

Biotransformacije seskviterpena nerolidola i farnezola - in silico pristup

Meić, Luka

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

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:167:847063>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-18**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

**BIOTRANSFORMACIJE SESKVITERPENA NEROLIDOLA I
FARNEZOLA – *IN SILICO* PRISTUP**

ZAVRŠNI RAD

LUKA MEIĆ

Matični broj: 381

Split, rujan 2020.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE

**BIOTRANSFORMACIJE SESKVITERPENA NEROLIDOLA I
FARNEZOLA – *IN SILICO* PRISTUP**

ZAVRŠNI RAD

LUKA MEIĆ
Matični broj: 381

Split, rujan 2020.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
UNDERGRADUATE STUDY IN CHEMISTRY

**BIOTRANSFORMATIONS OF SESQUITERPENES NEROLIDOL
AND FARNESOL - *IN SILICO* APPROACH**

BACHELOR THESIS

Luka Meić

Parent number: 381

Split, September 2020.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu
Preddiplomski studij kemije

Znanstveno područje: prirodne znanosti

Znanstveno polje: kemija

Tema rada je prihvaćena na 28. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu

Mentor: izv. prof. dr. sc. Mila Radan

BIOTRANSFORMACIJE SESKVITERPENA NEROLIDOLA I FARNEZOLA – *IN SILICO* PRISTUP

Luka Meić, 381

Sažetak:

Farmakokinetika govori o sudbini lijeka unesenog u organizam. Lijek se u krvotok može aplicirati intavenski, subkutano (pod kožu), intramuskularno, rektalno, topikalno (izravno na mjesto na kojem se očekuje djelovanje), inhalacijom i oralno. Raspodjela u organizmu nije ravnomjerna zbog različite prokrvljenosti organa, različitog sastava i propusnosti membrana te zbog različitog lokalnog pH.

Jetra su najvažniji organ u metabolizmu lijekova i ksenobiotika (tvari koje su unesene u organizam, strane organizmu), a najvažnija enzimska porodica u metabolizmu lijekova su enzimi citokrom P450 porodice (CYP 450). Bubrezi su najvažniji organi koji pomažu u izlučivanju lijekova iz organizma, a izlučivanje je moguće i pomoću jetre u žuč.

Nerolidol i farnezol su seskviterpenski alkoholi prisutni u raznim biljkama cvjetnog mirisa. Imaju brojne biološke aktivnosti od kojih i antikancerogeno djelovanje.

Svi programi i modeli predviđanja bioloških aktivnosti mogli bi se podijeliti u dvije skupine: ligand (supstrat) bazirane i strukturno (enzimski) bazirane. Mjesto metabolizma (eng. the site of metabolism-SOM) je mjesto u molekuli koje se sastoji od jednog ili nekoliko atoma koji dolaze u interakciju s enzimima i kemijski se mijenjaju.

U ovom radu su korišteni programi sa platforme way2drug. SOMP (eng. site of metabolism prediction) je korišten za predviđanje mjesta metabolizma organskih tvari za pet izoformi citokroma P450 te mjesta za glukuronidaciju UDP-glukuronil transferazom, a RA (eng. reacting atom) za predviđena mjesta biotransformacije te vrste reakcija biotransformacije koje bi se mogle odviti koji.

Dobivena predviđanja nisu dovoljno precizna da bi predočila metabolički put nerolidola i farnezola u organizmu, ali pružaju bolji uvid u reakcije koje bi se mogle odvijati te mogu pomoći pri daljnjim istraživanjima.

Ključne riječi: farmakokinetika, citokrom P450, nerolidol, farnezol, way2drug, SOMP, RA

Rad sadrži: 35 stranica, 8 slika, 27 tablica, 21 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. Prof. dr. sc. Olivera Politeo - predsjednik
2. Dr. sc. Ivana Carev - član
3. Izv. prof. dr. sc. Mila Radan - mentor

Datum obrane: 24. 9. 2020.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Undergraduate study in Chemistry

Scientific area: Natural Sciences

Scientific field: Chemistry

Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 28.

Mentor: Mila Radan, PhD, associate prof.

Comentor:

BIOTRANSFORMATIONS OF SESQUITERPENES NEROLIDOL AND FARNESOL - *IN SILICO* APPROACH

Luka Meić, 381

Abstract:

Pharmacokinetics shows us fate of ingested drugs. The drug can be administered into the bloodstream intravenously, subcutaneously (under the skin), intramuscularly, rectally, topically (directly at the site where the action is expected), by inhalation and orally. The distribution in the organism is not uniform due to different blood supply to the organs, different composition and permeability of the membranes and different local pH. The liver is the most important organ in drug and xenobiotics (substances introduced into the body, foreign bodies) metabolism. The most important enzyme family in drug metabolism are cytochrome P450 enzymes (CYP 450). The kidneys are the most important organs for excretion of drugs from the body. Excretion is also possible by the liver in the bile.

Nerolidol and farnesol are sesquiterpenic alcohols present in various floral fragrance of plants. They have numerous biological activities like anticancer activity.

All programs and models for predicting biological activities could be divided into two groups: ligand (substrate) based and structural (enzyme) based. The site of metabolism (SOM) is a site in a molecule that consists of one or more atoms that interact with enzymes and change chemically.

In this paper were used programs available on way2drug platform. SOMP (Site of Metabolism Prediction) was used to predict the site of organic matter metabolism for the five cytochrome P450 isoforms and the site for glucuronidation by UDP-glucuronyl transferase. RA (Reacting atom) was used for prediction of biotransformation sites, and the types of biotransformation reactions that could happen.

The predictions obtained are not precise enough to show the metabolic pathways of nerolidol and farnesol in the body, but they provide a better view into the reactions that could take place and may help in further studies.

Keywords: pharmacokinetics, cytochrome P450, nerolidol, farnesol, way2drug, SOMP, RA

Thesis contains: 35 pages, 8 figures, 27 tables, 21 references

Original in Croatian

Defense committee:

- | | |
|---------------------------------------|-------------|
| 1. Olivera Politeo - PhD, full prof. | chairperson |
| 2. Ivana Carev - PhD, assistant prof. | member |
| 3. Mila Radan - PhD, associate prof. | supervisor |

Defense date: 24. 9. 2020.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Završni rad je izrađen u Zavodu za biokemiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Mile Radan, u razdoblju od lipnja do rujna 2020. godine.

Želim se zahvaliti izv. prof. dr. sc. Mili Radan na mentorstvu tijekom izrade završnog rada i svesrdne pomoći, također joj se zahvaljujem jer je prepoznala moje zanimanje za biokemiju i još me više zaintrigirala za ovo područje.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

Proučiti, izvršiti i opisati *in silico* predviđanja biotransformacija seskviterpena nerolidola i farnezola.

SAŽETAK

Farmakokinetika govori o sudbini lijeka unesenog u organizam. Lijek se u krvotok može aplicirati intavenski, subkutano (pod kožu), intramuskularno, rektalno, topikalno (izravno na mjesto na kojem se očekuje djelovanje), inhalacijom i oralno. Raspodjela u organizmu nije ravnomjerna zbog različite prokrvljenosti organa, različitog sastava i propusnosti membrana te zbog različitog lokalnog pH.

Jetra su najvažniji organ u metabolizmu lijekova i ksenobiotika (tvari koje su unesene u organizam, strane organizmu), a najvažnija enzimska porodica u metabolizmu lijekova su enzimi citokrom P450 porodice (CYP 450). Bubrezi su najvažniji organi koji pomažu u izlučivanju lijekova iz organizma, a izlučivanje je moguće i pomoću jetre u žuč.

Nerolidol i farnezol su seskviterpenski alkoholi prisutni u raznim biljkama cvjetnog mirisa. Imaju brojne biološke aktivnosti od kojih i antikancerogeno djelovanje.

Svi programi i modeli predviđanja bioloških aktivnosti mogli bi se podijeliti u dvije skupine: ligand (supstrat) bazirane i strukturno (enzimski) bazirane. Mjesto metabolizma (eng. the site of metabolism-SOM) je mjesto u molekuli koje se sastoji od jednog ili nekoliko atoma koji dolaze u interakciju s enzimima i kemijski se mijenjaju.

U ovom radu su korišteni programi sa platforme way2drug. SOMP (eng. site of metabolism prediction) je korišten za predviđanje mjesta metabolizma organskih tvari za pet izoformi citokroma P450 te mjesta za glukuronidaciju UDP-glukuronil transferazom, a RA (eng. reacting atom) za predviđena mjesta biotransformacije te vrste reakcija biotransformacije koje bi se mogle odviti koji.

Dobivena predviđanja nisu dovoljno precizna da bi predočila metabolički put nerolidola i farnezola u organizmu, ali pružaju bolji uvid u reakcije koje bi se mogle odvijati te mogu pomoći pri daljnjim istraživanjima.

Ključne riječi: farmakokinetika, citokrom P450, nerolidol, farnezol, way2drug, SOMP, RA

SUMMARY

Pharmacokinetics shows us fate of ingested drugs. The drug can be administered into the bloodstream intravenously, subcutaneously (under the skin), intramuscularly, rectally, topically (directly at the site where the action is expected), by inhalation and orally. The distribution in the organism is not uniform due to different blood supply to the organs, different composition and permeability of the membranes and different local pH.

The liver is the most important organ in drug and xenobiotics (substances introduced into the body, foreign bodies) metabolism. The most important enzyme family in drug metabolism are cytochrome P450 enzymes (CYP 450). The kidneys are the most important organs for excretion of drugs from the body. Excretion is also possible by the liver in the bile.

Nerolidol and farnesol are sesquiterpenic alcohols present in various floral fragrance of plants. They have numerous biological activities like anticancer activity.

All programs and models for predicting biological activities could be divided into two groups: ligand (substrate) based and structural (enzyme) based. The site of metabolism (SOM) is a site in a molecule that consists of one or more atoms that interact with enzymes and change chemically.

In this paper were used programs available on way2drug platform. SOMP (Site of Metabolism Prediction) was used to predict the site of organic matter metabolism for the five cytochrome P450 isoforms and the site for glucuronidation by UDP-glucuronyl transferase. RA (Reacting atom) was used for prediction of biotransformation sites, and the types of biotransformation reactions that could happen.

The predictions obtained are not precise enough to show the metabolic pathways of nerolidol and farnesol in the body, but they provide a better view into the reactions that could take place and may help in further studies.

Keywords: pharmacokinetics, cytochrome P450, nerolidol, farnesol, way2drug, SOMP, RA

SADRŽAJ

UVOD.....	1
1. FARMAKOKINETIKA.....	2
1.1. APSORPCIJA LIJEKA	2
1.2. DISTRIBUCIJA LIJEKA	3
1.3. METABOLIZAM LIJEKOVA.....	3
1.3.1. ENZIMI PORODICE CITOKROM P450	4
1.4. IZLUČIVANJE LIJEKOVA	5
2. SESKVITERPENI.....	5
2.1. NEROLIDOL	6
2.2. KEMIJSKA STRUKTURA I FIZIKALNA SVOJSTVA NEROLIDOLA..	7
2.3. BIOSINTEZA NEROLIDOLA.....	8
2.4. FARMAKOLOŠKA I BIOLOŠKA AKTIVNOST NEROLIDOLA	9
3. FARNEZOL	9
3.1. KEMIJSKA STRUKTURA I FIZIKALNA SVOJSTVA FARNESOLA ..	10
3.2. BIOSINTEZA FARNEZOLA.....	11
3.3. FARMAKOLOŠKA I BIOLOŠKA AKTIVNOST FARNESOLA	11
4. PREDVIĐANJE BIOTRANSFORMACIJA ORGANSKH KSENOBIOTIKA.....	11
4.1. PREDVIĐANJE MJESTA METABOLIZMA.....	12
4.2. KREIRANJE SETOVA PODATAKA	13
5. PLATFORMA Way2drug.....	13
5.1. DOSTUPNI PROGRAMI	13
5.1.1. PASS Online.....	14
5.1.2. SOMP.....	14
5.1.3. RA.....	15
6. PREDVIĐANJE MJESTA METABOLIZMA POMOĆU PROGRAMA SOMP	17
6.1. POSTUPAK ODREĐIVANJA.....	17
6.2. REZULTATI PREDVIĐANJA MJESTA METABOLIZMA ZA NEROLIDOL	17

6.3. REZULTATI PREDVIĐANJA MJESTA METABOLIZMA ZA FARNEZOL	22
7. PREDVIĐANJE MJESTA BIOTRANSFORMACIJE POMOĆU PROGRAMA RA (Reacting atom)	25
7.1. POSTUPAK ODREĐIVANJA.....	25
7.2. MJESTO BIOTRANSFORMACIJE NEROLIDOLA	26
7.3. MJESTO BIOTRANSFORMACIJE FARNEZOLA.....	29
8. ZAKLJUČAK.....	33
LITERATURA.....	34

UVOD

Pri istraživanju i razvoju novih lijekova ključno je poznavanje farmakokinetike lijeka. Mnoge se tvari ne mogu koristiti kao lijekovi zbog nepovoljne farmakokinetike.

S mjesta aplikacije lijek se unosi u krvotok prolaskom kroz membrane i kasnije raspodjeljuje po organizmu, a ključni organ u metabolizmu lijekova su jetra. Glavne reakcije biotransformacije u metabolizmu su: oksidacija, redukcija, hidroliza, hidratacija, konjugacija kondenzacija i izomerizacija. (1)

Citokromi P450 porodice su najvažnija enzimska porodica u metabolizmu lijekova i ksenobiotika. To su monooksigenaze koje se nalaze u endoplazmatskom retikulumu i mitohondrijima stanica jetara i tankog crijeva. (4)

Farmaceutske tvrtke ulažu velike napore i vrše brojna ispitivanja kako bi proučile djelovanje enzima na biološki aktivne tvari, a kompjutorske (*in silico*) metode predviđanja su koristan alat za uštedu vremena i novca pri tim istraživanjima. (13)

Seskviterpenski alkoholi nerolidol i farnezol su zbog svojih brojnih biološki aktivnih svojstava, a ponajviše antikancerogenog djelovanja privukli pažnju znanstvenika.

U ovom radu za predviđanja mjesta metabolizma i reakcija koje bi se mogle odviti u metabolizmu nerolidola i farnezola korišteni su programi dostupni na internetskoj platformi Way2drug. Platforma pruža predviđanja biološke aktivnosti organskih molekula koje bi mogle imati biološki aktivna svojstva.

U ovom radu su korištena dva dostupna programa. Korišten je program SOMP (eng. site of metabolism prediction) koji je baziran na PASS tehnologiji i služi za predviđanje mjesta metabolizma organskih tvari za pet izoformi citokroma P450 te mjesta za glukuronidaciju UDP-glukuronil transferazom. Drugi korišten program je RA (eng. reacting atom), također baziran na PASS tehnologiji, a pomoću njega su predviđena mjesta biotransformacije te vrste reakcija biotransformacije koje bi se mogle odviti.

1. FARMAKOKINETIKA

Farmakokinetika govori o sudbini lijeka unesenog u organizam od apsorpcije preko distribucije i metabolizma do izlučivanja (eng. ADME - absorption, distribution, metabolism, excretion) i matematički opisuje te parametre. Pojam govori i o početku, trajanju i intenzitetu djelovanja lijeka. Osim o kemijskom sastavu lijeka farmakokinetika ovisi i o karakteristikama organizma: genetici, dobi, spolu i bolestima. (1)

Poznavanje farmakokinetike nekog lijeka ključno je pri istraživanju i razvoju novih lijekova. Mnoge biološki aktivne tvari nisu povoljne za uporabu kao lijekovi zbog nepovoljne farmakokinetike odnosno loše bioraspoloživosti, topivosti, brzog izlučivanja i sl. (1)

1.1. APSORPCIJA LIJEKA

Lijek se u krvotok može aplicirati intavenski, subkutano (pod kožu), intramuskularno, rektalno, topikalno (izravno na mjesto na kojem se očekuje djelovanje), inhalacijom i oralno. (1)

Ukoliko se lijek ne aplicira direktno u krv intravenski, on se mora s mjesta aplikacije unijeti u krvotok prolaskom kroz membrane. Transport lijeka kroz membrane odvija se nekim od sljedećih postupaka (1):

- pasivnom difuzijom
- filtracijom
- aktivnim transportom
- olakšanim transportom
- ionskim transportom
- endocitozom
- egzocitozom

Na membranama se mogu nalaziti i razni proteinski receptori koji mogu olakšati prolaz lijeka kroz membranu. Transport ovisi o mnogim faktorima, a najvažniji su lipofilnost i topivosti lijeka. (1)

Apsorpcija se mjeri omjerom koncentracija lijeka u krvotoku kada je lijek uzet neintravenski (npr. oralno) i kada je lijek uzet intravenski (1):

$$APSORPCIJA = \frac{D(\text{oral})}{D(i)} \times 100$$

Ova vrijednost se još naziva i bioraspoloživost. Apsorpcija lijekova uzetih oralno je uvijek manja jer lijekovi uzeti oralno moraju proći kroz jetru prije ulaska u krvotok. U jetri se dio lijeka metabolizira pa je koncentracija lijeka koja dospije u krv manja od početne. (1)

1.2. DISTRIBUCIJA LIJEKA

Kada lijek uđe u krvotok on se dalje raspodjeljuje po organizmu. Raspodjela u organizmu nije ravnomjerna zbog različite prokrvljenosti organa, različitog sastava i propusnosti membrana te zbog različitog lokalnog pH. (1)

Distribucija lijeka u organizmu nije moguće odrediti direktno. Zato se za određivanje distribucije lijeka koristi volumen distribucije (V_d). Volumen distribucije je omjer količine lijeka unesene u organizam u mg i količine lijeka u krvi u mg/L (2).

$$V_d = \frac{D(\text{tijelo})}{D(\text{krv})}$$

U teoriji volumen distribucije je volumen u kojem bi se trebalo otopiti unesenu količina lijeka da bi se postigla koncentracija ista koncentraciji lijeka u krvi. (3)

Ako je volumen distribucije velik to znači da lijek vrlo brzo ulazi u tkiva, a u krvi ga zaostaje manje. Obratno ako je volumen distribucije mali to znači da mu je koncentracija u krvi visoka jer slabo ulazi u tkiva. Volumen raspodjele govori koliko se lijek brzo apsorbira ali ne govori nam mnogo o specifičnosti raspodjele. Ovisno o kojem se lijeku radi svaki se specifično veže za određeno tkivo. (3)

Lijekovi se u krvi rijetko prenose kao slobodni. Većinom se prenose vezani za proteine prenosioce. Albumini najčešće prenose kisele lijekove, dok α_1 -glikoproteini i lipoproteini prenose lužnate. Lijek može difundirati u organe tek kada su svi proteinski prenosioци zauzeti. Kad razina lijeka u krvi opadne on se otpušta iz tkiva. Stoga veće koncentracije u tkivima produljuju učinak. (3)

1.3. METABOLIZAM LIJEKOVA

Primarna zadaća metabolizma lijekova je pretvorba lijeka u topiviji oblik koji se lakše izlučuje, najčešće mokraćom. Lijekovi se biotransformacijom uglavnom inaktiviraju,

dok se mali broj aktivira. Takve lijekove nazivamo prolijekovima. Glavne reakcije biotransformacije u metabolizmu su: oksidacija, redukcija, hidroliza, hidratacija, konjugacija kondenzacija i izomerizacija. (1,3)

Jetra su najvažniji organ u metabolizmu lijekova i ksenobiotika (tvari koje su unesene u organizam, strane organizmu). Svaki organizam različitom brzinom metabolizira određeni lijek zbog genetskih razlika, bolesti ili raznih interakcija. (1)

Metabolizam većine lijekova se odvija u dvije faze. Reakcije prve faze su nesintetske i uključuju oksidaciju, redukciju i hidrolizu. Ovim reakcijama se uvode nove ili se modificiraju postojeće funkcionalne skupine. U reakcijama druge faze provodi se konjugacija s nekom novom endogenom tvari npr. glicin, glukuronskom ili sumpornom kiselinom. Ove reakcije su sintetske. (3)

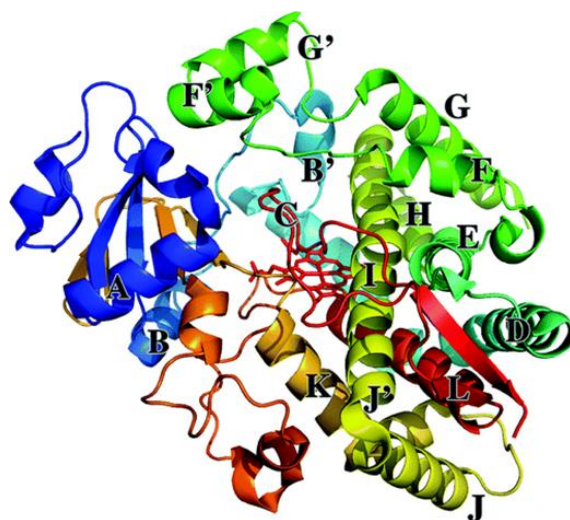
1.3.1. ENZIMI PORODICE CITOKROM P450

Najvažnija enzimaska porodica u metabolizmu lijekova su enzimi citokrom P450 porodice (CYP 450). CYP 450 su monooksigenaze koje se nalaze u endoplazmatskom retikulumu i mitohondrijima stanica jetara i tankog crijeva. Kao i svi citokromi sadržavaju kovalentno vezanu skupinu hema. Sudjeluju u reakcijama prve faze metabolizma. Izooblici 1A2, 2C9, 2C19, 2D6, i 3A4 metaboliziraju 75 % lijekova (4). Najvažnije reakcije koje kataliziraju su: aromatske hidroksilacije, N-dealkilacije, O-dealkilacije, S-oksidacije, N-oksidacije i epoksidacije. (4)

CYP napada određeni C atom ili neki drugi heteroatom što dovodi do nastanka međuprodukta npr. karbokationa ili C radikala. Danjim biotransformacijama ovaj međuprodukt prelazi u produkt koji ovisi o okruženju C atoma ili heteroatoma.

Starenjem se smanjuje volumen i prokrvljenost jetara pa se lijekovi duže zadržavaju u organizmu i imaju dulji i jači učinak. (4)

CYP-ovi se pretežno sastoje od α -uzvojnica (označeni od A do L na Slici 1.). Dvije uzvojnice (F i G) čine krov aktivnog mjesta, a između druge dvije uzvojnice (I i L) nalazi se prostetička skupina hem B. (5)



Slika 1. Struktura CYP3A4 (5)

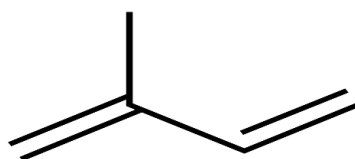
1.4. IZLUČIVANJE LIJEKOVA

Bubrezi su najvažniji organi koji pomažu u izlučivanju lijekova iz organizma. Krv koja ulazi u bubrege filtrira se u glomerulima, gdje se iz nje uklanjaju štetne tvari i lijekovi. Nakon filtracije reapsorpcijom se u krvotok vraća voda i ostale korisne tvari. Većina spojeva nastalih biotransformacijama su polarni spojevi, a oni se ne mogu reapsorbirati u krvotok. Neki polarni spojevi kao npr. glukoza imaju razrađene posebne mehanizme reapsorpcije. (6)

Da bi se lijekovi izlučili pomoću bubrega ne smiju biti vezani za proteine prenosioce jer samo slobodni mogu difundirati kroz membranu glomerula. (6)

Drugi način izlučivanja je izlučivanje pomoću jetre u žuč. Ovaj način je češći za lipofilne lijekove. Lijekovi se izlučuju u tanko crijevo te odstranjuju fekalno. Dio lijeka se može reapsorbirati u crijevu i tako produljiti djelovanje. (6)

2. SESKVITERPENI



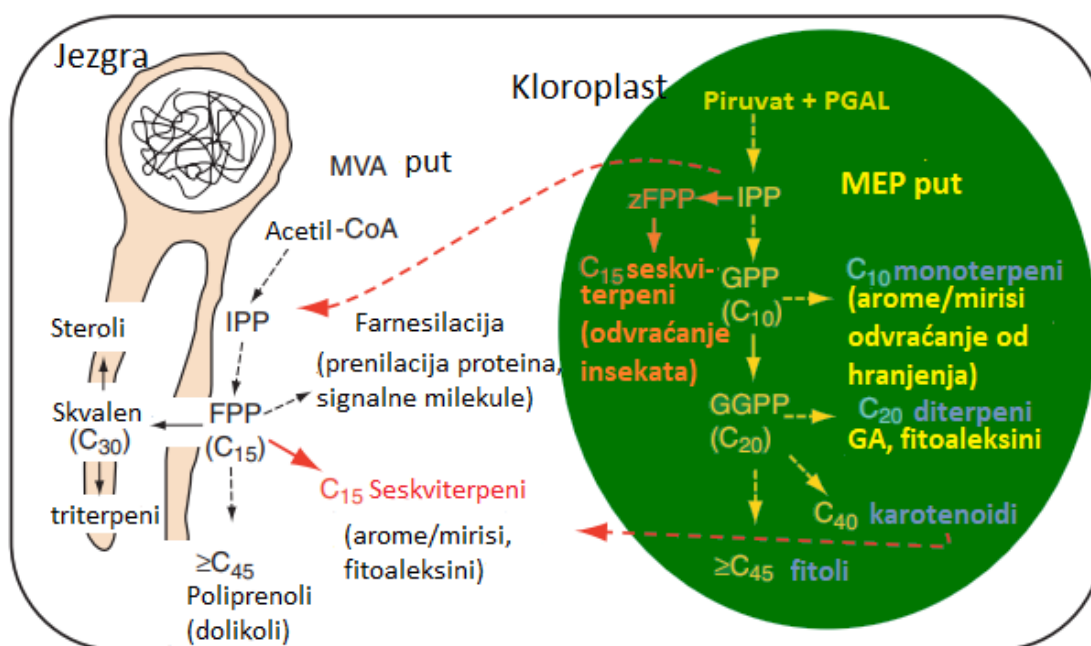
Slika 2. Izopren - gradivna jedinica terpena (7)

Terpeni su široko rasprostranjeni sastojci eteričnih ulja. Oni su ugljikovodici koji se sastoje od ponavljajućih izoprenskih jedinica ($\text{CH}_2 = \text{C}(\text{CH}_3) - \text{CH} = \text{CH}_2$). Molekulska formula terpena je $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$, gdje je n broj ponavljajućih izoprenskih jedinica. (8)

Seskviterpeni su terpeni sa tri izoprenske jedinice. Sastojci su brojnih eteričnih ulja, primjerice eteričnih ulja biljaka roda (8):

- Cannabaceae (konopljike): hmelj
- Asteraceae (glavočike): atraktildi
- Magnoliaceae (magnolijevke): magnolija
- Cyperaceae (šiljovke): okruglasti oštrik.

Većina seskviterpena nastaje izravno iz farnesil difosfata (FPP), C₁₅ difosfatnog intermedijera mevalonskog biosintetskog puta (MVA). Drugi način nastajanja seskviterpena je kao produkt razgradnje terpena nastalih nemevalonskim putem ili metileritrol fosfatnim putem (MEP). Ova dva puta u biljkama djeluju istovremeno osim u plastidima. Najpoznatiji produkt drugog puta je abscizinska kiselina koja nastaje raspadom karotenoida, a biljkama služi kao regulator rasta. (8)



SLIKA 3. Prikaz metabolizma terpena i sinteze seskviterpena u tipičnoj stanici (8)

2.1. NEROLIDOL

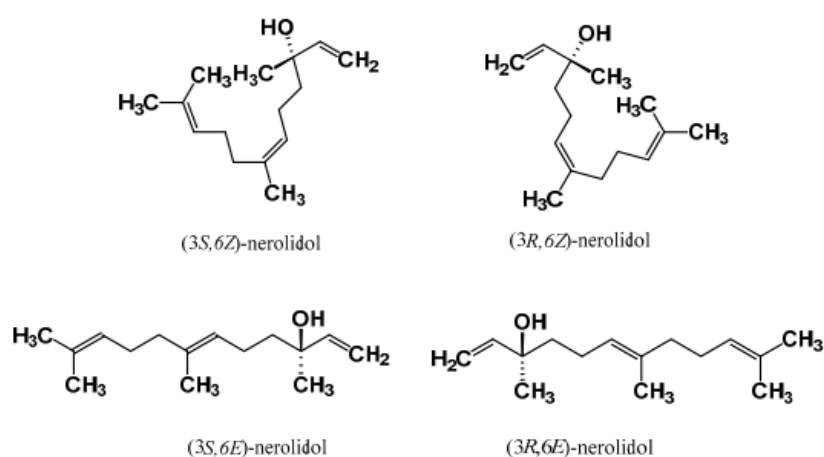
Nerolidol (IUPAC: 3,7,11-trimetil-1,6,10-dodekatrien-3-ol), poznat i pod nazivom peruviol, je seskviterpenski alkohol prisutan u raznim biljkama cvjetnog mirisa. Nalazi

se u dva geometrijska izomera *-cis* i *-trans*. Sintetizira se u biljkama kao intermedijer u proizvodnji (3*E*)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatriena (DMNT) koji štiti biljke od oštećenja uzrokovanih biljojedima biljojedima. (9)

Upotreba nerolidola je široko rasprostranjena u proizvodnji šampona, parfema, detergenata i sredstava za čišćenje. Američka agencija za hranu i lijekove (Food and Drug Administration -FDA) odobrila je za korištenje nerolidola kao sredstva za aromatiziranje hrane. (9)

2.2. KEMIJSKA STRUKTURA I FIZIKALNA SVOJSTVA NEROLIDOLA

Nerolidol se pojavljuje u četiri različita izomera koji se sastoje od dva enantiomera i dva geometrijska izomera. Izomerizam je prisutan zbog prisutnosti dvostruke veze na C-6 atomu te kiralnog centra na C-3 atomu. (9)



SLIKA 4. Kemijska struktura dvaju enantiomera nerolidola i njihovi *-cis* i *-trans* izomeri (9)

TABLICA 1.: Sinonimi *-cis* i *-trans* izomera nerolidola (9)

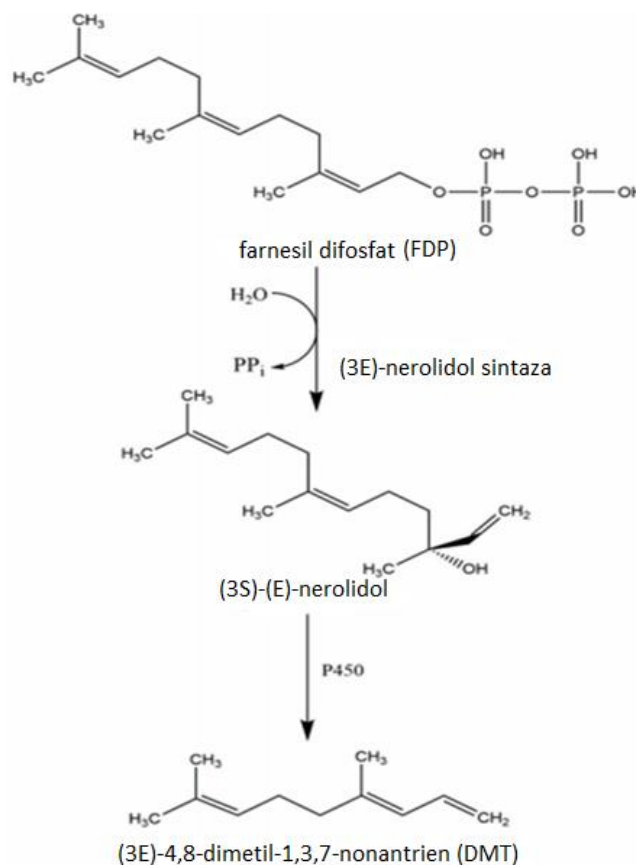
<i>cis</i> -nerolidol	<i>trans</i> -nerolidol
(±)- <i>cis</i> -nerolidol	(±)- <i>trans</i> -nerolidol
(6 <i>Z</i>)-3,7,11-trimetil-1,6,10-dodekatrien-3-ol	(6 <i>E</i>)-3,7,11-trimetil-1,6,10-dodekatrien-3-ol
(6 <i>Z</i>)-3,7,11-trimetildodeka-1,6,10-trien-3-ol	(6 <i>Z</i>)-3,7,11-trimetildodeka-1,6,10-trien-3-ol
(6 <i>Z</i>)-nerolidol	(6 <i>E</i>)-nerolidol
1,6,10-dodekatrien-3-ol,3,7,11-trimetil-,(6 <i>Z</i>)-	1,6,10-dodekatrien-3-ol,3,7,11-trimetil-,(6 <i>E</i>)-
(<i>Z</i>)-nerolidol	(<i>E</i>)-nerolidol

Kao i drugi seskviterpeni, nerolidol je jako hidrofoban te zbog toga lako prolazi kroz membrane stanica i stupa u interakcije sa unutarstaničnim proteinima i organelima. Lapczynski je opisao fizikalna svojstva nerolidola kako je prikazano (9):

- Fizikalni opis: Prozirno blijedo žuta do žuta tekućina s nježnim cvjetnim mirisom koji podsjeća na ružu i jabuku.
- Kemijska formula: $C_{15}H_{26}O$
- Plamište: $>100\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Temperatura vrenja: $276\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Konstanta razdjeljenja (LogK_{OW}): 5.68.
- Tlak para: 0.1 mm Hg $20\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Relativna gustoća: 0.8744.
- Topljivost : 1.532 mg/L pri $25\text{ }^{\circ}\text{C}$

2.3. BIOSINTEZA NEROLIDOLA

Svi terpenoidi se biosintetiziraju iz univerzalnog C5 izopentenil difosfatnog prekursora (IPP) i njegovog alilskog izomera dimetilalil difosfata (DMAPP). Kondenzacijom dvaju IPP i jednog DMAPP pomoću preniltransferaza nastaju linearni izoprenilni difosfatni prekursori mnogo duljih lanaca poput geranil difosfata (GDP), FDP i geranilgeranil difosfata (GGDP). Alinski prenildifosfati GDP-a, FDP-a i GGDP-a se pomoću terpen sintaza prevode do monoterpena (C10), seskviterpena (C15) i diterpena (C20). (9)



SLIKA 5. Biosintetski put (3S)-(E)-nerolidola kao intermedier u proizvodnji DMNT-a koji štiti biljke od biljojeda (9)

2.4. FARMAKOLOŠKA I BIOLOŠKA AKTIVNOST NEROLIDOLA

Kako nerolidol sudjeluje u mnogim obrambenim mehanizmima biljaka, znanstvenici su bili zainteresirani za daljnja istraživanja farmakoloških i bioloških aktivnosti nerolidola. Tako je otkriveno da nerolidol ima i antimikrobno, antibiofilmno, antioksidacijsko, protuparazitno, antinociceptivno, protuupalno i antikancerogeno djelovanje. Također djeluje i na kožu ima repelentno djelovanje te pomaže prolazu tvari kroz kožu. (9)

3. FARNEZOL

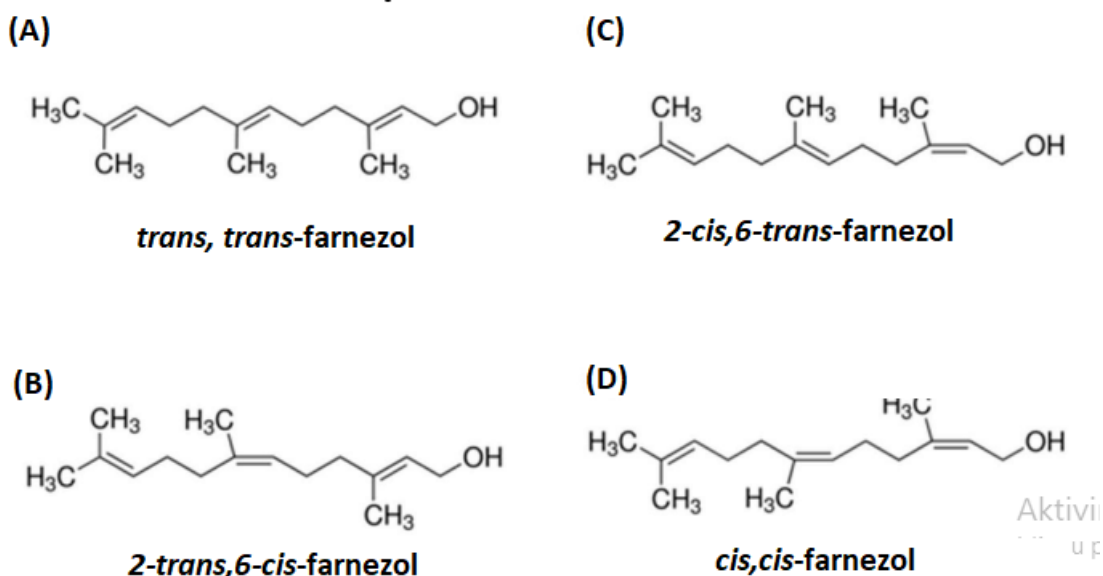
Farnezol (IUPAC: 3,7,11-Trimetil-2,6,10-dodekatrien-1-ol) je seskviterpenski alkohol. Ime je dobio po latinskom imenu biljke igličasti grm (*Vachellia farnesiana*) iz koje je prvi put izoliran. Farnezol nastaje u biljkama defosforilacijom farnesil pirofosfata. (10) U prirodi ga nalazimo u četiri izomerna oblika.

Farnezol je bezbojno tekuće ulje slatkog, mekog i delikatnog mirisa. Široko se koristi u kozmetičkoj i parfumerijskoj industriji. Koristi se u parfemima na bazi slatkog cvijeća te kao antibakterijsko sredstvo u kozmetičkim proizvodima. U prehrambenoj industriji se koristi kao aroma. Pronađen je u raznim biljkama: marelici, ulju limunove kore, soku grejpa, jagodama, đumbiru, klinčiću, hmelju, kardamonu, đumbiru, majčinoj dušici, bosiljku, papaji i sjemenu anisa. (11)

3.1. KEMIJSKA STRUKTURA I FIZIKALNA SVOJSTVA

FARNESOLA

U prirodi su pronađena četiri izomerna oblika farnezola: *trans, trans*-farnezol, *2-trans,6cis*-farnezol, *2-cis,6-trans*-farnezol i *cis,cis*-farnezol prikazani na Slici 6.



SLIKA 6. Izomerni oblici farnezola (11)

Prema internetskoj stranici PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) ovo su fizikalna svojstva farnezola:

- Fizikalni opis: Bezbojna tekućina delikatnog cvjetnog mirisa
- Molekulska formula: $C_{15}H_{26}O$.
- Temperatura taljenja: $>25\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Plamište: $>100\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Temperatura vrenja: $110\text{-}113\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Konstanta razdjeljenja (LogK_{ow}): 5.77.

- Tlak para: $3,94 \times 10^{-5}$ mm Hg 20 °C.
- Relativna gustoća: 0.8871.
- Topljivost : 1.7 mg/L pri 25 °C.

3.2. BIOSINTEZA FARNEZOLA

Farnezoil nastaje depirofosforilacijom farnesil pirofosfata (FPP) enzimom farnezoil sintazom. Kao kod biosinteze nerolidola u biljkama FPP nastaje kondenzacijom dimetilalil difosfata (DMAPP) s dvije molekule izopentenil difosfata (IPP). (10)

3.3. FARMAKOLOŠKA I BIOLOŠKA AKTIVNOST FARNESOLA

Iako farnezoil kod nekih osoba može izazvati alergijsku reakciju kada se nalazi kao sastojak u parfemima poznata su njegova brojna povoljna djelovanja. (12)

Farnezoil ima djelovanje na regulaciju upalnog odgovora, povoljno djeluje na edeme, alergijsku astmu, gliozu, kožne tumorogeneze, crijevne onkogeneze te imunološki sustav. Također pokazuje i antineoplastične efekte kod raznih karcinoma u ljudi kao što su karcinoma prostate, dojke i pluća. To djelovanje se zasniva na inhibiciji proliferacije stanica. (12)

4. PREDVIĐANJE BIOTRANSFORMACIJA ORGANSKH KSENOBIOTIKA

Biotransformacije su biokemijske modifikacije ksenobiotika koje u organizmu vrše posebni enzimski sustavi. Ako je metabolit fiziološki aktivna tvar te reakcije nazivamo metabolizmom lijekova. Ovim reakcijama mijenja se farmakokinetika i terapijski učinak lijeka te mogu dovesti do stvaranja metabolita sa posve različitim ili čak toksičnim djelovanjem. Stoga je potrebno dobro poznavati sudbinu lijeka u organizmu i reakcije biotransformacije do kojih dolazi. (13)

Farmaceutske tvrtke ulažu velike napore i vrše brojna ispitivanja *in vitro* i *in vivo* kako bi proučile djelovanje enzima na biološki aktivne tvari i istražili dobivene metabolite. Kompjutorske (*in silico*) metode predviđanja mogu biti korisne i uštedjeti mnogo vremena i novca pri pronalaženju novih biološki aktivnih tvari koje se mogu upotrijebiti kao lijekovi i predvidjeti njihovu sudbinu u organizmu. (13)

4.1. PREDVIĐANJE MJESTA METABOLIZMA

Mjesto metabolizma (eng. the site of metabolism-SOM) je mjesto u molekuli koje se sastoji od jednog ili nekoliko atoma koji dolaze u interakciju s enzimima i kemijski se mijenjaju. (13)

Najčešća enzimaska porodica koja vrši ove biotransformacije su enzimi citokrom P450 porodice.

Razni programi koriste različite metode predviđanja mjesta metabolizma za određene citokrome P450. Iako je razvijeno mnogo algoritama koji uspješno predviđaju mjesta metabolizma npr.: na temelju izračuna molekulskih orbitala, kvantnih kemijskih modela, usporedbi energija aktivacije za određena mjesta ostalih, oni teško predviđaju kemijsku formulu metabolita koji nastaje tom reakcijom. (13)

Svi programi i modeli predviđanja mogli bi se podijeliti u dvije skupine: ligand (supstrat) bazirane i strukturno (enzimski) bazirane. Supstrat bazirani programi sadržavaju baze podataka u koje su uneseni fragmenti molekula koji mogu biti uključeni u reakcije biotransformacije te koriste računske modele koji objašnjuju reaktivnost koristeći molekulске orbitalne proračune. Enzimski bazirane metode koriste informacije o strukturi lijeka, a mjesto metabolizma se predviđa prema sličnosti reaktivnog centra enzima s djelom molekule lijeka. (14)

Kod jednostavnijih mjesta metabolizma kao što je dušikov atom lako je predvidjeti nastajanje dušikovih oksida ili dealkiliranih produkata. Kod složenijih mjesta metabolizma koja sadržavaju aromatske prstenove ili dvostruke veze može nastati cijeli niz metabolita koje je teško predvidjeti (alkohole, diole, ketone, epoksidge). Određivanje mjesta metabolizma je prvi korak pri predviđanju izgleda metabolita. (13)

Ove metode a pogotovo one koje koriste izračune iz kvantne kemije zahtijevaju posebno obučeni tim programera uz dobro poznavanje kemije i biokemije.

Kada je mjesto metabolizma sastavljeno od više atoma uvodi se pojam "reagirajući atom". Reagirajući atom je onaj atom koji se nalazi i u polaznoj biološki aktivnoj tvari i u metabolitu nakon enzimatske reakcije ali mu je okolina promijenjena. (13)

4.2. KREIRANJE SETOVA PODATAKA

Kako se radi o kompjutorskim algoritmima programu su potrebni podatci na temelju kojih vrši predviđanja. Ti setovi podataka za programsko učenje zovu se trening setovi i evaluacijski setovi.

Trening setovi služe za popunjavanje parametara potrebnih za predviđanje, njima se program umjerava. Evaluacijski setovi služe za provjeru točnosti predviđanja, kod njih znamo točan rezultat te uspoređujemo taj rezultat sa dobivenim. Što je veći broj podataka unesen u program to je program pouzdaniji. (4)

Kod enzim baziranih programa, kakav ćemo i mi koristiti, setovi podataka sastoje se od molekulskih struktura sa jednim označenim atomom (SoLA-eng. structures with one labeled atom). (4)

Setovi moraju sadržavati pozitivne i negativne primjere s obzirom na interakcije molekula s enzimima, one u kojima dolazi do interakcija i one u kojima ne dolazi do njih. Ako SoLA predstavlja mjesto metabolizma to je pozitivan primjer, a ako nije to je negativan primjer. (4)

5. PLATFORMA Way2drug

Way2drug je besplatno dostupna informacijska računalna platforma koja pruža podatke o lijekovima odobrenim za medicinsku upotrebu u SAD-u i Ruskoj Federaciji. Također pruža predviđanja biološke aktivnosti organskih molekula koje bi mogle imati biološki aktivna svojstva. Moguće je predvidjeti nekoliko tisuća oblika bioloških aktivnosti koji uključuju: interakcije s molekulskim centrima, farmakoterapijske učinke i nuspojave, metabolizam lijekova, akutnu toksičnost za štakore, citotoksičnost, utjecaj na ekspresiju gena. (15)

Platforma sa razvija već tridesetak godina uz pomoć multidisciplinarnog tima sastavljenog od bioinformatičara i kemoinformatičara. (15)

5.1. DOSTUPNI PROGRAMI

Na platformi su dostupna dva programa koji omogućuju predviđanje raznih parametara: PASS (eng. prediction of activity spectra for substances) software koji služi za predviđanje ADMET (eng. absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity) parametara baziranih na strukturnim formulama organskih molekula te GUSAR (eng. general unrestricted structure-activity relationships) software za kreiranje QSAR (eng.

quantitative structure-activity relationships) modela i njihovo danje istraživanje u svrhu predviđanja aktivnosti organskih tvari. (15)

5.1.1. PASS Online

PASS Online je program za predviđanje više od 3500 vrsta bioloških aktivnosti od kojih su neke: farmagološki efekti, mehanizmi djelovanja, toksičnost, interakcije s enzimima i transporterima, utjecaj na ekspresiju gena i dr. (16)

Dizajniran je kao alat koji pruža uvid u cjelokupni biološki potencijal neke organske tvari. Za predviđanje je potrebna samo strukturna formula organskog spoja, a ona može biti i posve novi još nesintetizirani spoj čime se može procijeniti njegov biološki potencijal prije same sinteze i testiranja. Korištenje programa je besplatno uz prethodnu registraciju. (16)

Predviđanja su temeljena na promatranju povezanosti između strukture i aktivnosti više od 250 000 biološki aktivnih tvari, a prosječna točnost predviđanja programa je oko 95%. (16)

Razvijaju se razni projekti baziran na PASS tehnologiji:

- ROSC-Pred web servis za predviđanje kancerogenosti organskih tvari na glodavce .
- DIGEP-Pred web servis za predviđanje lijekovima induciranih promjena u ekspresiji gena.
- CLC-Pred(eng. cell line cytotoxicity predictor) web servis za predviđanje citotoksičnosti za zdrave i stanične linije raka.
- Istraživanje biološki aktivnih tvari iz biljaka korištenih u ayurvedskoj medicini.
- SMP-web servis za predviđanje supstratne/metabolitne specifičnost organskih tvari za razne enzime.
- SOMP-web servis za predviđanje mjesta metabolizma.
- RA-web servis za predviđanje vrste biotransformacijskih reakcija. (17)

5.1.2. SOMP

SOMP (eng. site of metabolism prediction) je web servis baziran na PASS tehnologiji koji služi za predviđanje mjesta metabolizma organskih tvari za pet izoformi citokroma

P450 (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 i CYP3A4) te mjesta za glukuronidaciju UDP-glukuronil transferazom. (17)

Tablica 2. Trening set za SOMP (17)

Enzim	Broj supstrata	Pozitivni primjeri	Negativni primjeri	Točnosti predviđanja izražena u %
CYP3A4	960	1410	18621	89
CYP2D6	588	726	8366	92
CYP2C9	446	600	7471	92
CYP2C19	388	517	6329	93
CYP1A2	573	888	9375	92
UGT	592	906	1136	98
Standard	1109	1701	16425	89

5.1.3. RA

RA (eng. reacting atom) je web servis baziran na PASS tehnologiji pomoću kojeg je moguće predviđanje mjesta biotransformacije za devet klasa reakcija (17):

- alifatsku hidroksilaciju
- aromatsku hidroksilaciju
- C- oksidaciju
- N-oksidaciju
- S-oksidaciju
- N-glukunoraciju
- O-glukunoraciju
- N-dealkilaciju
- O-delakilaciju

Tablica 3. Trening set za određivanja vrste biotransformacijskih reakcija za RA (17)

Broj supstrata	Točnost predviđanja izražena u %	Vrsta reakcije
68	79.871	C-Oksidacija
93	95.95	S-Oksidacija
114	87.473	N-Oksidacija
274	89.502	O-Dealkilacija
295	79.024	Aromatska hidroksilacija
309	88.558	N-Glukuronidacija
385	80.904	Alifatska hidroksilacija
395	91.813	N-Dealkilacija
2454	88.87	O-Glukuronidacija

Tablica 4. Trening set za određivanje atoma na kojem se reakcija odvija (17)

Broj supstrata	Točnost predviđanja izražena u %	Vrsta reakcije
96	99.328	S- Oksidacija
422	99.249	N-dealkilacija
2555	99.18	O-glukuronidacija
305	98.967	O-dealkilacija
121	98.65	N- Oksidacija
330	98.612	N-glukuronidacija
430	91.765	Aromatska hidroksilacija
508	91.456	Alifatska hidroksilacija
69	85.9	C- Oksidacija

6. PREDVIĐANJE MJESTA METABOLIZMA POMOĆU PROGRAMA SOMP

6.1. POSTUPAK ODREĐIVANJA

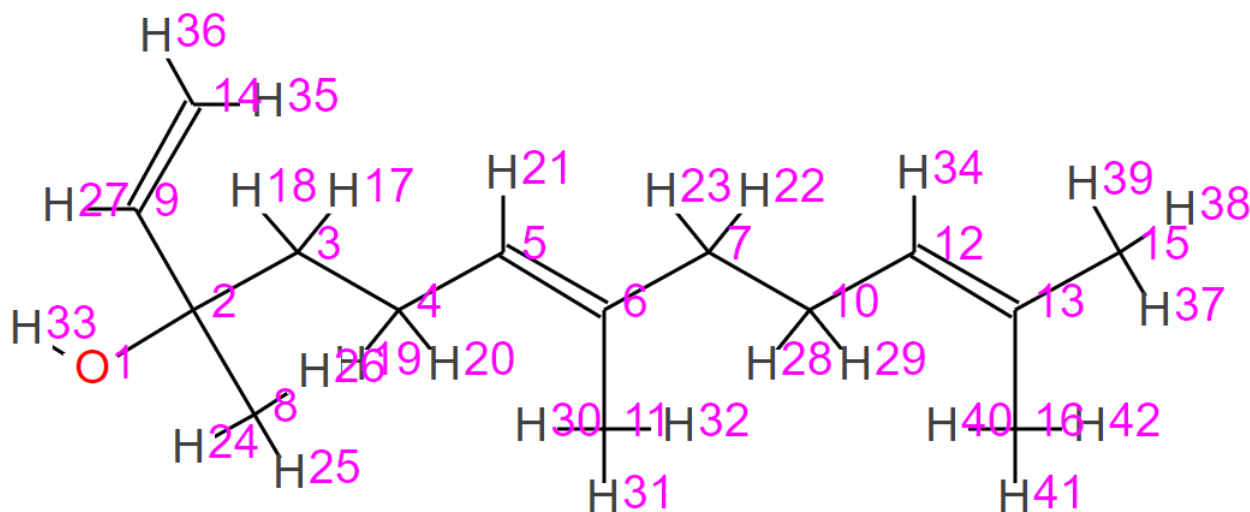
Sa internetske stranici PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) preuzeta je 2D struktura nerolidoa i farnezola (u sdf. formatu) te prebačena u program SOMP koji je besplatno dostupan na internetu (<http://www.way2drug.com/SOMP/>).

Program za svaki atom u molekuli računa vjerojatnost da je taj atom mjesto metabolizma za određeni enzim (Pt), te vjerojatnost da atom nije mjesto metabolizma za određeni enzim (Pf). Zatim računa deltaP (Pt-Pf).

Ukoliko je deltaP pozitivan postoji mogućnost da je promatrani atom mjesto metabolizma za taj enzim, što je deltaP veći to je ta vjerojatnost veća.

Radi bolje preglednosti u tablice 5. do 16. su uvršteni samo podatci kod kojih je $\Delta P > 0$.

6.2. REZULTATI PREDVIĐANJA MJESTA METABOLIZMA ZA NEROLIDOL



Slika 7. Formula *trans*-nerolidola korištena u programu

Tablica 5. Rezultat određivanja mjesta metabolizma kod CYP2C19 za nerolidol

CYP2C19		
Broj atoma	Rang	DeltaP
2	1	0,562
5	2	0,508
6	3	0,477
15	4	0,326
16	4	0,326
4	5	0,226
11	6	0,214
8	7	0,178
13	8	0,148
17	9	0,128
18	9	0,128
19	9	0,128
20	9	0,128
21	9	0,128
22	9	0,128
23	9	0,128
24	9	0,128
25	9	0,128
26	9	0,128
27	9	0,128
28	9	0,128
29	9	0,128

30	9	0,128
31	9	0,128
32	9	0,128
33	9	0,128
34	9	0,128
35	9	0,128
36	9	0,128
37	9	0,128
38	9	0,128
39	9	0,128
40	9	0,128
41	9	0,128
42	9	0,128
12	10	0,017

Tablica 6. Rezultat određivanja mjesta metabolizma kod CYP2C9 za nerolidol

CYP2C9		
Broj atoma	Rang	DeltaP
9	1	0,721
8	2	0,626
2	3	0,512
3	4	0,510
14	5	0,368
13	6	0,233
12	7	0,118
17	8	0,090
18	8	0,090
19	8	0,090
20	8	0,090
21	8	0,090
22	8	0,090
23	8	0,090
24	8	0,090
25	8	0,090
26	8	0,090
27	8	0,090
28	8	0,090
29	8	0,090
30	8	0,090
31	8	0,090

32	8	0,090
33	8	0,090
34	8	0,090
35	8	0,090
36	8	0,090
37	8	0,090
38	8	0,090
39	8	0,090
40	8	0,090
41	8	0,090
42	8	0,090
6	9	0,025

Tablica 7. Rezultat određivanja mjesta metabolizma kod CYP2D6 za nerolidol

CYP2D6		
Broj atoma	Rang	DeltaP
5	1	0,275
2	2	0,205
14	3	0,068
9	4	0,038

Tablica 8. Rezultat određivanja mjesta metabolizma kod CYP1A2 za nerolidol

CYP1A2		
Broj atoma	Rang	DeltaP
2	1	0,439
9	2	0,325
14	3	0,266
8	4	0,026

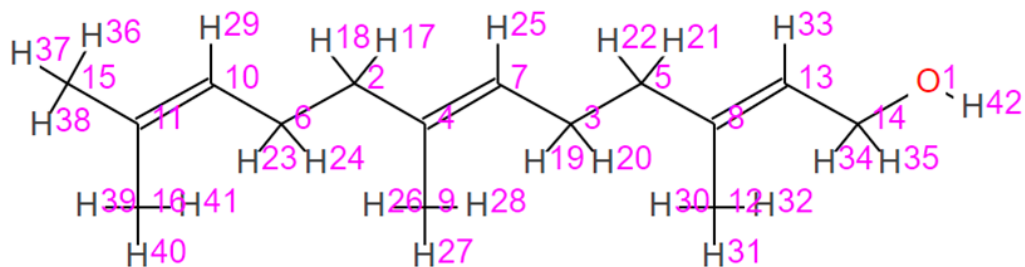
Tablica 9. Rezultat određivanja mjesta metabolizma kod CYP3A4 za nerolidol

CYP3A4		
Broj atoma	Rang	DeltaP
14	1	0,688
9	2	0,650
4	3	0,559
3	4	0,524
2	5	0,464
13	6	0,184
12	7	0,138
5	8	0,021
6	9	0,008

Tablica 10. Rezultat određivanja mjesta metabolizma kod UGT za nerolidol

UGT		
Broj atoma	Rang	DeltaP
1	1	0,934

6.3. REZULTATI PREDVIĐANJA MJESTA METABOLIZMA ZA FARNEZOL



Slika 8. Formula *trans*-farnezoła korištena u programu

Tablica 11. Rezultat određivanja mjesta metabolizma kod CYP2C9 za farnezoł

CYP2C9					
Broj atoma	Rang	DeltaP			
14	1	0,559	29	3	0,192
11	2	0,308	30	3	0,192
17	3	0,192	31	3	0,192
18	3	0,192	32	3	0,192
19	3	0,192	33	3	0,192
20	3	0,192	34	3	0,192
21	3	0,192	35	3	0,192
22	3	0,192	36	3	0,192
23	3	0,192	37	3	0,192
24	3	0,192	38	3	0,192
25	3	0,192	39	3	0,192
26	3	0,192	40	3	0,192
27	3	0,192	41	3	0,192
28	3	0,192	42	3	0,192
			10	4	0,183
			4	5	0,101

Tablica 12. Rezultat određivanja mjesta metabolizma kod CYP2C19 za farnezol

CYP2C19		
Broj atoma	Rang	DeltaP
14	1	0,650
13	2	0,586
8	3	0,458
4	4	0,415
7	5	0,384
15	6	0,287
16	6	0,287
12	7	0,222
9	8	0,109
11	9	0,076
17	10	0,021
18	10	0,021
19	10	0,021
20	10	0,021
21	10	0,021
22	10	0,021
23	10	0,021
24	10	0,021
25	10	0,021
26	10	0,021
27	10	0,021
28	10	0,021

29	10	0,021
30	10	0,021
31	10	0,021
32	10	0,021
33	10	0,021
34	10	0,021
35	10	0,021
36	10	0,021
37	10	0,021
38	10	0,021
39	10	0,021
40	10	0,021
41	10	0,021
42	10	0,021

Tablica 13. Rezultat određivanja mjesta metabolizma kod CYP3A4 za farnezol

CYP3A4		
Broj atoma	Rang	DeltaP
14	1	0,894
11	2	0,120
10	3	0,060

Tablica 14. Rezultat određivanja mjesta metabolizma kod CYP2D6 za farnezol

CYP2D6		
Broj atoma	Rang	DeltaP
13	1	0,353
14	2	0,241
7	3	0,133

Tablica 15. Rezultat određivanja mjesta metabolizma kod CYP1A2 za farnezol

CYP1A2		
Broj atoma	Rang	DeltaP
14	1	0,936

Tablica 16. Rezultat određivanja mjesta metabolizma kod UGT za farnezo

UGT		
Broj atoma	Rang	DeltaP
1	1	0,910

7. PREDVIĐANJE MJESTA BIOTRANSFORMACIJE POMOĆU PROGRAMA RA (Reacting atom)

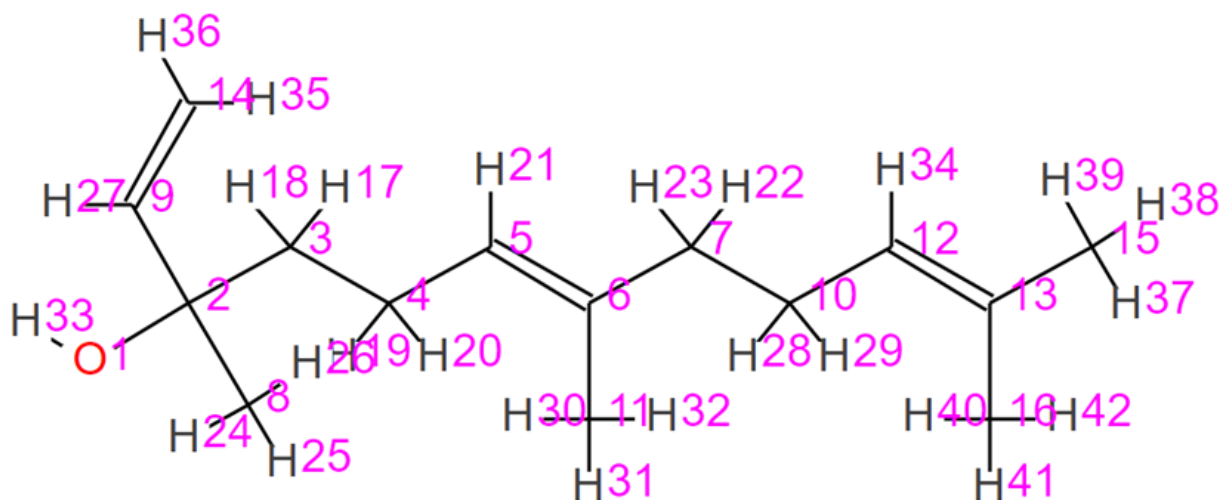
7.1. POSTUPAK ODREĐIVANJA

Kao i kod određivanja mjesta biotransformacija sa internetske stranici PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) preuzeta je 2D struktura *trans*-nerolido i *trans*-farnezola u (sdf. formatu). Ti podatci su prebačeni u program RA koji je također besplatno dostupan na internetu (<http://www.way2drug.com/RA/>).

Program prvo računa vjerojatnost da je promatrana molekula aktivna za jednu od devet mogućih reakcija, odnosno dali se reakcija uopće može odviti na molekuli (Pa). Uz to računa vjerojatnost da je molekula neaktivna, odnosno da se reakcija ne odvija (Pi). Nakon toga smo programu zadali da za svaku reakciju kod koje je $P_a > P_i$ (da se smanji količina podataka male vjerojatnosti) računa vjerojatnost da se ta reakcija odvija na određenom atomu (Pt) i vjerojatnost da se ne odvija (Pf). Na kraju kao i kod programa

SOMP računa se deltaP (Pt-Pf). Kao i kod programa SOMP u tablice od 18. do 21. i od 23. do 27. su se radi bolje preglednosti stavljali samo rezultati kod kojih je deltaP>0.

7.2. MJESTO BIOTRANSFORMACIJE NEROLIDOLA



Slika 7. Formula *trans*-nerolidola korištena u programu

Tablica 17. Rezultat određivanja vrste biotransformacijske reakcije za nerolidol

Pa	Pi	Reakcija
0.793	0.022	C-Oksidacija
0.721	0.005	Epoksidacija
0.538	0.093	Alifartska hidroksilacija
0.442	0.071	HIdrogenacija

Tablica 18. Rezultat određivanja atoma na kojem je moguća C-oksidacija za nerolidol

C-Oksidacija		
Broj atoma	Rang	DeltaP
2	1	0.285
4	2	0.135
10	2	0.135
7	3	0.122
14	4	0.080
17	5	0.057
18	5	0.057
19	5	0.057
20	5	0.057
21	5	0.057
22	5	0.057
23	5	0.057
24	5	0.057
25	5	0.057
26	5	0.057
27	5	0.057

28	5	0.057
29	5	0.057
30	5	0.057
31	5	0.057
32	5	0.057
33	5	0.057
34	5	0.057
35	5	0.057
36	5	0.057
37	5	0.057
38	5	0.057
39	5	0.057
40	5	0.057
41	5	0.057
42	5	0.057
11	6	0.047
3	7	0.039
5	8	0.006
12	8	0.006

Tablica 19. Rezultat određivanja atoma na kojem je moguća epoksidacija za nerolidol

Epoksidacija		
Broj atoma	Rang	DeltaP
9	1	0.797
14	2	0.726
6	3	0.525
13	4	0.472
12	5	0.455
5	6	0.416
2	7	0.199

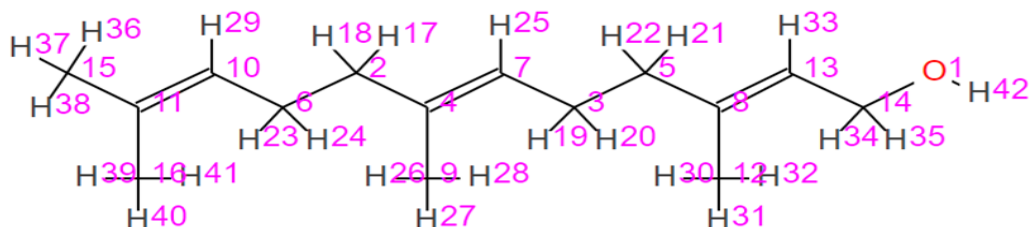
Tablica 20. Rezultat određivanja atoma na kojem je moguća alifatska hidroksilacija za nerolidol

Alifatska hidroksilacija		
Broj atoma	Rang	DeltaP
3	1	0.787
4	2	0.470
7	3	0.369
2	4	0.288
11	5	0.207
8	6	0.060
15	7	0.027
16	7	0.027

Tablica 21. Rezultat određivanja atoma na kojem je moguća hidrogenacija za nerolidol

Hidrogenacija		
Broj atoma	Rang	DeltaP
9	1	0.575
6	2	0.498
2	3	0.468
14	4	0.434
5	5	0.369
12	6	0.245
13	7	0.078

7.3. MJESTO BIOTRANSFORMACIJE FARNEZOLA



Slika 8. Formula *trans*-farnezola u stavljena u program

Tablica 22. Rezultat određivanja vrste biotransformacijske reakcije za farnesol

Pa	Pi	Reakcija
0.858	0.013	C-Oksidacija
0.628	0.009	Epoksidacija
0.477	0.061	Hidrogenacija
0.321	0.143	O-Glukuronidacija
0.294	0.230	Alifatska hidrosilacija

Tablica 23. Rezultat određivanja atoma na kojem je moguća C-oksidacija za farnezol

C-Oksidacija		
Broj atoma	Rang	DeltaP
14	1	0.903
3	2	0.039
6	2	0.039
2	3	0.020
5	3	0.020

Tablica 24. Rezultat određivanja atoma na kojem je moguća epoksidacija za farnezol

Epoksidacija		
Broj atoma	Rang	DeltaP
4	1	0.510
11	2	0.480
10	3	0.451
7	4	0.435
8	5	0.430
13	6	0.361

Tablica 25. Rezultat određivanja atoma na kojem je moguća hidrogenacija za farnezol

Hidrogenacija		
Broj atoma	Rang	DeltaP
13	1	0.748
8	2	0.647
4	3	0.584
14	4	0.532
7	5	0.518
10	6	0.396
11	7	0.288
3	8	0.148
6	9	0.044

Tablica 26. Rezultat određivanja atoma na kojem je moguća Glukuronidacija za farnezol

O-Glukuronidacija		
Broj atoma	Rang	DeltaP
1	1	0.971

Tablica 27. Rezultat određivanja atoma na kojem je moguća alifatska hidroksilacija za farnezol

Alifatska hidroksilacija		
Broj atoma	Rang	DeltaP
2	1	0.542
5	2	0.413
9	3	0.373
12	4	0.280
15	5	0.195
16	5	0.195
8	6	0.088
3	7	0.084

8. ZAKLJUČAK

Predviđanja programa SOMP za nerolidol pokazala su veliku vjerojatnost da je kisikov atom nerolidola mjesto metabolizma za UDP-glukuronil transferazu ($\Delta P = 0.934$).

Kod izoenzima CYP2C19, CYP2C9 i CYP3A4 nalazimo nešto veću vjerojatnost ($\Delta P > 0.5$) da su njihova mjesta metabolizma C atomi u neposrednoj blizini kisikova atoma. Za izoenzime CYP1A2 i CYP2D6 ne nalazimo veću vjerojatnost postojanja mjesta metabolizma ($\Delta P < 0.5$).

Za farnezo SOMP predviđa da je, kao i kod nerolidola, velika vjerojatnost da je kisikov atom mjesto metabolizma za UDP-glukuronil transferazu ($\Delta P = 0.910$).

Program predviđa, uz nešto veću vjerojatnost ($\Delta P > 0.5$), da za CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4 i CYP1A2 jedino C atom na koji je vezan kisik može biti mjesto metabolizma, dok za CYP2D6 nema veće vjerojatnosti ($\Delta P < 0.5$) za niti jedan atom.

Program RA predviđa da bi se na molekuli nerolidola mogle odvijati sljedeće reakcije biotransformacije ($P_a > P_i$): C-oksidacija, epoksidacija, alifatska hidroksilacija i hidrogenacija. Program predviđa epoksidaciju i hidrogenaciju na C atomima s dvostrukim vezama, a veću vjerojatnost imaju atomi bliže C atomu kisika.

Veća vjerojatnost alifatske hidroksilacije je jedino na C atomu neposredno uz C atom na koji je vezan kisik ($\Delta P = 0.787$).

Iako je najveća vjerojatnost C-oksidacije na molekuli nerolidola, za niti jedan atom u molekuli nema veće vjerojatnosti da se ona odvija ($\Delta P < 0.5$). Ovaj problem se javlja zato što program odvojeno obrađuje ova dva predviđanja.

Na molekuli farnezola RA predviđa sljedeće reakcije biotransformacije ($P_a > P_i$): C-oksidaciju, epoksidaciju, hidrogenaciju, O-glukuronidaciju, alifatsku hidroksilaciju. Velika je vjerojatnost C-oksidacije na C atomu za koji je vezan kisik ($\Delta P = 0.903$). Epoksidacija i hidrogenacija su moguće jedino na C atomima s dvostrukom vezom i C atomu na koji je vezan kisik, a na kisikovu atomu je velika vjerojatnost O-glukuronidacije ($\Delta P = 0.971$).

Ovi podaci nisu dovoljno precizni da bi predložili metabolički put nerolidola i farnezola u organizmu. Međutim oni pružaju bolji uvid u reakcije koje bi se mogle odvijati te mogu pomoći pri danjim istraživanjima.

LITERATURA

1. Alavijeh, M. S., Chishty, M., Qaiser, M. Z., & Palmer, A. M. Drug metabolism and pharmacokinetics, the blood-brain barrier, and central nervous system drug. *NeuroRx*, 2005 Oct, 2(4): 554–571.
2. <https://www.cambridgemedchemconsulting.com/resources/ADME/> , (15.srpanj 2020.)
3. <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/klinicka-farmakologija/farmakokinetika/>, (15.srpanj 2020.)
4. Rudik, A. V., Dmitriev, A. V., Lagunin, A. A., Filimonov, D. A., & Poroikov, V. V. Metabolism Site Prediction Based on Xenobiotic Structural Formulas and PASS Prediction Algorithm. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2014, 54(2), 498–507.
5. Kirchmair, J., Williamson, M. J., Tyzack, J. D., Tan, L., Bond, P. J., Bender, A., Glen, R. C. Computational prediction of metabolism: sites, products, SAR, P450 enzyme dynamics, and mechanisms. *J. Chem. Inf. Model.* 2012, 52, 617–648
6. Masereeuw, R., & Russel, F. G. M. (2001). Mechanisms and clinical implications of renal drug excretion*. *Drug Metabolism Reviews*, 2001, 33(3-4), 299–351.
7. <https://bs.wikipedia.org/wiki/Izopren> (20.kolovoz 2020.)
8. Chappell, J., & Coates, R. M. (2010). Sesquiterpenes. *Comprehensive Natural Products II 1st Edition*. Elsevier, 2010.
9. Weng-Keong Chan, Loh Teng-Hern Tan, Kok-Gan Chan, Learn-Han Lee and BeyHing Goh, Nerolidol: A Sesquiterpene Alcohol with Multi-Faced Pharmacological and Biological Activities. *Molecules*, 2016, 21(5),529.
10. Wang, C., Yoon, S.-H., Shah, A. A., Chung, Y.-R., Kim, J.-Y., Choi, E.-S. Kim, S.-W. Farnesol production from *Escherichia coli* by harnessing the exogenous mevalonate pathway. *Biotechnology and Bioengineering*, 2010, 107(3), 421-429
11. De Araújo Delmondes, G., Bezerra, D. S., de Queiroz Dias, D., de Souza Borges, A., Araújo, I. M., Lins da Cunha, G., ... Kerntopf, M. R. Toxicological and pharmacologic effects of farnesol (C₁₅H₂₆O): A descriptive systematic review. *Food and Chemical Toxicology : an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 25 Apr 2019, 129:169-200

12. Jung, Y., Hwang, S., Sethi, G., Fan, L., Arfuso, F., & Ahn, K. (2018). Potential Anti-Inflammatory and Anti-Cancer Properties of Farnesol. *Molecules*. 2018 Nov, 23(11), 2827.
13. Rudik, A. V., Dmitriev, A. V., Lagunin, A. A., Filimonov, D. A., & Poroikov, V. V. (2016). Prediction of reacting atoms for the major biotransformation reactions of organic xenobiotics. *Journal of Cheminformatics*. 2016, 8(1), 68
14. Zheng, M., Luo, X., Shen, Q., Wang, Y., Du, Y., Zhu, W., Jiang, H. Site of metabolism prediction for six biotransformations mediated by cytochromes P450. *Bioinformatics* 2009, 25, 1251–1258
15. <http://www.way2drug.com/About.php> (23. kolovoz 2020.)
16. <http://www.way2drug.com/PASSOnline/> (23. kolovoz 2020.)
17. <http://www.way2drug.com/Projects.php> (23. kolovoz 2020.)
18. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nerolidol> (03. rujan 2020.)
19. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Farnesol> (03.rujan 2020.)
20. <http://www.way2drug.com/SOMP/> (03. rujan 2020.)
21. <http://www.way2drug.com/RA/> (03. rujan 2020.)