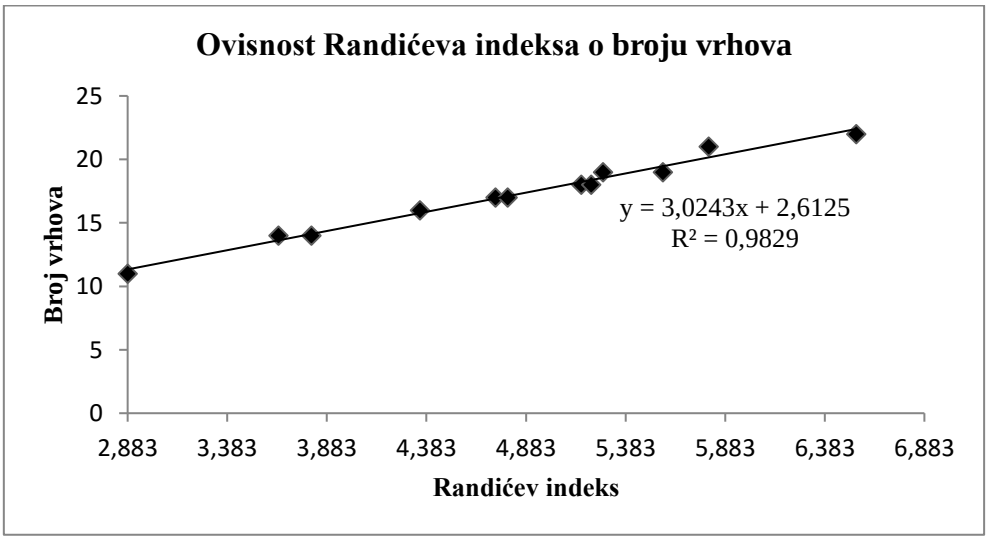
U našem QSPR modeliranju broja vrhova istraživanih sulfonamida i njihove strukture najboljim su se opet pokazali modeli temeljeni na Wienerovom i Randićevom indeksu. Za daljnje proračune ipak bi se koristio model temeljen na Randićevom indeksu zbog najboljih vrijednosti statističkih parametara ($r = 0{,}992 \quad F = 612{,}779 \quad R^2 = 0{,}983 \quad S_d = 0{,}412$). Međutim, Balabanov i informacijsko-teorijski indeks su također dali zadovoljavajuće modele. Grafički prikaz dan je na slikama 6-9.



Slika 6. Linearni QSPR model za broj vrhova ispitivanih sulfonamida, temeljen na Wienerovom indeksu

N =12 r = 0,987 F = 367,173 R^2 = 0,973 S_d = 0,529

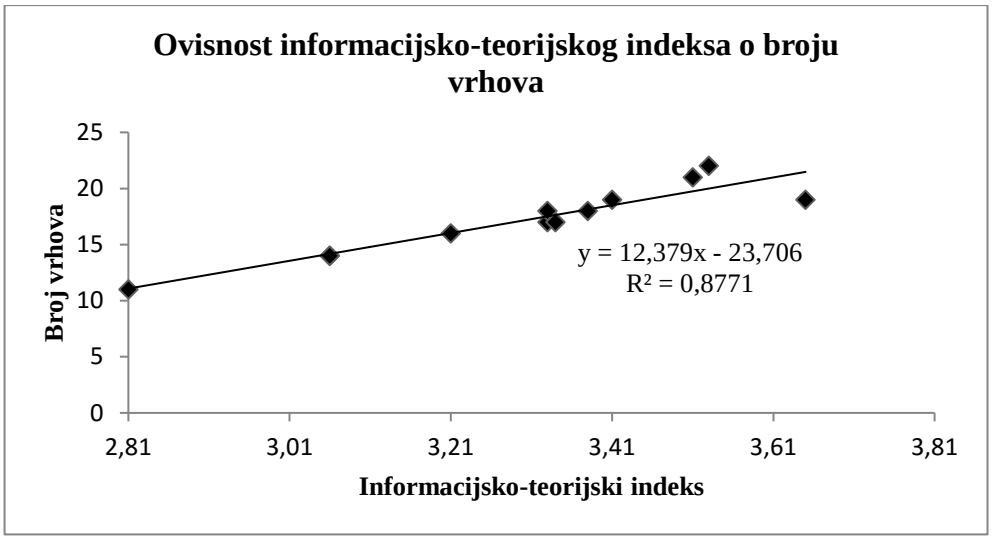
$$N_{vrh} = 0{,}0093(\pm 0{,}001)W + 10{,}254(\pm 0{,}873)$$



Slika 7. Linearni QSPR model za broj vrhova ispitivanih sulfonamida, temeljen na Randićevom indeksu

N = 12 r = 0,992 F = 612,779 R^2 = 0,983 S_d = 0,412

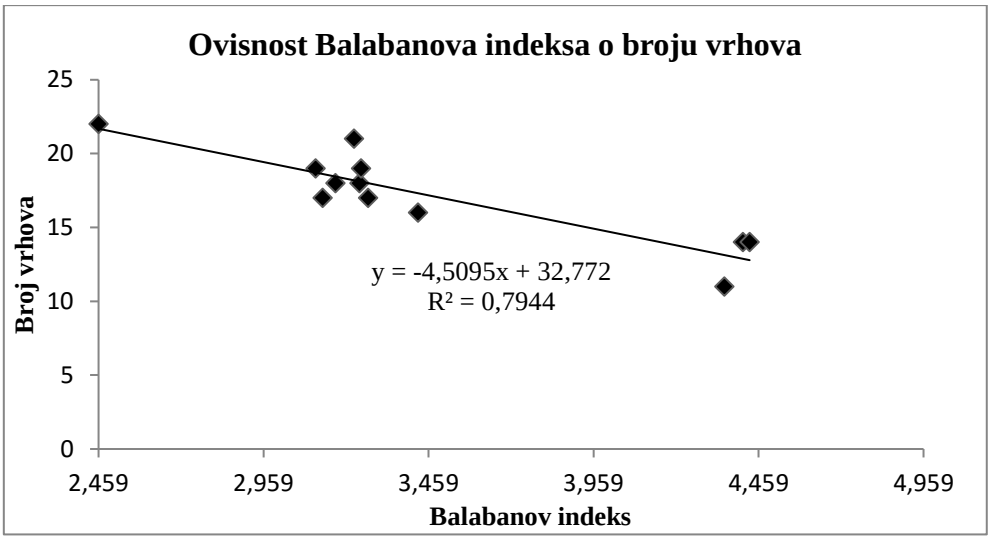
$$N_{vrh} = 3{,}024(\pm 0{,}277)\chi + 2{,}612(\pm 1{,}352)$$



Slika 8. Linearni QSPR model za broj vrhova ispitivanih sulfonamida temeljen na informacijsko-teorijskom indeksu

$N = 12 \quad r = 0{,}937 \quad F = 71{,}97 \quad R^2 = 0{,}877 \quad S_d = 1{,}139$

$$N_{vrh} = 12{,}379(\pm 3{,}625)I - 23{,}706(\pm 10{,}805)$$



Slika 9. Linearni QSPR model za broj vrhova ispitivanih sulfonamida temeljen na Balabanovu indeksu

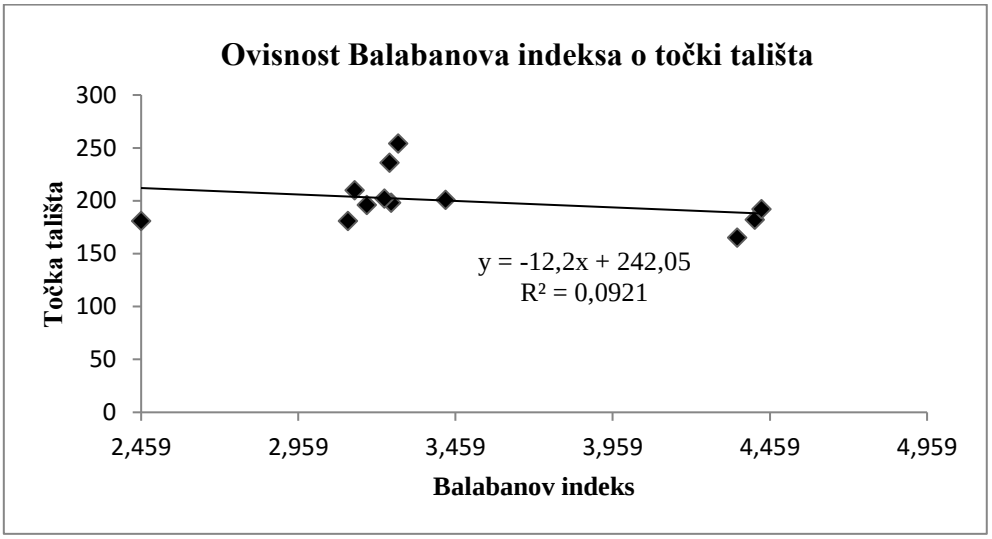
$N = 12 \quad r = 0{,}891 \quad F = 38{,}637 \quad R^2 = 0{,}794 \quad S_d = 1{,}474$

$$N_{vrh} = -4{,}509(\pm 1{,}661)J + 32{,}772(\pm 5{,}674)$$

Iz dobivenih rezultata očito je da Randićev indeks povezanosti opet najbolje karakterizira strukturu istraživanih sulfonamida.

3. Točka tališta, *T.t.*

Kako su ispitivani sulfonamidi raznolikih struktura njihove točke tališta pokazuju veliki rasap pa niti s jednim od predloženih topoloških indeksa nije dobiven zadovoljavajući rezultat. Svi su se dobiveni modeli pokazali neprihvatljivim poput modela za Balabanov indeks prikazan na slici 10.



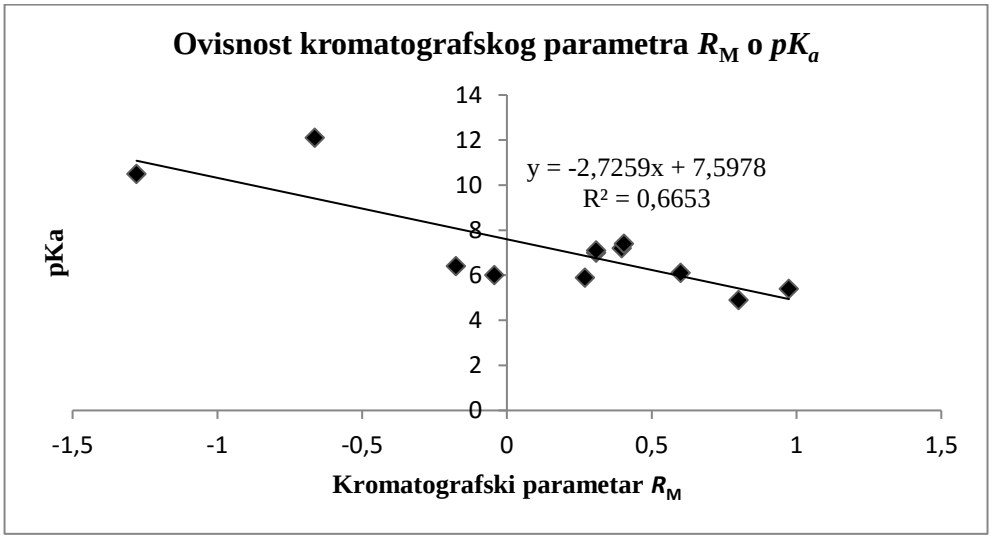
Slika 10. Linearni QSPR model za točke tališta ispitivanih sulfonamida temeljen na Balabanovom indeksu

$N = 12 \quad r = 0{,}303 \quad F = 1{,}014 \quad R^2 = 0{,}092 \quad S_d = 24{,}612$

$$T_t = -12{,}2(\pm 26{,}991)J + 242{,}05(\pm 94{,}738)$$

4. Negativan logaritam konstante disocijacije, pK_a.

Od predloženih topoloških indeksa niti s jednim nije postignut zadovoljavajući koeficijent korelacije s pK_a vrijednostima ispitivanih sulfonamida. Međutim, relativno zadovoljavajući statistički parametri su dobiveni u korelaciji s parametrom lipofilnosti R_M, te je dobiven linearni model prikalan na slici 11.



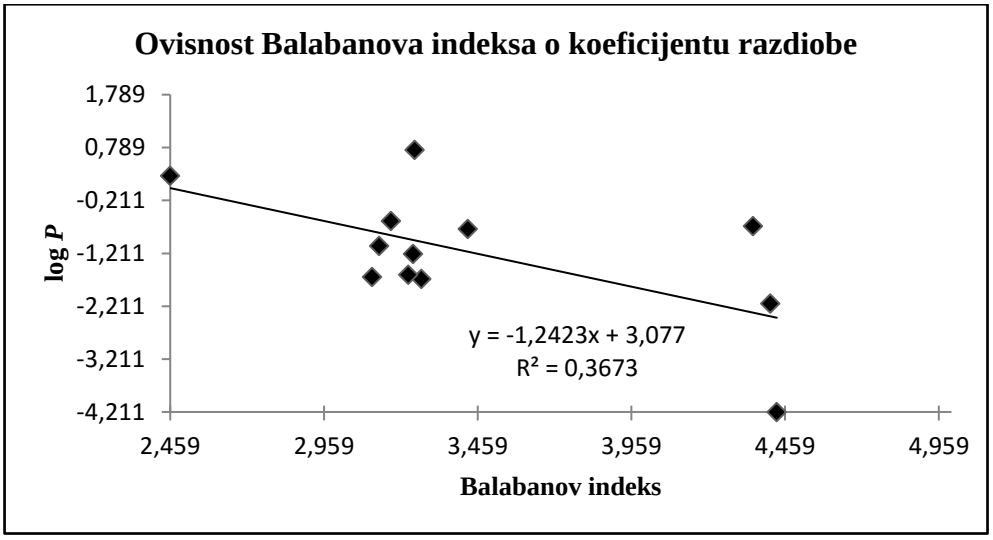
Slika 11. Linearni QSPR model za *pK*a ispitivanih sulfonamida temeljen na vrijednosti kromatografskog parametra, R_M

$N = 12 \quad r = 0{,}816 \quad F = 19{,}874 \quad R^2 = 0{,}665 \quad S_d = 1{,}274$

$$pKa = -2{,}726(\pm 1{,}362)R_M + 7{,}598(\pm 0{,}847)$$

5. Koeficijent razdiobe, log*P*.

Od predloženih topoloških indeksa niti s jednim nije postignut zadovoljavajući koeficijent korelacije s log*P* vrijednostima ispitivanih sulfonamida. Međutim, iz matematičkog modela temeljenog na Balabanovom indeksu očito je da se istraživani sulfonamidi grupiraju s obzirom na sličnost u strukturi. Jednostavni sulfonamidi poput sulfanilamida, sulfacetamida i sulfagvanidina (sulfonamidi br. 1, 2 i 5) su u jednoj grupi dok se sulfonamidi s heterocikličkim, šesteročlanim ili peteročlanim cikličkim sustavima grupiraju u posebnu skupinu. To upućuje i na relativnu sličnost u njihovim svojstvima.



Slika 12. Linearni QSPR model za log*P* ispitivanih sulfonamida temljen na vrijednosti Balabanova indeks

$N = 12 \quad r = 0{,}606 \quad F = 5{,}806 \quad R^2 = 0{,}367 \quad S_d = 1{,}047$

$$\log P = -1{,}242(\pm 1{,}148)\,\mathrm{J(G)} + 3{,}077(\pm 4{,}032)$$

5. RASPRAVA

Temelj ovog diplomskog rada je kritički osvrt na postupke i metode koje se danas vrlo uspješno koriste u molekularnom modeliranju odnosno dizajniranju novih lijekova. Svaka istraživačka farmaceutska tvrtka ima danas svoj tim koji se bavi računalnim dizajniranjem novih lijekova. Inovativna farmaceutska industrija ulaže velika financijska sredstva u istraživanje i razvoj novih lijekova (*in vitro* i *in vivo*) te zato s pravom dobiva i priznanja za stalan rad i napredak u pronalaženju novih ili poboljšanih mogućnosti liječenja pojedinih bolesti. Bez metoda i postupaka koji su opisani u ovom radu sve bi bilo puno teže i financijski neisplativo. Računalno dizajniranje novih lijekova, postupcima i metodama opisanim u ovome radu, omogućuje da se troškovi uvođenja novog lijeka u terapiju svedu na minimum i tako omogući brži napredak u liječenju bolesti.

U molekularnom modeliranju danas se koriste dva osnovna pristupa:

a) QSPR/QSAR pristup koji se temelji na teoriji grafa, odnosno na topološkim svojstvima molekule lijeka koji se istražuje;
b) Kvantno-kemijski pristup koji se temelji na kvantno-kemijskim karakteristikama molekularne strukture lijeka.

Oba navedena pristupa su našla svoje mjesto u dizajniranju novih molekula lijeka, a često se koriste oba pristupa da jedan ne bi isključivao drugoga. Korištenjem oba pristupa temeljitije se razmatra molekula istraživanog lijeka i s više pouzdanijih informacija se može predložiti novi kandidat iz neke farmakoterapijske skupine lijekova.

QSPR/QSAR metode koje se temelje na topološkim indeksima su najstarije metode koje se koriste u dizajniranju novih lijekova. U ovome radu taj pristup je uspješno prikazan na molekulama sulfonamida, antibakterijskih lijekova koje još uvijek nalazimo u praksi.

Stavljajući u odnos vrijednost Wienerovog broja s brojem vrhova molekula istraživanih sulfonamida (N = 12), dobili smo kvalitetan linearni matematički model s vrlo visokim koeficijentom korelacije (r = 0,987), visokom vrijednosti R^2 (R^2 = 0,973), vrijednošću provedenog F-testa (F = 367,173) te standardnom devijacijom (S_d = 0,529). Na isti način smo uočili proporcionalnost Wienerovog broja i molekulske mase (N = 12 r = 0,972 R^2 = 0,944 F = 169,973 S_d = 10,043).

Zatim smo uočili linearnu ovisnost između Randićeva indeksa i broja vrhova molekule (N = 12 r = 0,992 R^2 = 0,983 F = 575,877 S_d = 0,412). Osim toga, vrijednost Randićeva indeksa linearno raste i sa porastom molekulske mase. Navedenu činjenicu, kao i ostale

prethodno navedene, dokazali smo u programu IBM SPSS Statistics 24 provedbom relevantnih statističkih testova. Dobili smo pouzdane vrijednosti statističkih parametara: $N = 12$ $r = 0{,}975$ $R^2 = 0{,}952$ $F = 196{,}211$ $S_d = 9{,}087$.

Linearna ovisnost između informacijsko-teorijskog indeksa i molekulske mase te broja vrhova molekule pokazala je malo smanjenje koeficijenta korelacije u odnosu na dva prethodno navedena indeksa. Uspoređujući linearnu ovisnost indeksa i molekulske mase dobiveni su sljedeći rezultati: $N = 12$ $r = 0{,}931$ $F = 65{,}168$ $R^2 = 0{,}867$ $S_d = 15{,}54$. Usporedbom indeksa sa brojem vrhova dobiveni su sljedeći statistički parametri: $N = 12$ $r = 0{,}937$ $F = 71{,}97$ $R^2 = 0{,}877$ $S_d = 1{,}139$.

Linearna ovisnost između Balabanova indeksa i molekulske mase te broja vrhova molekule pokazala je malo niže vrijednosti koeficijenta korelacije od tri prethodno navedena indeksa. Rezultati linearne ovisnosti ovog indeksa i molekulske mase su: $N = 12$ $r = 0{,}882$ $F = 35{,}178$ $R^2 = 0{,}779$ $S_d = 20{,}046$. Usporedbom istog indeksa sa brojem vrhova dobivene su sljedeće vrijednosti: $N = 12$ $r = 0{,}891$ $F = 38{,}637$ $R^2 = 0{,}794$ $S_d = 1{,}474$. Ovi modeli nisu zadovoljavajući.

Od predloženih topoloških indeksa niti jedan nije postignuo zadovoljavajući koeficijent korelacije sa vrijednostima točke tališta ispitivanih spojeva. Kako se strukture sulfonamida međusobno značajno razlikuju tako je i kod njihovih točki tališta uočen veliki rasap pa ovim istraživanjem nismo dobili zadovoljavajući matematički model.

Od predloženih topoloških indeksa niti jedan nije postignuo zadovoljavajući koeficijent korelacije s pKa vrijednostima ispitivanih spojeva. Relativno zadovoljavajuća linearna ovisnost je dobivena koristeći kromatografski parametar R_M: $N = 12$ $r = 0{,}816$ $F = 19{,}874$ $R^2 = 0{,}665$ $S_d = 1{,}274$.

Uspoređujući vrijednosti koeficijenta razdiobe, log$P$, s vrijednostima ostalih parametara također nismo pronašli zadovoljavajuću povezanost. S obzirom na dobivene statističke parametre donekle zadovoljavajući model je dobiven s Balabanovim indeksom: $N = 12$ $r = 0{,}606$ $F = 5{,}806$ $R^2 = 0{,}367$ $S_d = 0{,}511$.

U provedenim istraživanjima uočili smo da se za predviđanje molekulske mase te broja vrhova molekule nekog novog još nesintetiziranog sulfonamida, najboljim pokazuje model temeljen na Randićevom indeksu povezanosti jer ima najprihvatljivije statističke parametre tj. najveći koeficijent korelacije, najveću vrijednost F-testa i najmanju standardnu devijaciju.

Metode i postupci dizajna lijekova, prethodno opisani, najčešće se kombiniraju u svrhu poboljšavanja farmakoloških svojstava ispitivanih molekula. Svojstva koja su presudna za uspješan dizajn te postupci i strategije koje se provode u svrhu poboljšavanja svojstava ispitivanih molekula dalje se poboljšavaju bilo samostalno u farmaceutskoj industriji, ukoliko ista ima odgovarajući tim stručnjaka, ili se industrija udružuje s akademskim institucijama te zajednički dolaze do rezultata.

Poznavanje bioloških svojstava endogenih spojeva, podaci o biološkoj aktivnosti serije spojeva koji čine kemijsku knjižnicu i biološka aktivnost molekularnih fragmenata omogućavaju dizajn temeljen na svojstvima navedenih liganada. Na taj se način mogu dizajnirati potentniji spojevi, bilo kao dio postupka izbora spoja uzora, bilo kao dio optimizacije spoja uzora [4]. Danas je taj pristup našao vrlo široku primjenu.

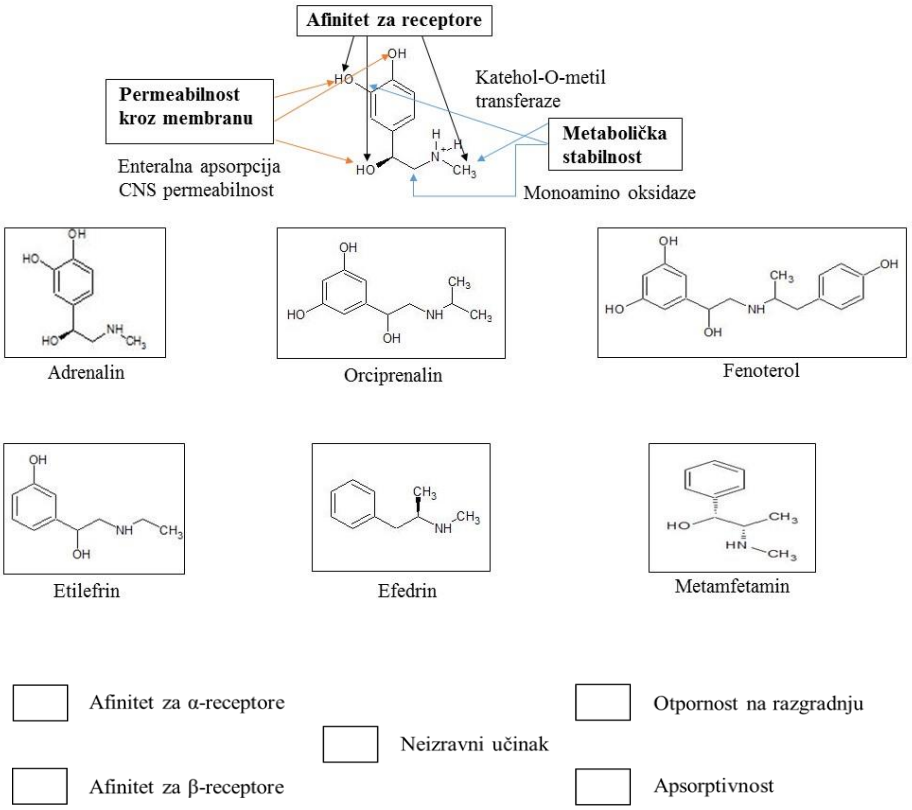
Tipični primjeri ovakvih strategija dizajna uspješno su provedeni kod simpatomimetika i inhibitora HIV proteaze.

a) Dizajn simpatomimetika temeljen na strukturi endogenih agonista

Simpatomimetici su se razvili na osnovi strukturnih karakteristika endogenih supstancija adrenalina i noradrenalina. Adrenalin se s jednakim afinitetom veže i na α- i na β-receptore, dok se noradrenalin s većim afinitetom veže na α-adrenergičke receptore. Direktni simpatomimetici dijele feniletilaminski kostur, a β-hidroksilna skupina povećava afinitet za α i β receptore. Supstitucija amino-skupine smanjuje afinitet za α-receptore, a optimalnu aktivnost za β-receptore postižu izopropilni derivati. Povećanjem skupine povećava se afinitet za β2-receptore (salbutamol). Hidroksilne skupine na atomatskoj jezgri povećavaju afinitet za α-receptore (vicinalne hidroksilne skupine na položaju tri i četiri), odnosno β-receptore (hidroksilne skupine na položaju tri i pet). Kako su hidroksilne skupine hidrofilne, a amino-grupa ionizirana pri fiziološkom pH, primjenjuju se monohidroksilirani derivati nekateholskog tipa ukoliko se želi centralno djelovanje i prolazak kroz krvno-moždanu barijeru. Simpatomimetici bez hidroksilnih skupina obično djeluju indirektno pospješujući otpuštanje noradrenalina iz presinaptičkih neurona.

Promjenom položaja aromatske hidroksilne skupine ili njezinom supstitucijom izbjegava se metabolizam djelovanjem katehol-O-metiltransferaze, dok se uvođenjem male alkilne skupine na α-C-atom smanjuje razgradnja djelovanjem monoaminooksidaze. U

konačnici izbor simpatomimetika postaje kompromis između odabira oralne bioraspoloživosti i afiniteta vezanja za receptor. Slika u nastavku prikazuje SAR adrenergičkih agonista.



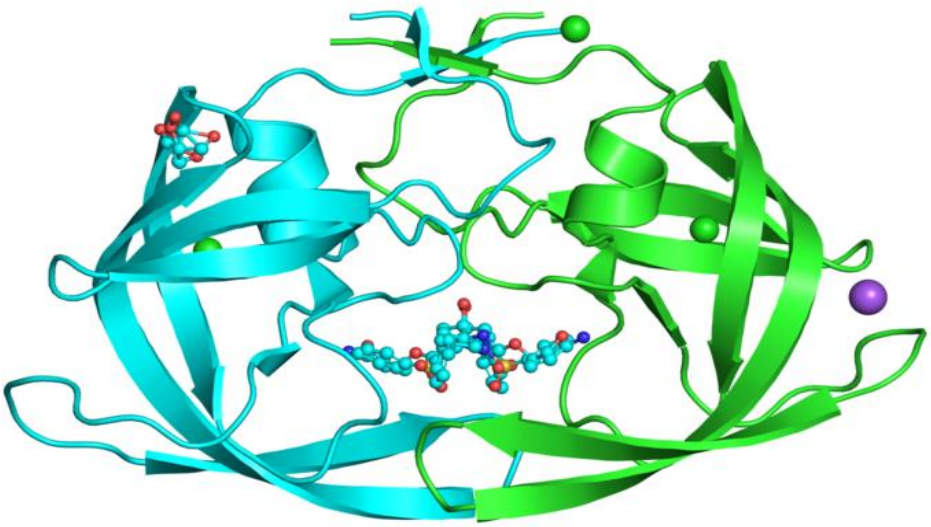
Slika 13. SAR adrenergičkih agonista [55]

Osnovnu strukturu β-simpatolitika čini postranični lanac β-simpatomimetika npr. adrenalin u strukturi β-blokatora alprenolola, propranolola ili pindolola. Ta je struktura vezana na aromatsku jezgru preko metilenskog ili kisikova mosta. Na postraničnom lancu ugljikov atom s hidroksilnom skupinom je kiralan, pa većina liganada β-adrenergičkih receptora dolazi u obliku racemata. L-enantiomeri su sto puta aktivniji te se smatraju nositeljima aktivnosti. Struktura simpatolitika uvjetuje i farmakodinamiku pa je tako većina, izuzev atenolola, podložna presistemskoj eliminaciji. Neki β-blokatori kao što su sumetoprolol, acebutolol i bisoprolol se s većim afinitetom vežu na β1-receptore u srcu (kardioselektivnost), iako se s manjim afinitetom vežu i na β2-receptore.

b) Dizajn inhibitora HIV proteaza

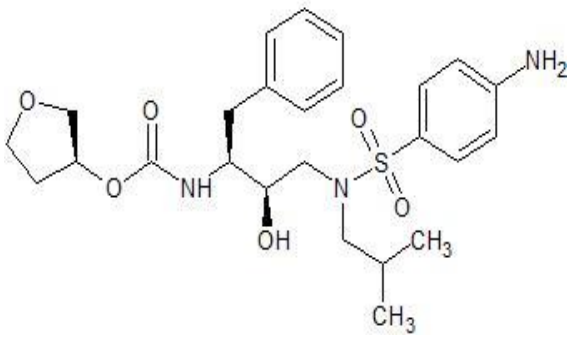
Tijekom zadnjih faza ciklusa rasta HIV-a (engl. ***H**uman **I**mmunodeficiency **V**irus*), proizvodi Gag i Gag-Pol gena prevode se u poliproteine koji formiraju nezrelu ovojnicu virusa. Proteaza je odgovorna za cijepanje tih prekursorskih molekula, čime nastaju konačni strukturni proteini zrele jezgre viriona. Blokirajući posttranslacijsko cijepanje Gag-Pol poliproteina, inhibitori proteaze priječe pretvorbu virusnih proteina u funkcionalne konformacije pa nastaju nezrele, neinfektivne virusne čestice. Inhibitori HIV proteaza se koriste u liječenje infekcija uzrokovanih HIV-om te u liječenju AIDS-a (engl. ***A**cquired **I**mmune **D**eficiency **S**yndrome*) [56].

Istraživanja usmjerena na razvoj inhibitora renina kao potencijalnih antihipertenzivnih lijekova su dovela do otkrića spojeva koji blokiraju učinak renina cijepanjem enzima. Slučajno je otkriveno da je aminokiselinska sekvenca koja je potrebna za stvaranje zrelih proteina jezgre HIV-a jednaka aminokiselinskoj sekvenci koju cijepa renin. Istraživanja odnosa struktura-aktivnost inhibitora renina pokazala su se od velike vrijednosti za razvoj inhibitora HIV-proteaza. Ugradnja amino-hidroksilne skupine se pokazala presudnom za inhibitornu aktivnost velikog broja tih spojeva. Pretraživanjem 3D kemijske knjižnice s ciljem pronalaženja spojeva sa strukturom komplementarnom aktivnom središtu renina pronađeni su prvi spojevi s mjerljivim biološkim učinkom na HIV proteazu. Spojevi dobiveni probiranjem su izmijenjeni s ciljem dodatnog povećanja broja vodikovih veza koje tvori potencijalni inhibitor i aktivno središte HIV proteaze. Kao prvi inhibitori HIV proteaze na tržište lijekova dolaze amprenavir, lopinavir i atazanavir.

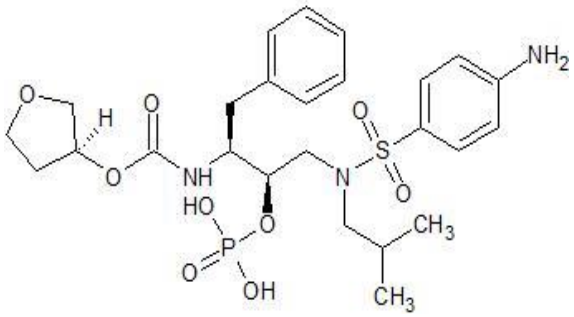


Slika 14. HIV proteaza kao dimer s amprenavirom vezanim u aktivnom središtu [57]

Tako dobiveni spojevi su dalje optimizirani s ciljem poboljšavanja farmakokinetičkih svojstava što je rezultiralo razvojem nekoliko kandidata za daljnja klinička ispitivanja. Tako se danas umjesto amprenavira koristi isključivo njegov prolijek fosamprenavir.

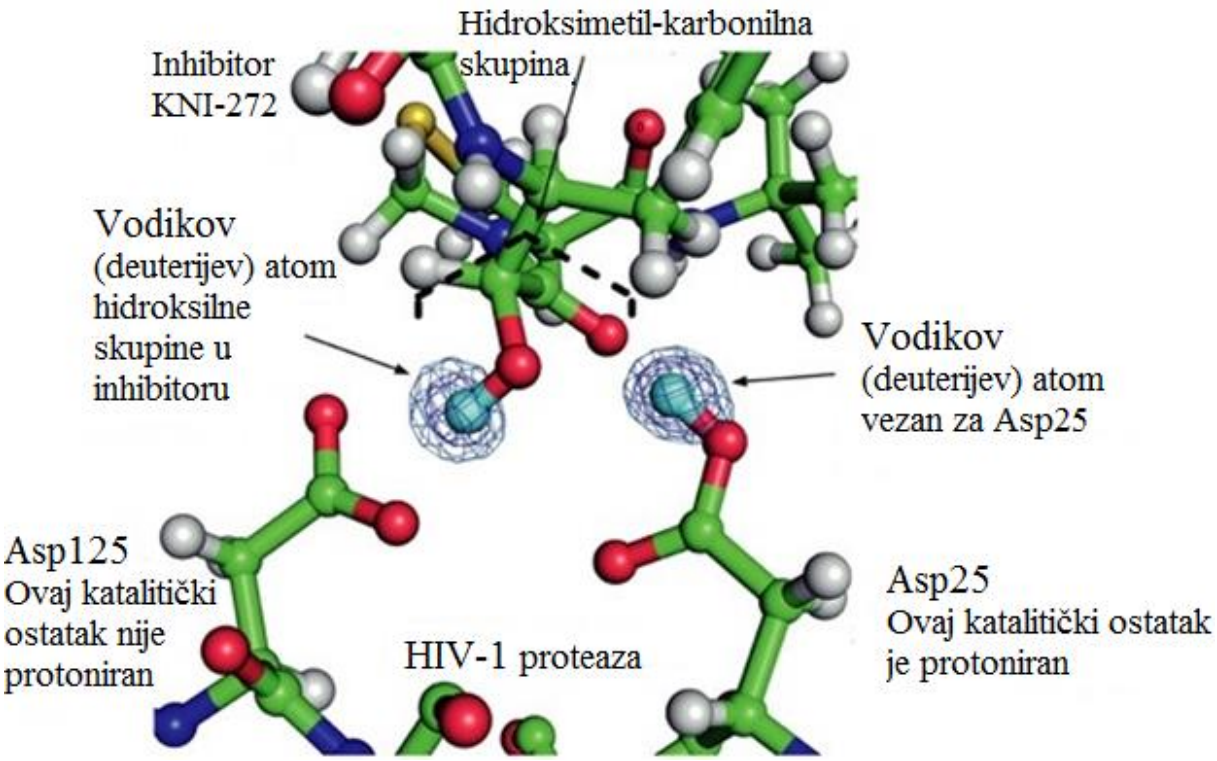


Amprenavir



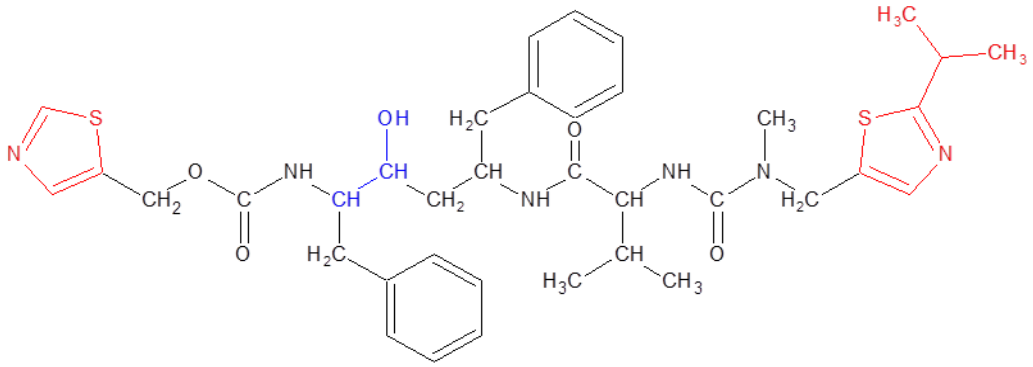
Fosamprenavir

Kasnije je pokazano da najpotentniji derivat koji uspješno rješava problem rezistencije ostvaruje željeni učinak pri pikomolarnim koncentracijama.

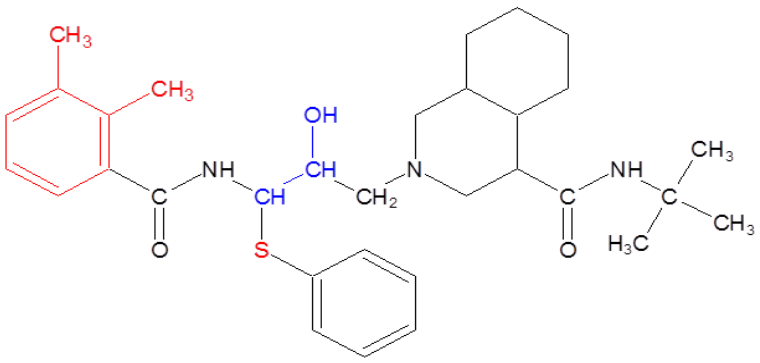


Slika 15. Prikaz vezanja inhibitora HIV proteaze [58]

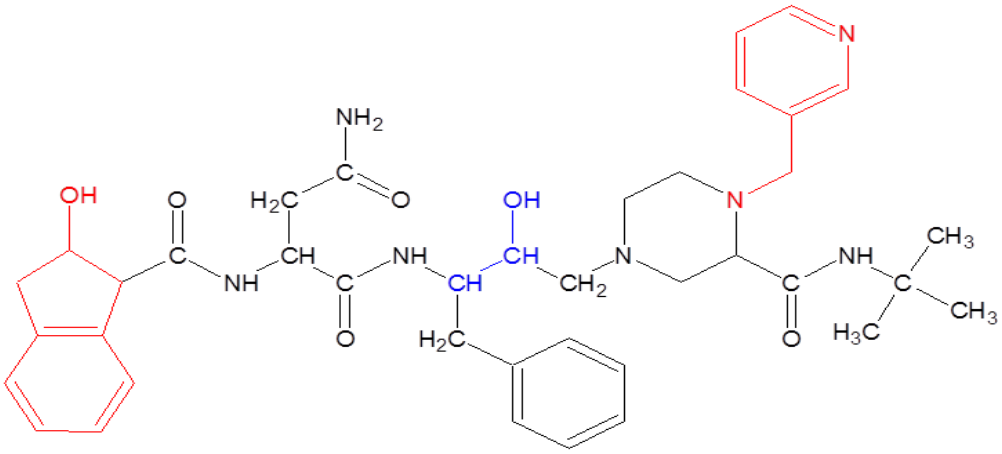
Danas, među najpoznatije inhibitore HIV proteaze spadaju ritonavir, nelfinavir, indinavir, atazanavir, sakvinavir i lopinavir, a često se u praksi kombiniraju (atazanavir i ritonavir ili darunavir i ritonavir). Tako postoje i neke fiksne kombinacije poput Kaletre® (ritonavir i lopinavir). Za sve njih je značajno da tvore veliki broj vodikovih veza s kisikovim, dušikovim i vodikovim atomima iz peptidnih veza. Strukture nekih od njih su prikazane na slici 16.



Ritonavir



Nelfinavir



Indinavir

Slika 16. Prikaz nekih inhibitora HIV proteaze

6. ZAKLJUČCI

1. Vodeći se osnovnim postavkama QSPR/QSAR metode, a u svrhu kvantitativnog pristupa, računajući vrijednosti topoloških deskriptora za seriju antibakterijskih spojeva iz skupine sulfonamida, njihove strukture smo pretvorili u broj.
2. Time je omogućena statistička obrada vrijednih podataka o svojstvima sulfonamida i predlaganje najboljih matematičkih modela, za buduće dizajniranje novih molekula iste kongenerične serije lijekova.
3. Ovim pristupom u dizajniranju novih lijekova došli smo do vrijednih zaključaka kojima se na isti način mogu izračunati i koristiti topološki indeksi pri postupku dizajna bilo koje druge farmakoterapijske skupine lijekova.
4. Dobivenim brojčanim vrijednostima predloženih topoloških indeksa, karakterizirali smo strukturu sulfonamida na četiri različita načina, specifična za svaki predloženi indeks.
5. Tako dobiveni topološki indeksi omogućili su korelacije struktura sulfonamida s njihovim fizičko-kemijskim svojstvima.
6. Od ispitivanih topoloških indeksa, od kojih svaki karakterizira strukturu sulfonamida na svoj način, a na temelju dobivenih statističkih parametara, posebno se istaknuo Randićev indeks povezanosti. Sljedeći navedeni pristup dobivene su odlične korelacije između Randićeva indeksa i broja vrhova ispitivane serije sulfonamida (N = 12 r = 0,992 F = 612,779 R^2 = 0,983 S_d = 0,412) te molekulske mase (N = 12 r = 0,975 F = 209,864 R^2 = 0,951 S_d = 9,087).
7. Osim u postupku dizajna novih molekula QSAR pristup se koristi i za optimizaciju postojećih molekula s ciljem pronalaska spojeva željenih svojstava ili biološke aktivnosti. Navedenu tvrdnju smo potkrijepili primjerom dizajna simpatomimetika na osnovi strukturnih karakteristika endogenih supstancija, adrenalina i noradrenalina. Malim promjenama u strukturi molekule može se povećati afinitet za α- ili β-receptore, izbjeći razgradnja djelovanjem monooksidaze ili katehol-O-metiltransferaze, povećati bioraspoloživost ili postići centralno djelovanje prolaskom kroz krvno-moždanu barijeru.
8. Primjenom znanja o metodi QSAR i računalnom dizajniranju lijekova te pretraživanjem 3D kemijske knjižnice možemo pronaći spoj sa željenim biološkim učinkom. Na taj način npr., poznavajući strukturu renina (predstavnik aspartat proteaza), pronađeni su spojevi s djelovanjem na HIV proteaze (koje su pripadnici iste skupine kao aspartat proteaze) koji su dalje optimizirani s ciljem poboljšavanja

farmakokinetičkih svojstava što je rezultiralo razvojem nekoliko kandidata za daljnja klinička ispitivanja.

7. LITERATURA

1. Nantasenamat C, Isarankura-Na-Ayudhya C, Naenna T, Prachayasittikul V. A practical overview of quantitative structure-activity relationship. EXCLI Journal. 2009; 8:74-88.
2. Mintas M, Raić-Malić S, Raos N. Načela dizajniranja lijekova. Zagreb: HINUS; 2000.
3. Crum Brown A, R. Fraser T. On the Connection between Chemical Constitution and Physiological Action; with special reference to the Physiological Action of the Salts of the Ammonium Bases derived from Strychnia, Brucia, Thebaia, Codeia, Morphia, and Nicotia. J. Anat. Physiol. 1868; 2:224–242.
4. Debeljak Ž, Medić-Šarić M, Bojić M. Uvod u dizajn lijekova. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2013.
5. http://steveblank.com/2013/08/19/reinventing-life-science-startups-evidence-based-entrepreneurship, pristupljeno 18.04.2016.
6. Van de Waterbeemd H. Quantitative approaches to structure-activity relationships. The practice of Medical Chemistry. London; 1996.
7. Hansch C, Leo A. Exploring QSAR-Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology. American Chemical Society. Washington DC; 1995.
8. Kubinyi H, Folkers G, Martin YC. 3D QSAR in drug design-recent advances. Perspect. Drug. Discov. Des.1998; 12:R5-R7.
9. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Adv. Drug. Delivery Rev. 2001; 1:3-26.
10. Russom CL, Bradbury SP, Carlson AR. 1995. Use of knowledge bases and QSARs to estimate the relative ecological risk of agrichemicals: a problem formulation exercise. SAR QSAR Environ. Res. 1995; 4:83-95.
11. Acharya C, Coop A, E. Polli J, D. MacKerell, Jr A. Recent Advances in Ligand-Based Drug Design: Relevance and Utility of the Conformationally Sampled Pharmacophore Approach. Curr. Comput. Aided Drug. Des. 2011; 7:10–22.
12. http://www.acdlabs.com/resources/freeware/chemsketch/, pristupljeno 2.3.2016.
13. Karelson M. Molecular Descriptors in QSAR/QSPR. John Wiley & Sons; 2000.
14. R. Katritzky A, V. Gordeeva E. Traditional topological indexes vs electronic, geometrical, and combined molecular descriptors in QSAR/QSPR research. J. Chem. Inf. Comput. Sci. 1993; 33:835-857.

15. Karelson M, S. Lobanov V. Quantum-Chemical Descriptors in QSAR/QSPR Studies. Chem. Rev. 1996; 96:1027–1044.
16. Mannhold R, F.Rekker R. Calculation of Drug Lipophilicity: The Hydrophobic Fragmental Constants Approach. VCH Publisher Inc. New York, USA. 1992.
17. Fujita T, Iwasa J, Hansch C. J. Am. Chem. Soc. 1964; 86:5175-5180.
18. Iwasa J, Fujita T, Hansch C. J. Med. Chem. 1965; 8:150.
19. Hansch C. Quantitative Structure-Activity Relationships in: Drug Design. Academic Press. New York, USA. 1971.
20. Hansch C, Leo A. Substitution Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology. John Wiley and Sons. New York, USA. 1979.
21. Davis S. J. Pharm. Pharmacol. 1973; 25:293.
22. G. Nys G, F. Rekker R. Chimie Therapeutique. 1973; 5:521.
23. G. Nys, F. Rekker R. Eur. J. Med. Chem. 1974; 4:361.
24. Leo A, Jow PYC, Silipo C, Hansch C. J. Med. Chem. 1975; 9:865.
25. Medić-Šarić M, Franić D, Debeljak Ž. Lipofilnost lijekova, I dio. Farm. Glas. 1998.
26. Medić-Šarić M, Franić D, Debeljak Ž. Lipofilnost lijekova, II dio. Farm. Glas. 1998.
27. Medić-Šarić M, Franić D, Debeljak Ž. Lipofilnost lijekova, III dio. Farm. Glas. 1998.
28. Medić-Šarić M, Mornar A. Lipofilnost lijekova, IV dio. Farm. Glas. 2003.
29. Nasal A, Siluk D, Kaliszan R. Chromatographic retention parameters in medicinal chemistry and molecular pharmacology. Curr. Med. Chem. 2003; 10:381-426.
30. Graças Cardoso M, Lee Nelson D, Tavares do Amaral A, Donizete dos Santos C, Abreu Pereira A. Reverse Phase Thin Layer Chromatography of Aminoalkanethiosulfuric Acids, Mercaptoalkanamines and Aminoalkyl Disulfides. Int. J. Mol. Sci. 2002; 3:755-763.
31. J. Hansen P, C. Jurs P. Chemical applications of graph theory. Part I. Fundamentals and topological indices. J. Chem. Educ. 1988; 65:574.
32. T. Balaban A. Applications of graph theory in chemistry. J. Chem. Inf. Comput. Sci. 1985; 25:334–343.
33. Trinajstić N. Chemical Graph Theory. CRC Press: Boca Raton, FL 1992.

34. Wiener H. Structural Determination of Paraffin Boiling Points. J. Am. Chem. Soc. 1947; 69:17-19.
35. Yeh YN, Lee SL, Luo YL. Some recent results in the theory of the Wiener number. J. Chem. Educ. Gutman. 1992; 69:701.
36. Randic M. Characterization of molecular branching. J. Am. Chem. Soc. 1975; 97:6609–6615.
37. Kier LB, Hall LH. Molecular Connectivity in Chemistry and Drug Research. Academic Press. New York; 1976.
38. A. T. Balaban, Highly Discriminating Distance-Based Topological Indeks. Chem. Phys. Lett. 1982; 399–404.
39. Mihalić Z, Trinajstić N. A graph-theoretical approach to structure-property relationships. J. Chem. Educ. 1992; 69:701.
40. Mitar A. Seminarski rad: *In silico* modeliranje lijekova. Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, 2011.
41. Sacan A, Ekins S, Kortagere S. Applications and limitations of in silico models in drug discovery. Met. Mol. Biol. 2012; 910:87-124.
42. Ekins S, Mestres J, Testa B. In silico pharmacology for drug discovery: methods for virtual ligand screening and profiling. Br. J. Pharmacol. 2007; 152:9–20.
43. Froimowitz M. HyperChem: a software package for computational chemistry and molecular modeling. Biotechniques. 1993; 14:1010-3.
44. XlogP is a program for the prediction of the octanol/water partition coefficients of organic compounds. The detailed algorithm has been described on J. Chem. Inf. Comput. Sci. 1997; 37:615.
45. http://nova.disfarm.unimi.it/cms/index.php?Software_projects:VEGA_ZZ, pristupljeno 07.05.2016.
46. Ligier Y, Ratib O, Logean M, Girard C. Osiris: a medical image-manipulation system. MD Comput. 1994; 11:212-8.
47. http://www.epa.gov/tsca-screening-tools/epi-suitetm-estimation-program-interface, pristupljeno 07.05.2016.
48. Kenny PW, Montanari CA, Prokopczyk IM. ClogP(alk): a method for predicting alkane/water partition coefficient. J. Comput. Aided Mol. Des. 2013; 27:389-402.

49. Tetko IV, Bruneau P. Application of ALOGPS to predict 1-octanol/water distribution coefficients, logP, and logD, of AstraZeneca in-house database. J. Pharm. Sci. 2004; 93:3103-10.
50. Medić-Šarić M, Mornar A, Jasprica I. Lipophilicity study of salicylamide. Acta Pharm. 2004; 91–101.
51. http://www.chemsilico.com, pristupljeno 07.05.2016.
52. Vedrina M, Marković S, Medić-Šarić M, Trinajstić N."TAM: a Program for the Calculation of Topological Indices in QSPR and QSAR Studies". Comp. Chem. 1997; 21:355–361.
53. Asja Smolčić-Bubalo, Nove metode u istraživanju hrvatskog propolisa, disertacija, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb 2007.
54. http://www.ibm.com/software/analytics/spss/products/statistics/downloads.html, pristupljeno 6.5.2016.
55. Lullman H, Mohr K, Ziegler A, Beiger D. Color Atlas of Pharmacology. Thieme, Stuttgart, 2000.
56. Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Temeljna i klinička farmakologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2011.
57. http://www.ebi.ac.uk/pdbe/entry/pdb/3nu3, pristupljeno 11.05.2016.
58. http://jolisfukyu.tokai-sc.jaea.go.jp/fukyu/mirai-en/2009/4_8.html, pristupljeno 11.05.2016.

8. SAŽETAK

Uvod: QSAR je jedna od najpopularnijih metoda kojom se farmaceutska industrija danas služi u pronalasku novih ljekovitih tvari i njihovoj optimizaciji. Primarna svrha te metode je određivanje povezanosti kemijske strukture niza spojeva i određenog kemijskog ili biološkog procesa. Unutar nje se nalaze brojni strukturni parametri, odnosno molekularni deskriptori kojima se opisuje pojedina molekula.

Cilj istraživanja: Cilj ovog rada je bio prikazati temeljne pristupe kojima se farmaceutska industrija danas služi u postupku dizajniranja novih lijekova te dati uvid u njihove osnovne značajke. Poseban naglasak bio je stavljen na QSAR pristup, topološke indekse i njihovu važnost u modeliranju novog lijeka. Prikazani su i neki primjeri uspješnog dizajniranja temeljeni na ligandima.

Metode: Unutar metode QSAR postoje brojni pristupi (npr. molekularni deskriptori) kojima se pojedina molekula može okarakterizirati. Jedan od najvažnijih molekularnih deskriptora u metodi QSAR je koeficijent razdjeljenja između oktan-1-ola i vode (fosfatni pufer, pH = 7,4), log*P*. S tim deskriptorom je i započela sustavna primjena metode QSAR. Koristeći log*P* možemo za pojedinu molekulu odrediti njenu sposobnost da prolazi kroz stanične membrane, tj. log*P* je postao mjera za vjerojatnost da će molekula stići od mjesta primjene do mjesta djelovanja. Što je njegova vrijednost veća to je molekula lipofilnija, odnosno veća je vjerojatnost da će stići do mjesta djelovanja. Numerički indeks koji karakterizira molekulu naziva se topološki indeks. On numerički izražava topološku informaciju za određeni spoj koja nam daje naznake o veličini i obliku, tj. prirodi kemijske strukture. Do danas je poznat čitav niz topoloških indeksa kojima se znanstvenici svakodnevno koriste, ali smo se u ovom radu posvetili osnovnim, dobro poznatim indeksima koji vrlo dobro opisuju strukturu molekule. To su: Wiener-ov broj, Randićev indeks, Balabanov indeks, Trinajstićev broj i informacijsko-teorijski indeks.

Najsuvremeniji pristup u dizajniranju lijekova je metoda molekularnog modeliranja. Ta metoda podrazumijeva dizajniranje lijekova pomoću računala, CADD (engl. ***C****omputer-****A****ided* ***D****rug* ***D****esign*). Dvije temeljne metode, na kojima počiva molekularno modeliranje su molekularna mehanika i kvantna-kemija. Računalno dizajniranje liganda je namijenjeno dizajniranju molekula koje će se zahvaljujući svojoj strukturi dobro vezati na enzime ili receptore na ciljanom mjestu djelovanja. Farmakološka svojstva potencijalnog lijeka još nije u potpunosti moguće predvidjeti postojećim modelima, što ostavlja mjesta za napredak tog pristupa u dizajnu lijekova.

Rezultati: Dobivene vrijednosti topoloških indeksa korelirali smo sa fizičko-kemijskim svojstvima serije spojeva iz skupine sulfonamida te smo uočili određene povezanosti. Vrijednost Wienerovog broja, Randićevog indeksa, Balabanova i informacijsko-teorijskog indeksa pokazuju linearnu ovisnost s brojem vrhova molekule i molekulskom masom. Na temelju sakupljenih znanja prikazali smo kako se SAR određene molekule ili serije spojeva može iskoristiti za njihovu daljnu optimizaciju s ciljem dobivanja molekule željenih farmakokinetičkih i farmakodinamskih karakteristika ili željene biološke aktivnosti.

Zaključak: Primjena QSAR metode u postupku dizajniranja lijekova je uvelike unaprijedila proces dizajna te omogućila identifikaciju odgovarajuće molekule prije njezine sinteze. Istovremeno sa razvojem ove metode započinje i proces optimizacije određene molekule ili serije spojeva kako bi se dobio spoj željenih svojstava te željene biološke aktivnosti.

9. SUMMARY

Introduction: QSAR is one of the most popular methods that pharmaceutical industry uses nowadays to find new therapeutic agents and in their optimisation. The primary purpose of this method is to determine the correlation of chemical structure of the series of compounds and a specific chemical or biological process. Within it, there are many structural parameters i.e. molecular descriptors that describe the individual molecules.

Aim of research: The aim of this study was to show the basic approaches that pharmaceutical industry uses nowadays in the design of new drugs and to give insight into their basic features. A special emphasis was put on the QSAR approach, the topological indices and their importance in the modeling of a new drug. A few examples of successful ligand-based designs are also shown.

Methods: Within the QSAR method there are numerous approaches (e.g. molecular descriptors) that individual molecules can be characterised with. One of most important molecular descriptors in the QSAR method is the partition coefficient between octan-1-ol and water (phosphate-buffer, pH = 7,4), log*P*. Using the log*P* we can determine each molecule's ability to cross cell membranes, i.e. log*P* became a measure of the probability that the molecules will arrive from the site of application to the site of action. Bigger values of log*P* are a sign that molecules are more lipophilic, i.e. the likelihood that they will reach the site of action is greater. The numerical index that characterises molecules is called topological index. It numerically expresses the topological information for the compound, which gives some indication of its size and shape, i.e. the nature of the chemical structure. To date, a whole range of topological indices that scientists use on a daily basis is known, but in this work we are dedicated to basic, well-known indices that very well describe the structure of molecules. These are: Wiener's number, Randic's index, Balaban's index, Trinajstic's number and information-theoretical index.

The most modern approach to drug design is the method of molecular modeling. This method involves drug design using computer, CADD (engl. ***C****omputer-****A****ided* ***D****rug* ***D****esign*). Two basic methods that molecular modeling relies on are molecular mechanics and quantum chemistry. Computer design is intended for designing ligand molecules which, thanks to their structure, will bind well on enzymes or receptors at the target site of action. The pharmacological properties of a potential drug are not fully possible to be predicted with the current models yet, which leaves a lot of room for improvement of this approach in drug design.

Results: The obtained values of topological indices were compared to the physico-chemical properties of series of compounds from the group of sulfonamides and we noticed some connections. The values of Wiener's number, Randić's, Balaban's and information-theoretical indices are proportional to the number of peaks of molecules and to the molecular weight. Based on the collected knowledge we have shown how the SAR of a particular molecule or series of compounds can be used for their continuous optimisation with the aim of obtaining the desired molecule's pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics or its desired biological activity.

Conclusion: The application of the QSAR method in the drug design process has greatly improved the design process itself and has enabled identification of an appropriate molecule before its synthesis. At the same time with the development of this method, an optimisation process of a particular molecule or series of compounds begins, in order to obtain a compound with the desired properties and biological activity.

10. ŽIVOTOPIS

Osobne informacije:

Ime i prezime: Valentin Vučković

Datum i mjesto rođenja: 12. svibnja 1992. godine, Zadar, Republika Hrvatska

Adresa: Poljica 46, 23000 Zadar, Hrvatska

Broj telefona: +385 91 752 8583

Elektronička pošta: valentin.vuckovic@gmail.com

Državljanstvo: Republike Hrvatske

Obrazovanje:

2011. – 2016. Kemijsko-tehnološki fakultet Sveučilišta u Splitu i Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, Integrirani preddiplomski i diplomski studij Farmacija

2007. – 2011. Gimnazija Franje Petrića (MIOC), Zadar

1999. – 2007. Osnovna škola Bartula Kašića, Zadar

Radno iskustvo:

2008. – 2015. Diskont pića Duopromet d.o.o. (sezonski rad)

3. 2016. – 9. 2016. Stručno osposobljavanje u Ljekarni Splitsko-dalmatinske županije, Ljekarna Brda

Posebne vještine:

Rad na računalu: Aktivno i svakodnevno korištenje MS Office paketa, Eskulap 2000

Strani jezik: Engleski jezik – aktivno u govoru i pismu

Vozačka dozvola: B kategorija