Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Інформаційні технології в дослідженнях з квантової фармакології

Т.Ю. Небесна – асп. каф. фармакології з курсом клінічної фармакології

Науковий керівник: І.С. Чекман, член-кор. НАН і АМН України,

засл. діяч науки і техніки України, д.м.н., проф., завідувач кафедри фармакології з курсом клінічної фармакології Національного медичного університету

імені О.О. Богомольця

- **Квантова фармакологія:**

- розділ науки, в якому знання електронної структури препаратів використовується для de novo дизайну лікарських засобів, вивчення зв’язку між структурою та біологічною активністю речовин та встановлення фармакофорів і пояснення механізму дії медикаментів

– W.G. Richards, 1977.
(Oxford University, England).

Перші наукові роботи в галузі квантової фармакології

- **Нітро-гетероциклічні лікарські засоби, що активуються в стані гіпоксії, для радіо- та хіміотерапії раку.**
  Adams G. E.; Stratford I. ***J. Biochemical Pharmacology*** *(1986)*

- **Розрахунок відносної зміни вільної енергії зв'язування при утворенні комплексу білок-інгібітор.**
  Bash P.A., Singh U.C., Brown F.K., Langridge R., Kollman P.A. ***Science*** *(1987)*

- **Електростатичний потенціал та зв'язування ліків з ДНК.**
  Burridge J.M.; Quarendon P.; Reynolds C. A.; Goodford P.J. ***Journal of Molecular Graphics*** *(1987)*

- **Розробка специфічних інгібіторів дигідрофолатредуктази.**
  Reynolds C.A., Richards W.G., Goodford P.J. ***Anticancer Drug Des.*** *(1987)*

Фізико-хімічні механізми дії агапурину (пентоксифіліну).
Chekman I.S., Bobkov V.M., Svintitsky A.S., Bondur V.V., Zagorodny M.I.
Fundamental & Clinical Pharmacology *(1999)*

- **Молекулярні механізми дії капотену та моноприлу.**
  Chekman I.S., Bobkov V.M., Svintitsky A.S., Bondur V.V., Zagorodny M.I.
  Fundamental & Clinical Pharmacology *(1999)*

Квантова фармакологія

На кафедрі фармакології з курсом клінічної фармакології НМУ ім. О.О.Богомольця
дослідження з квантової фармакології ведуться з 1998 р.

Вивчені квантово-фармакологічні властивості лікарськіихзасобів:

- ***Антигіпертензивні (каптоприл, лізиноприл, фозиноприл, метопролол, атенолол, пропранолол, карведілол, празозин, доксазозин);***
- ***Засоби для лікування гіперплазії простати (тамсулозин, теразозин, альфузозин)***
- ***Адреноміметики (адреналін, мезатон)***
- ***Протизапальні (анальгін, ацетилсаліцилова кислота);***
- ***Експекторанти – відхаркувальні (ацетилцистеїн)***
- ***Гіполіпідемічні (уфібрат)***
- ***Метаболітні препарати (кверцетин, таурин, тіотриазолін, яктон).***

Квантова фармакологія

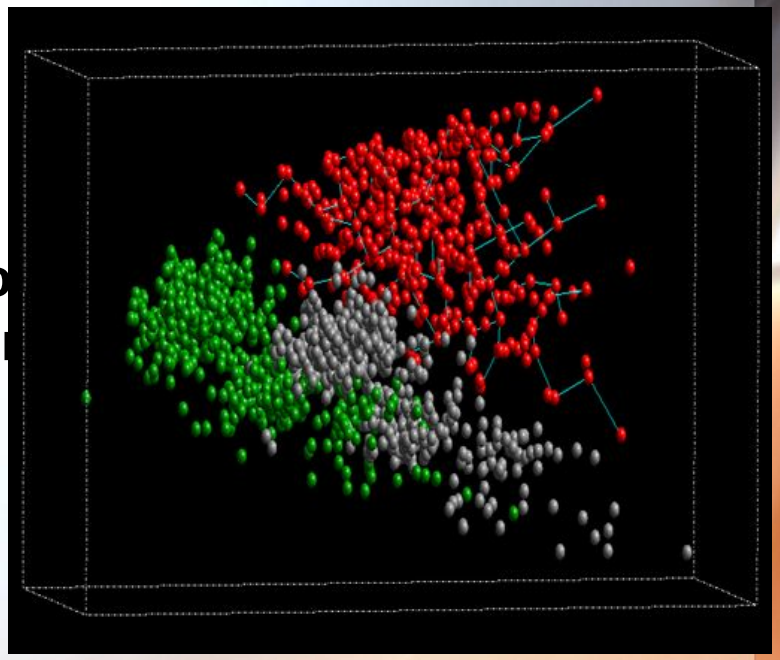
Результати досліджень квантово-фармакологічних лікарських засобів, проведених на кафедрі фармакології з курсом клінічної фармакології НМУ імені О.О. Богомольця надруковані в таких журналах:

- ***“Доповіді НАН України”***
- ***“Лікарська справа”***
- ***“Вісник Національного медичного університету імені О.О. Богомольця”***
- ***“Fundamental & Clinical Pharmacology”***

Зроблені доповіді на таких наукових форумах:

- ***Конгреси фармакологів України: Дніпропетровськ (2002), Одеса (2006)***
- ***Конгреси кардіологів України: Київ (2003, 2007)***
- ***Конгрес “Человек и лекарство” – Москва, (2000, 2005, 2007)***
- ***2nd European congress of pharmacology – Budapest, Hungary (1999)***
- ***VI International congress of medical sciences for students and young doctors – Sofia, Bulgaria (2007)***

Основні напрямки досліджень з квантової фармакології



- пояснення механізму дії лікарських засобів.
- вивчення зв’язку між структурою та біологічною активністю речови (QSAR).
- встановлення фармакофорів – необхідного просторового розташування молекулярних фрагментів, що забезпечують структуру та фізико-хімічні властивості, які в свою чергу визначають біологічну активність речовини.
- de novo дизайн лікарських засобів – створення нових лікарських засобів, спираючись на відому структуру молекули-мішені цього засобу в організмі людини.

Квантова фармакологія – наука нового покоління

Сучасне визначення квантової фармакології

- наука, яка використовує методи комп’ютерного моделювання та принципи теоретичної хімії для встановлення молекулярної структури ліків та механізмів їх взаємодії з рецепторами та іншими біомолекулами організму

Завдання квантової фармакології:

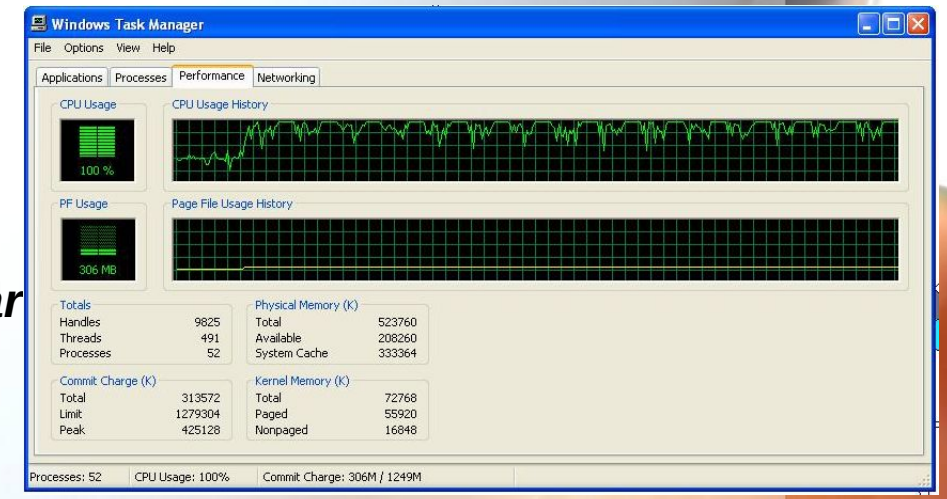
- Дослідження структури окремих лікарських засобів
- Дослідження залежності “структура – активність” (QSAR)
- Дослідження білок-лігандних взаємодій
- Дослідження реакцій, в які вступають лікарські засоби в організмі людини

Дослідження структури окремих лікарських засобів

1. Методи:

-**<u>напівемпіричні розрахунки</u>:**
методи AM1, PM3, ZINDO
(програми ***MOPAC, HyperChem***)

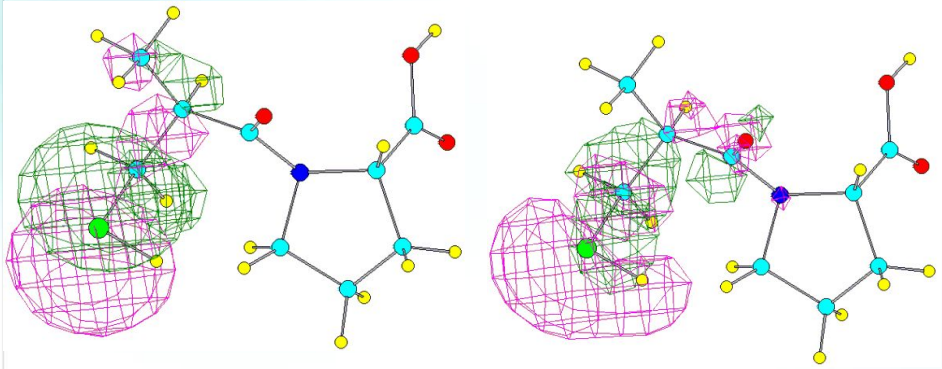
- **<u>неемпіричні (ab initio) розрахунки</u>:**
програми ***Gaussian, GAMESS, Jaguar***
<u>врахування впливу розчинника</u>
вода, бензол, ефір, ліпіди, етиловий спирт та ін ***(GAMESS, NWCHEM).***



2. Досліджувані показники:

- відстані між атомами, торсійні кути, заряди на атомах;
- загальна енергії напруги, енергія зв’язування, енергія ізольованих атомів, електронна енергія, енергія між’ядерної взаємодії, теплота утворення;
- значення дипольного моменту;
- локалізація та енергії вищої зайнятої (ВЗМО) і нижчої вакантної (НВМО) молекулярних орбіталей;
- абсолютна електронегативність (χ), абсолютна жорсткість (ή);

Дослідження жорсткості молекули інгібітора АПФ каптоприлу



Енергія ВЗМО, еВ	**-9,558166**
Енергія НВМО, еВ	**-0,013586**
Абсолютна жорсткість (ή), еВ	**4,772290**

Абсолютна жорсткість (ή) визначена за формулою:

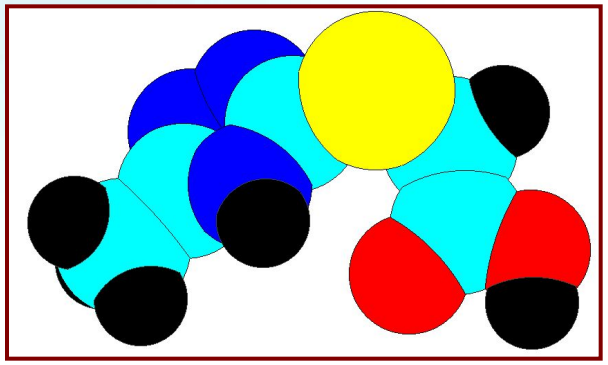
ή = ½ (Енвмо – Евзмо)

Розрахунок методом PM3

Молекула каптоприлу, відповідно до її жорсткості, відноситься до м’яких реагентів, тому особливо активно ця сполука буде реагувати з м’якими речовинами лужного характеру – лужними амінокислотами, ненасиченими і ароматичними сполуками.

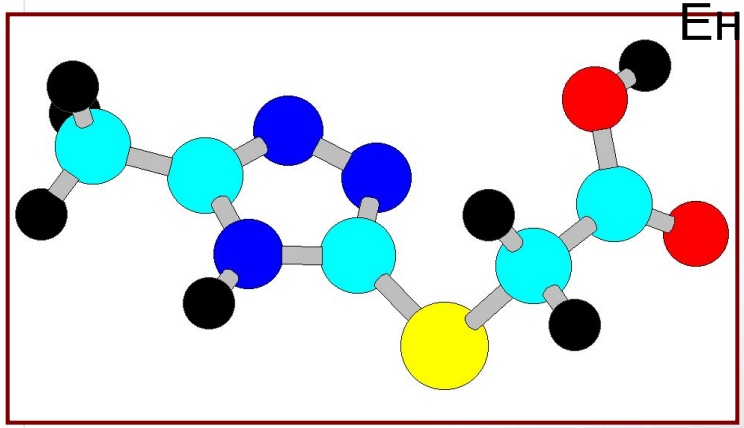
Цей висновок підтверджується даними рентгеноструктурного аналізу – в центрі зв'язування АПФ каптоприл взаємодіє із залишками гістидину.

Конформаційний аналіз молекули тіотриазоліну

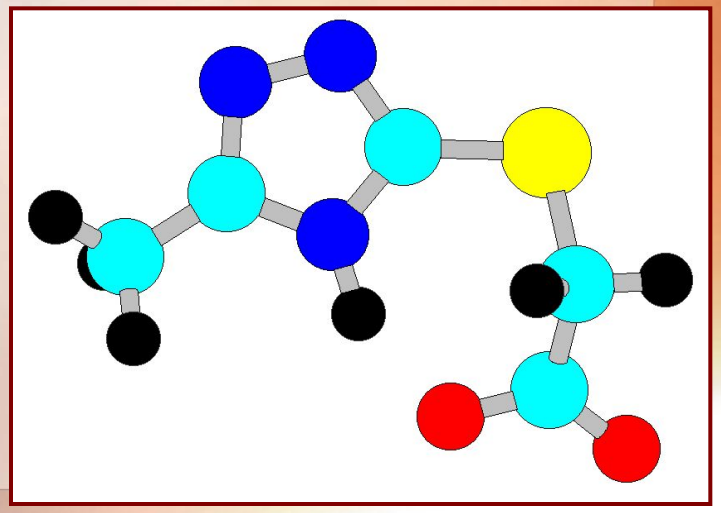


Дві конформації молекули тіотриазоліну:

Теплота утворення = -185,715 кДж/моль,
Теплота утворення перехідного стану = -165,396 кДж/моль,
Енергія активації інверсії = 20,32 кДж/моль



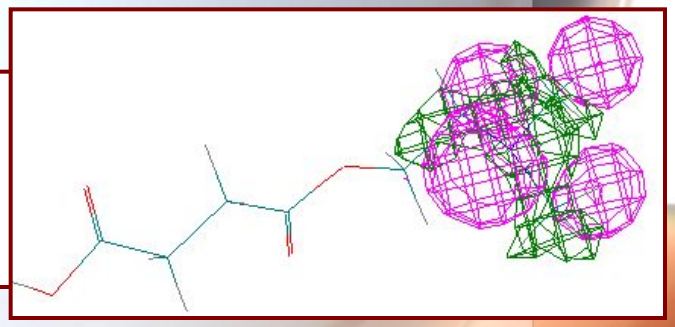
Розрахунок методом AM1

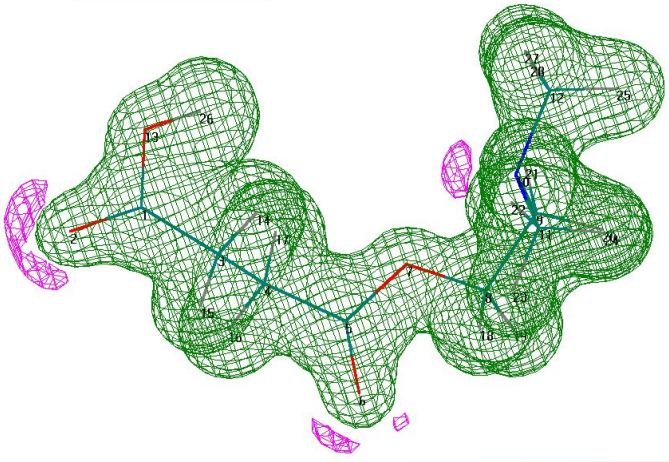


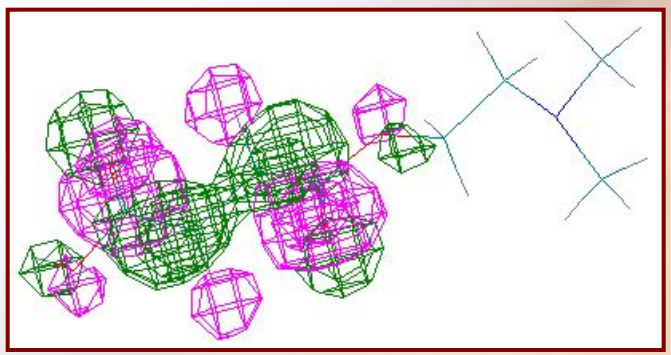
Аніонна форма тіотриазоліну:
Теплота утворення = - 379,224 кДж/моль

Дослідження реакційних центрів молекули моно[(2-диметиламіно)етилового ефіру] янтарної кислоти

Електростатичний потенціал навколо молекули ДМЕЯК – тривимірне зображення (метод PM3)







Локалізація ВЗМО
E = -9,40209 еВ

Локалізація НВМО
E = 4,522231 еВ

Позитивна енергія НВМО зумовлює нуклеофільні властивості молекули, що пояснює відновлювальну властивість дослідженої молекули.

Області з позитивними значеннями ЕП, тобто місця, де може відбуватися взаємодія сполуки з позитивно зарядженими фрагментами інших молекул або з протонами (місця протонування), чітко локалізовані на кожній з неподілених електронних пар (НЕП) кисню карбонільних С=О груп та атомі азоту.

Вплив сольватації на властивості біомолекул

СОЛЬВАТАЦІЯ - взаємодія молекул розчиненої речовини (або їх асоціатів) з молекулами розчинника, яка приводить до зміни властивостей молекул у розчині (у порівнянні з властивостями газової фази), впливає на всі фізичні і фізико-хімічні процеси, що протікають у розчинах, у т.ч. визначає швидкість реакцій у розчинах і положення рівноваги, а в ряді випадків і їхній механізм.

Використання сольватаційної моделі для розрахунку квантово-фармакологічних параметрів серцевого глікозиду – дигоксину: методи

Сольватаційна модель SM5.42R/HF/6-31G(d)//PM3 (GAMESOL)

ΔGs(R) = ΔGEP + GCDS

ΔGEP = ΔEE + GP

***ΔGEP* – електростатична компонента *ΔGs*,**

ΔEE – енергія деформації молекули

$$G_{CDS} = \sum_k A_k \sigma_k$$

- ***Ak* – доступна поверхня атома *k***
- ***σk* – атомарний поверхневий натяг атома *k* як функція просторової геометрії розчину та набору параметрів розчинника.**

Оптимізація геометрії у розчині дає рівноважну геометрію розчинених молекул *R(l)*:

***ΔGs = G(l,R(l)) - G(g,R(g))=E(l,R(l)) + G(R(l)) + G(R(l)) - E(g,R(g))*,**

де індекси *l* та *g* відповідають рідкій та газовій фазі, а *R*- рівноважна геометрія системи.

Використання сольватаційної моделі для розрахунку квантово-фармакологічних параметрів серцевого глікозиду – дигоксину: висновки

Вільна енергія гідратації дигоксина становить -40,4 ккал/моль

Значення цього параметра вказує на гарну розчинність дигоксина у воді.

При вивченні взаємодії дигоксину з будь-якими молекулами або активними центрами у водному середовищі необхідно враховувати ефекти сольватації, оскільки енергія взаємодії дигоксина з молекулами води може перевищувати енергію взаємодій з іншими, розчиненими сполуками, тобто утворення відповідних комплексів, особливо одноцентрових, може бути енергетично невигідним.

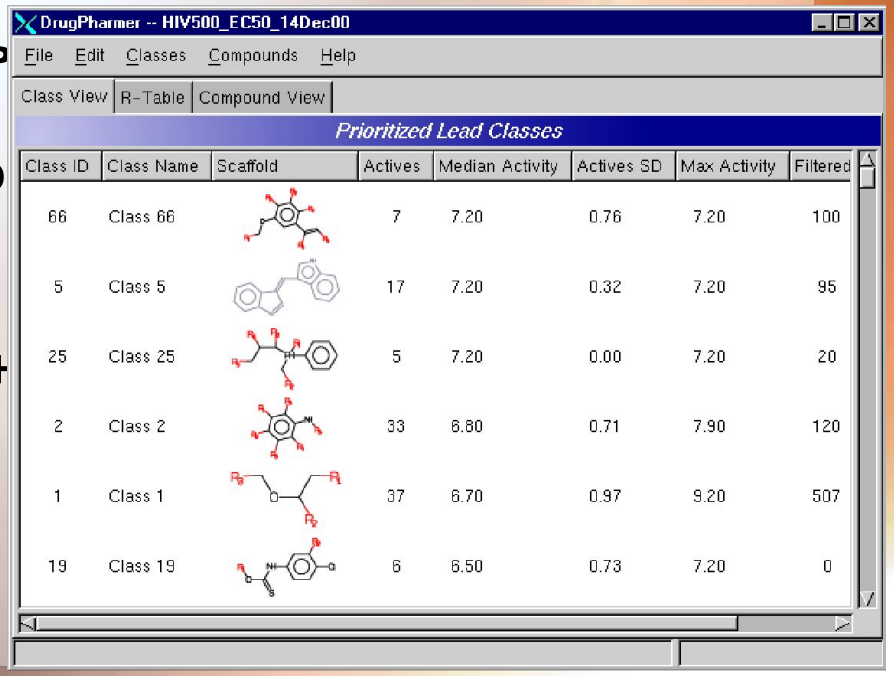
Виходячи зі структури дигоксина й розрахованих параметрів, можна вважати, що тільки багатоцентрові його комплекси з відповідними біоструктурами можуть бути ефективні у водному середовищі.

Quantitative Structure-Activity Relationship

З’ясування залежності між хімічною будовою речовини, їх фізико-хімічними властивостями та біологічною активністю

QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) – один із шляхів до пояснення механізмів дії біологічно активних речовин, підвищення ефективності та зниження
вартості розробки оригінальн

- QSAR вимагає максимально детальної інформації про тривимірну структуру як біологічно активних речовин так і молекул-мішеней людського організму.



Class ID	Class Name	Scaffold	Actives	Median Activity	Actives SD	Max Activity	Filtered
66	Class 66		7	7.20	0.76	7.20	100
5	Class 5		17	7.20	0.32	7.20	95
25	Class 25		5	7.20	0.00	7.20	20
2	Class 2		33	6.80	0.71	7.90	120
1	Class 1		37	6.70	0.97	9.20	507
19	Class 19		6	6.50	0.73	7.20	0

Quantitative Structure-Activity Relationship

Побудова молекули ліганду (2D→ 3D)

↓

Пошук найбільш стабільної конформації досліджуваних речовин
(у водному або газовому середовищі)

MM (молекулярна механіка)
AM1, PM3, ZINDO (напівемпіричний розрахунок)
ab initio (неемпіричний розрахунок)
Програми MOPAC, AMPAC, HyperChem, Gaussian, GAMESS, Jaguar, NWChem, Spartan

↓

Розрахунок молекулярних дескрипторів
Програми DRAGON, Cerius, CODESSA, ChemOffice, HyperChem, TSAR, VOLSURF, QSARIS, Almond, HYBOT

↓

Статистична обробка результатів – побудова QSAR-моделі

↓

Валідація отриманої моделі

Молекулярні дескриптори -

набір незалежних параметрів, які характеризують електронні, структурні, геометричні та інші особливості молекул

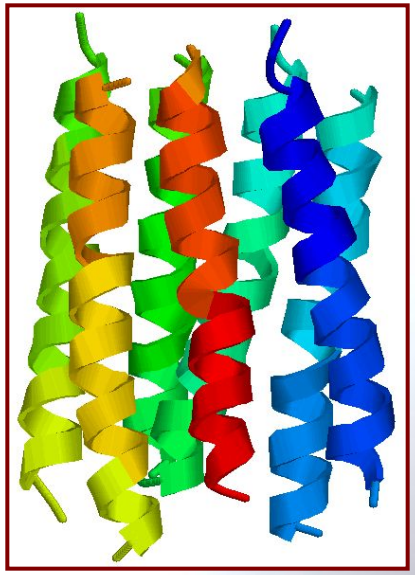
- Елементарні дескриптори – брутто-формула молекули або її атомний склад.
- Електронні дескриптори – набір індексів, що характеризують зарядовий розподіл молекули та її енергію (розраховуються квантово-хімічними методами):

  електронна густина, порядок звязку, індекс вільної валентності, E(HOMO, LUMO), жорсткість, електронегативність, молекулярний дипольний момент, поляризовність та ін.
- Геометричні дескриптори – параметри, які характеризують форму молекул *(індекс Балабана, площа молекулярної поверхні, об'єм, та ін.)*.
- Фізико-хімічні дескриптори описують фізико-хімічні параметри молекулярних систем *(показник ліпофільності, температура кипіння та ін.)*

Альфа-1-А-адренорецептори

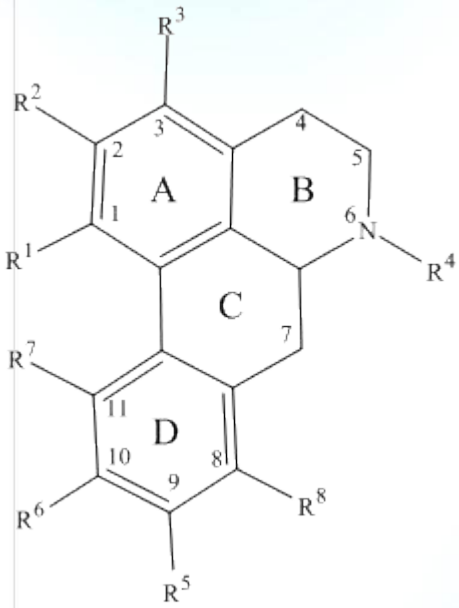
Локалізовані на гладенькій мускулатурі передміхурової залози, шийки сечового міхура і простатичної частини уретри – блокада знижує м'язовий тонус уретри

Структура та передумови селективності до агоністів та антагоністів потребують дослідження



Селективні блокатори – ефективні та безпечні препарати для лікування доброякісної гіперплазії передміхурової залози

Похідні апорфіну, що мають альфа-1А-адреноблокуючу активність



№	pKi	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6	R^7	R^8
1	4,39	H	H	H	H	H	OH	OH	H
2	4,59	H	H	H	CH_3	H	OH	OH	H
3	4,87	H	H	H	C_3H_7	H	OH	OH	H
4	4,7	H	H	H	CH_3	H	OCH_3	OH	H
5	6,55	H	H	H	CH_3	H	O-CH_2-	-O	H
6	7,04	H	H	H	C_3H_7	H	O-CH_2-	-O	H
7	5,31	H	OH	H	CH_3	H	OH	OH	H
8	5,97	O-CH_2-	-O	H	CH_3	H	OCH_3	OH	H
9	5,79	OCH_3	OCH_3	H	CH_3	OCH_3	OCH_3	H	H
10	6,57	OCH_3	OCH_3	Br	CH_3	OCH_3	OCH_3	H	H
11	6,38	OCH_3	OCH_3	Cl	CH_3	OCH_3	OCH_3	H	Cl
12	6,3	OCH_3	OH	H	CH_3	OH	OCH_3	H	H
13	7,12	OCH_3	OH	Br	CH_3	OH	OCH_3	H	H
14	7,2	OCH_3	OH	Cl	CH_3	OH	OCH_3	H	H
15	6,75	OCH_3	OH	I	CH_3	OH	OCH_3	H	H
16	6,89	OCH_3	OH	Br	CH_3	OH	OCH_3	H	Br
17	6,98	OCH_3	OH	Cl	CH_3	OH	OCH_3	H	Cl
18	6,37	OCH_3	OH	H	CH_3	OH	OCH_3	H	NH_2
19	4,98	OCH_3	OH	H	CH_3	OH	OCH_3	H	NO

Розрахунок дескрипторів похідних апорфіну

Проведено оптимізацію геометрії молекул послідовно методом молекулярної механіки ММ+ та напівемпіричним методом PM3.

Серед досліджених показників

- **заряди на атомах;**
- **значення дипольного моменту молекул;**
- **енергії вищої зайнятої (ВЗМО) і нижчої вільної (НВМО) молекулярних орбіталей;**
- **абсолютна жорсткість (ή),**
- **показник ліпофільності;**
- **загальноенергетичні властивості молекул**
- **топологічні дескриптори (індекс Балабана, індекс Вінера, топологічний діаметр, індекс загальної молекулярної зв’язності, площа молекулярної поверхні, об’єм, та ін.)**

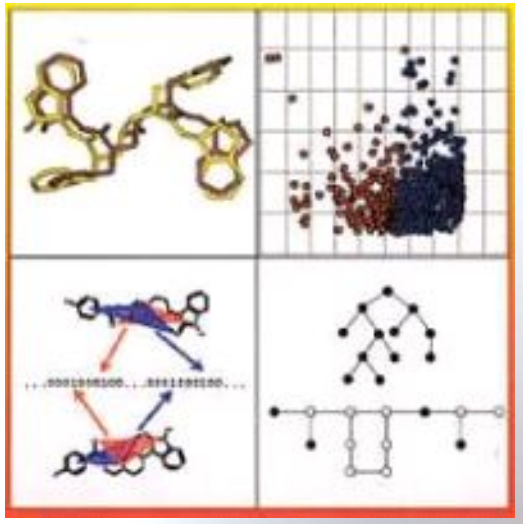
Статистична обробка даних

- **Регресійний аналіз - програмний засіб ПЗ ПРІАМ (Планування, Регресія та Аналіз Моделей).**
- **Аналіз нормальності залишків та побудова статистичних графіків -програма SPSS 13.0 та MS Excel.**
- **З метою одержання стійкого як відносно структури, так і відносно коефіцієнтів, рівняння регресії в процесі аналізу проведено перетворення вихідних даних – ортогоналізація (ПЗ ПРІАМ з використанням ортогональних поліномів Чебишева) та нормування.**
- **Для одержання математичної моделі, яка б адекватно описувала досліджувані взаємозв'язки, були проаналізовані усі ефекти попарних взаємодій лінійних ефектів незалежних змінних.**
- **Усього, на етапі побудови математичної моделі проаналізовано на предмет їх включення в рівняння регресії 98 головних ефектів та 1225 ефектів взаємодій (всього 1323 ефекти).**

Багатофакторна математична модель

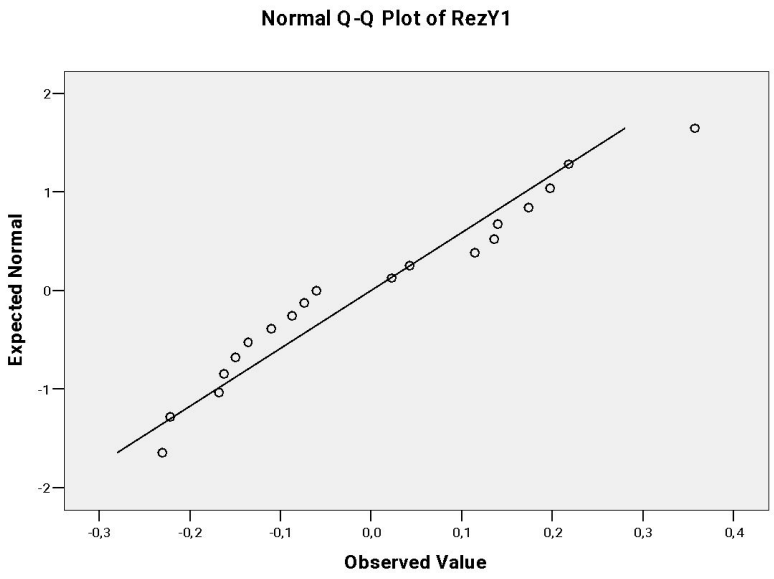
$$\hat{y}_1 = 5{,}9194 - 1{,}1116x_{27} - 1{,}4036x_{34} + 0{,}96176x_{47}x_{48} + 0{,}7666x_{46}x_{50} + 0{,}4375x_{30}$$

x_{27} = 6,38446*(*X*27 +0,0373734);
x_{30} = 5,38746*(*X*30 +0,148487);
x_{34} = 47,4261*(*X*34 +0,0564796);
x_{46} = 0,0636783*(*X*46 – 81,7039);
x_{47} = 0,95*(*X*47 – 9,05263);
x_{48} = 2690,5*(*X*48 – 0,000173929);
x_{50} = 0,00182324*(*X*50 – 1130,53).

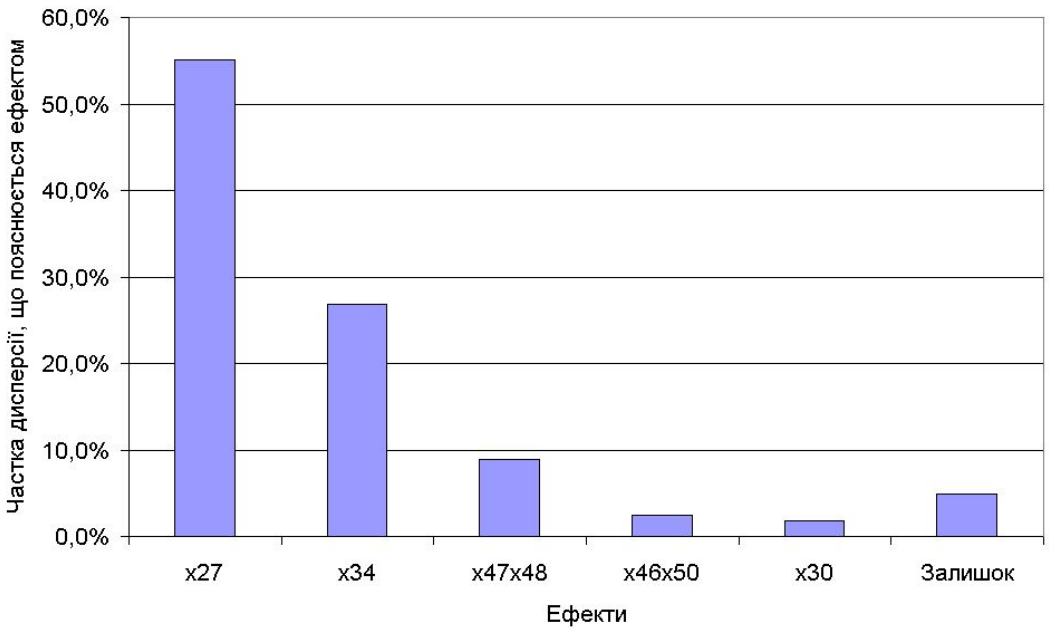


*X*27	Заряд на атомі вуглецю C^{11}
*X*30	Заряд на атомі вуглецю C^{8}
*X*34	Заряд на атомі вуглецю C^{4}
*X*46	Індекс вільної валентності (total valence degree)
*X*47	Топологічний діаметр (topological diameter)
*X*48	Індекс загальної молекулярної зв'язаності (total connectivity)
*X*50	Індекс Вінера
$\hat{y}_1$	a1A (pK_i) (показник зв' язування речовини з альфа-1-А-адренорецептором)

Вплив квантово-хімічних властивостей молекул похідних апорфіну на адреноблокуючу дію



Порівняльний аналіз впливу квантово-хімічних властивостей молекул похідних апорфіну на адреноблокуючу дію даних сполук



Графік “квантіль — квантіль” для перевірки відповідності залишків регресійного аналізу нормальному закону розподілу

Застосування QSAR для створення оригінальних лікарських засобів: пошук нових антиконвульсантів

48 відомих протисудомних засобів → ~760 QSAR моделей → Валідація моделей → 10 найкращих моделей

↓

Скринінг 250000 хімічних сполук → 4334 сполук-лідерів → 50 перехресних сполук-лідерів → Прогнозування активності з урахуванням області застоування QSAR моделей

↓

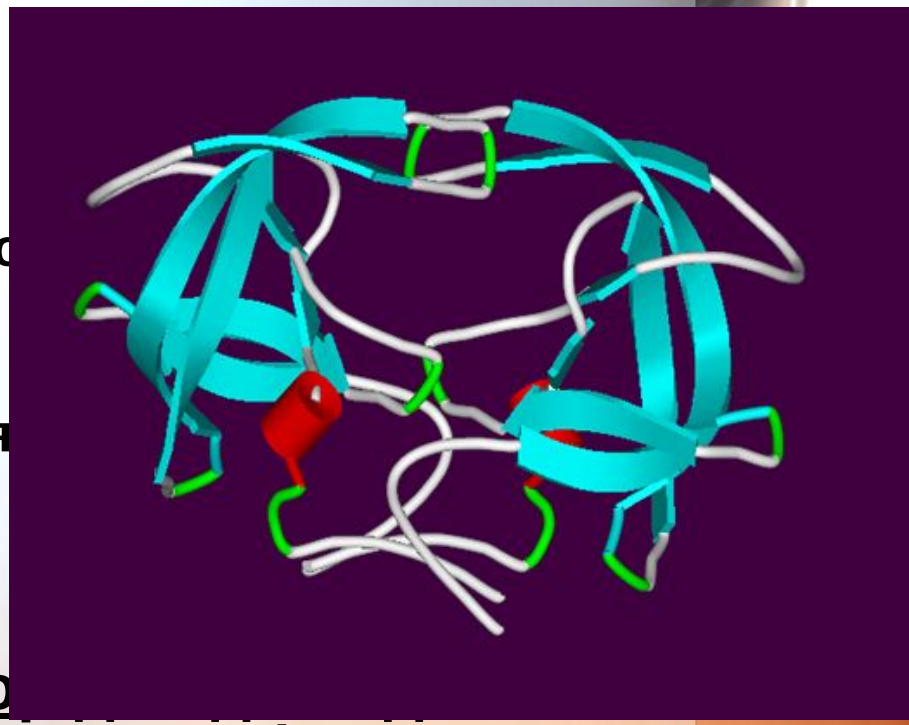
22 сполуки, надані для хімічного аналізу → 9 сполук, відібрані для синтезу → Тестування на біологічних об’єктах → 7 достовірно активних сполук

Tropsha A. Variable selection QSAR modeling, model validation, and virtual screening // An. Rep. Comp. Chem. – 2007. – Vol. 2. – P. 113-168

Концепція дескрипторного фармакофору

- **Сучасні програмні засоби з комп’ютерного моделювання дозволяють розрахувати більше 1000 видів молекулярних дескрипто**

- **Правильний вибір набору дескрипторів – запорука отримання ефективної QSAR моделі**



- **<u>Дескрипторний фармакофо</u> сполук з певним типом фармакологічної активності – набір молекулярних дескрипторів, які найчастіше входять до ефективних QSAR моделей, розроблених при дослідженні різних хімічних груп сполук з цим типом фармакологічної активності.**

Застосування QSAR у токсикології

Використання класичних <u>фізико-хімічних дескрипт</u>

у QSAR–моделях для токсикології дало змогу

прогнозувати такі важливі токсикологічні властив

речовин, як

- **Коефіцієнт проникнення через шкіру та індекс подразнення шкіри для органічних кислот, основ, фенолів та електрофільних органічних сполук**
- **Індекс подразнення ока для нейтральних органічних сполук**

Створені <u>бази даних</u> з інформацією про різні види токсичності речовин та можливістю їх прогнозування

Застосування електронних дескрипторів для QSAR у токсикології

- Прогнозування місця гідроксилювання в ряду похідних фторбензолу цитохромом P450 (дескриптори – електронна густина граничних орбіталей)
- Визначення рівня р-гідроксилювання похідних аніліну цитохромом P450 (дескриптор – енергія вищої занятої молекулярної орбіталі)
- Визначення рівня кон’югації похідних фторнітробензолу з глутатіоном, каталізованого S-трансферазою (дескриптор – енергія нижчої вакантної молекулярної орбіталі)
- Визначення рівня кон’югації двозаміщених похідних 1-хлоро-4-нітробензолу з глутатіоном, каталізованого S-трансферазою (дескриптор – енергія нижчої вакантної молекулярної орбіталі та Ван-дер-Ваальсів об'єм)
- Рівень мутагенності ароматичних та гетероциклічних сполук (дескриптор – енергія нижчої вакантної молекулярної орбіталі)
- Прогнозування гострої токсичності (LD_{50}) для речовин для полярного

Порівняльний аналіз молекулярних полів (Comparative Molecular Field Analysis, coMFA)

Метод, заснований на тому, що взаємодія біологічно активної речовини з мішенню визначається, в першу чергу, нековалентними міжмолекулярними ефектами, які залежать

від просторових особливостей та форми молекул.

- **Мета coMFA – дослідження кореляцій між тривимірними харкктеристиками молекул та їх біологічною активністю.**
- **При CoMFA розрахунках проводиться аналіз набору гомологічних лігандів та виділяються області лігандного каркасу, модифікація яких потенційно призводить до підсилення або зниження активності.**
- **Особливість моделі – дескриптори молекули обчислюються у**

  вигляді тривимірної карти, що описує

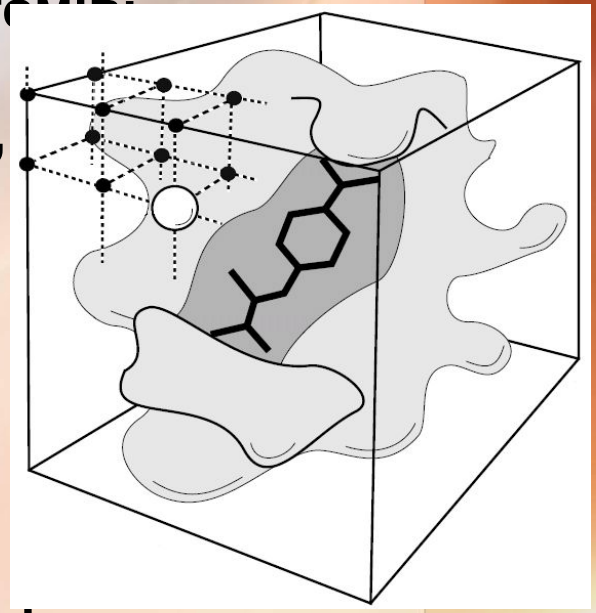
  задану властивість у просторі.

Порівняльний аналіз молекулярних полів (Comparative Molecular Field Analysis, coMFA)

Навколо молекул формується куб, в середині якого задається сітка. Розрахунок амплітуди полів відбувається з використанням пробних атомів, які розміщуються в вузлах сітки.

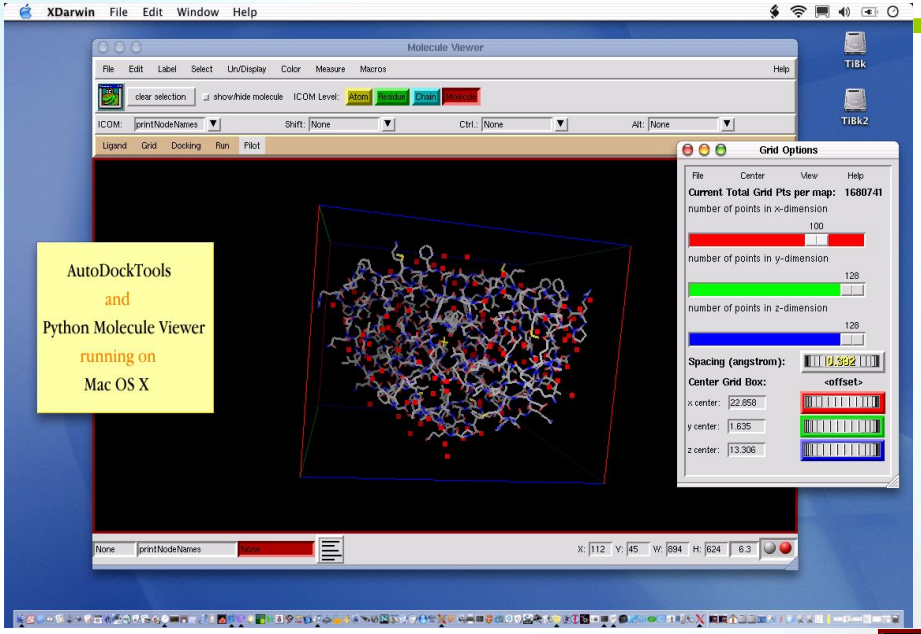
Використовуються наступні типи пробних атомів:

- **атом вуглецю,**
- **позитивно чи негативно заряджений атом,**
- **донор чи акцептор водневого зв'язку,**
- **ліпофільна проба.**



Результатом аналізу є рівняння регресії з тисячами коефіцієнтів, що звязують величину активності зі значеннями амплітуди для полів, розрахованих з використанням пробних атомів.

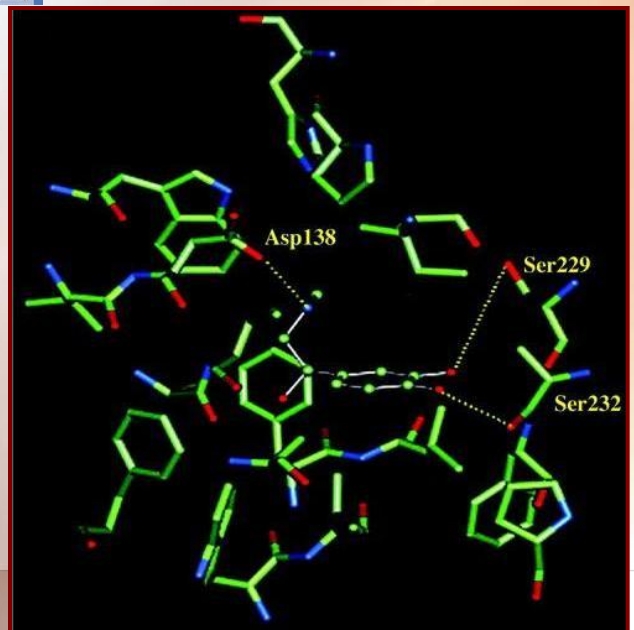
Дослідження білок-лігандних взаємодій



- Молекулярний докінг - віртуальне «прилаштування» ліганда до місця зв’язування в білку (програми DOCK, AutoDOCK, FlexDock, GOLD).

Центр звязування білку в комплексі з лігандом може бути досліджений квантово-фармакологічними методами.

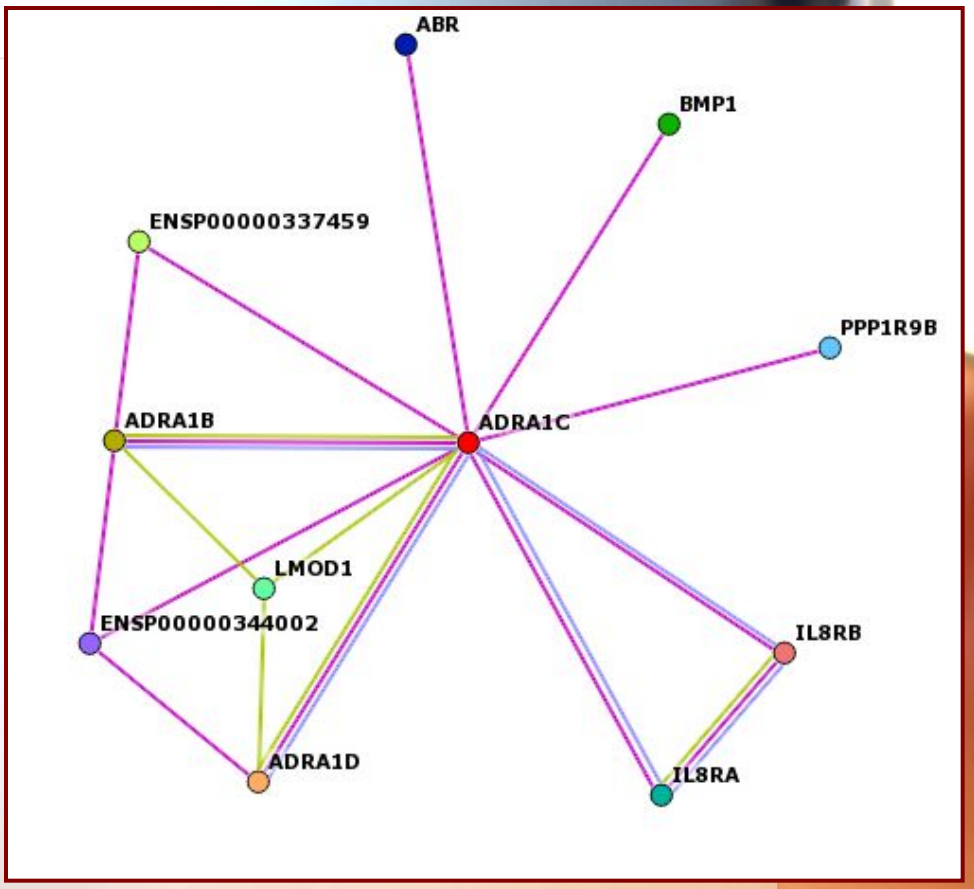
Дослідження активного центру адренорецепторів: взаємодія адреналіну з бета-1-адренорецепторами



Гомологічна карта для альфа-1А-адренорецептора

STRING

http://string.embl.de/



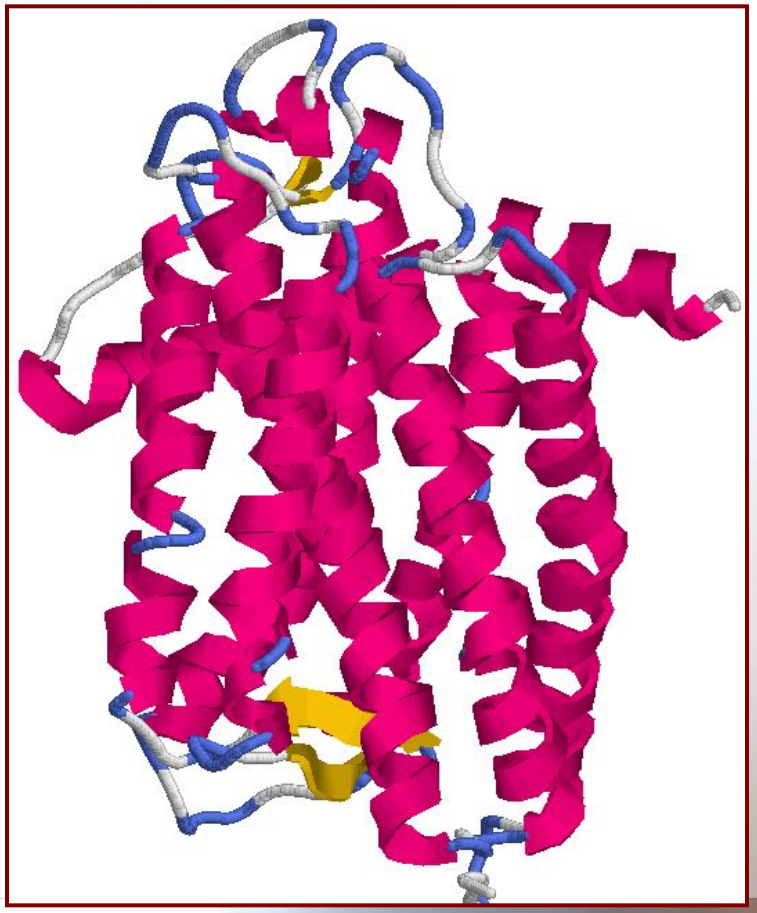
ADRA1C Alpha-1A adrenergic receptor

Predicted Functional Partners:

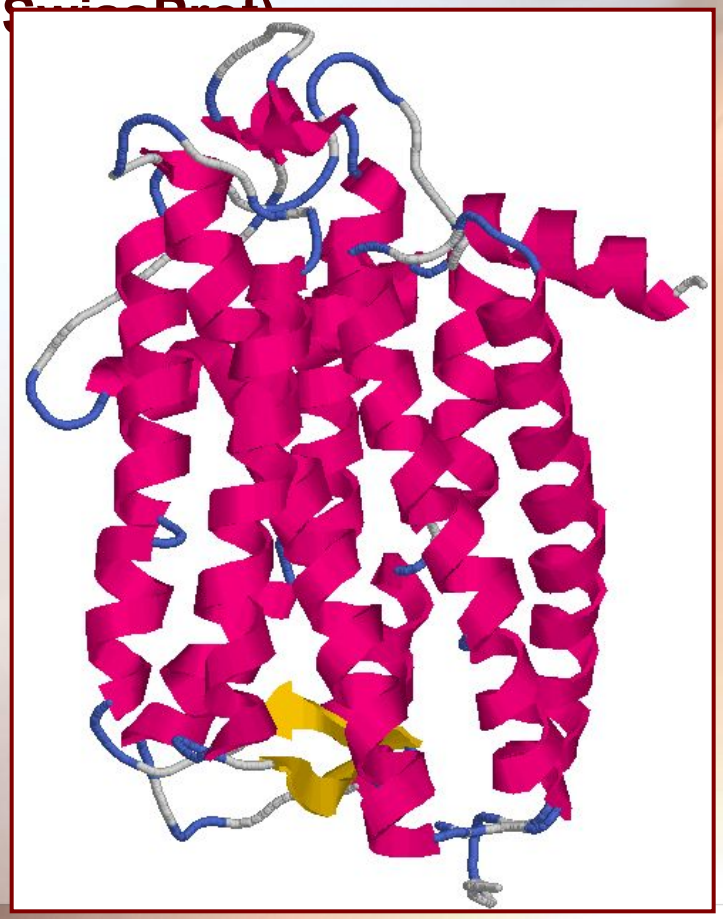
ADRA1D	Alpha-1D adrenergic receptor (Alpha 1D-adrenoceptor)
ADRA1B	Alpha-1B adrenergic receptor (Alpha 1B-adrenoceptor)
ENSP00000337459	Nitric-oxide synthase, brain (EC 1.14.13.39) (NOS type I)
BMP1	Bone morphogenetic protein 1 precursor (EC 3.4.24.19) (BMP-1)
LMOD1	Leiomodin-1 (Leiomodin, muscle form) (64 kDa autoantigen D1)
IL8RA	High affinity interleukin-8 receptor A (IL-8R A) (IL-8 receptor type 1)
PPP1R9B	protein phosphatase 1, regulatory subunit 9B (813 aa)
ABR	Active breakpoint cluster region-related protein (859 aa)
ENSP00000344002	Gamma filamin variant (Fragment) (2623 aa)
IL8RB	High affinity interleukin-8 receptor B (IL-8R B) (CXCR-2)

Альфа-1А-адренорецептор

Теоретична модель, SwissModel

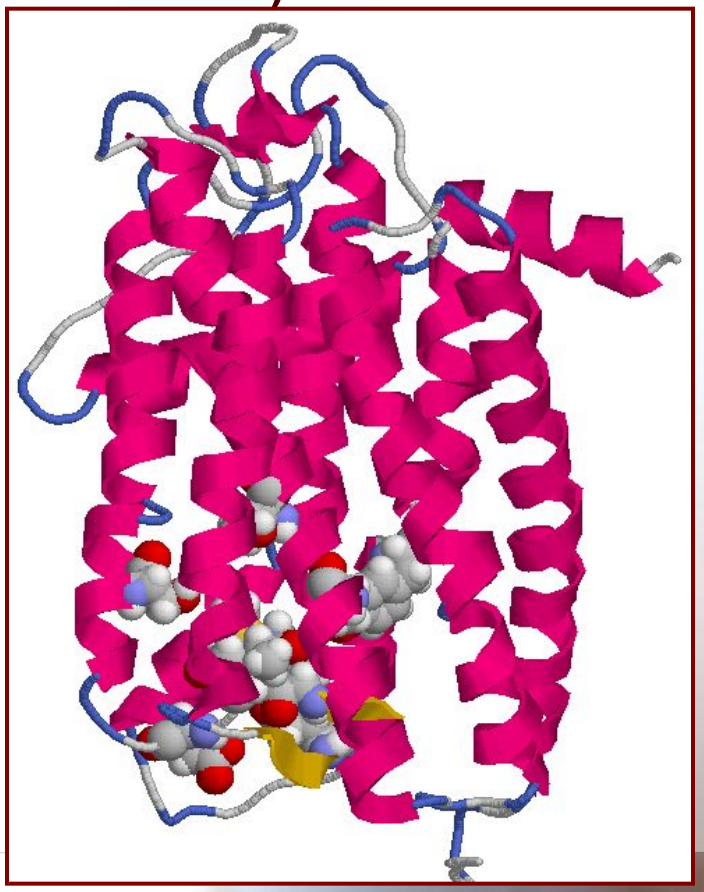


Теоретична модель, Swiss-Model; оптимізована послідовність **після молекулярно-динамічного моделювання (програми SwissProt)**

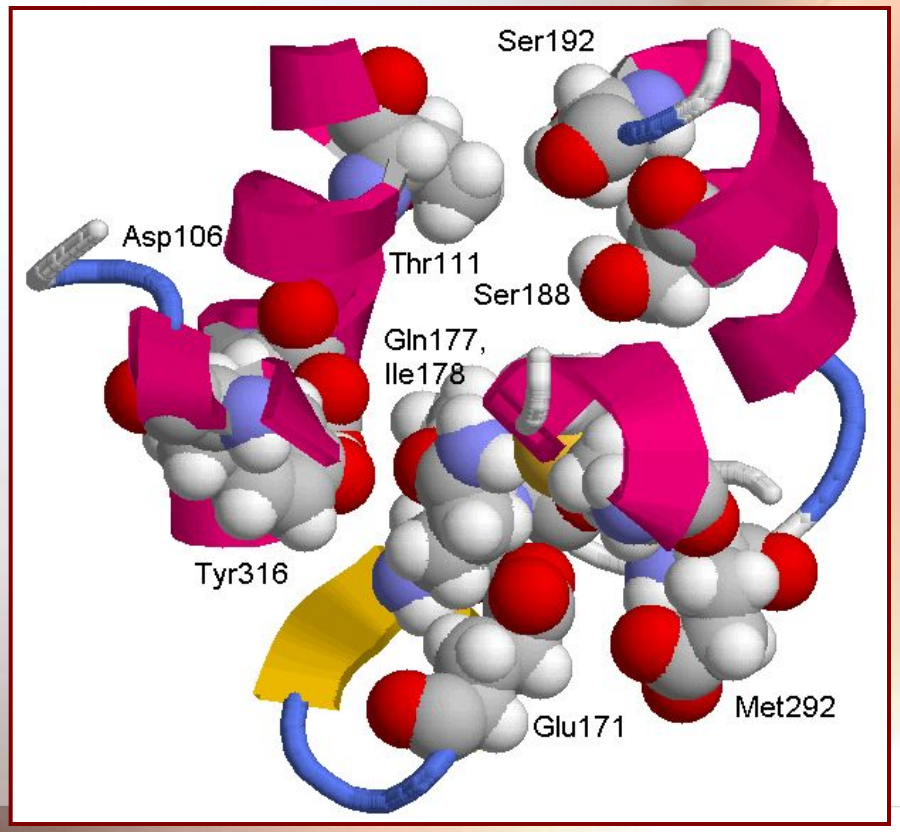


Альфа-1А-адренорецептор

Теоретична модель, Swiss-Model; оптимізована послідовність **після молекулярно-динамічного моделювання (програми SwissProt)**



Центр звязування в альфа-1А-адренорецепторі



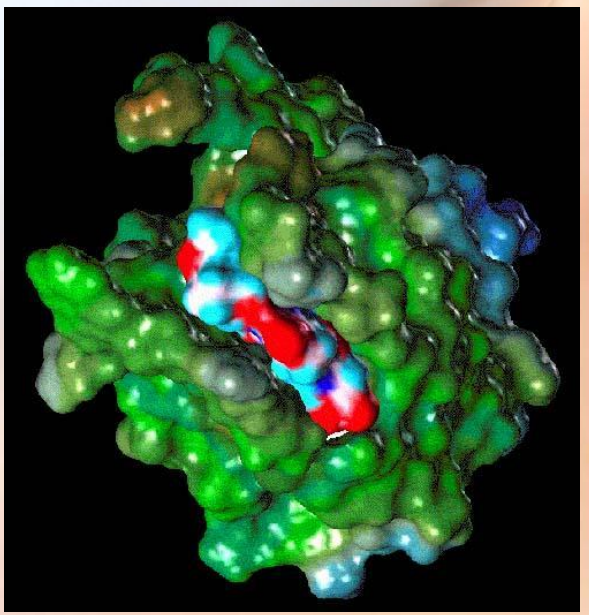
Застосування молекулярного докінгу в сучасних дослідженнях білків-мішеней лікарських засобів

- Білки, повязані з процесом онкогенезу
  (P38 MAP Kinase, IM PDH, CDK-2
  Src kinase, HDM_2, Chk_1, JNK 3)

- Вірусні білки
  (Neuraminidase, HIV-1 Protease)

- Бактеріальні білки
  (Carboxypeptidase A, Thermolysin, Gyrase B)

- Фактори зсідання крові
  (Thrombin, Factor X_a)



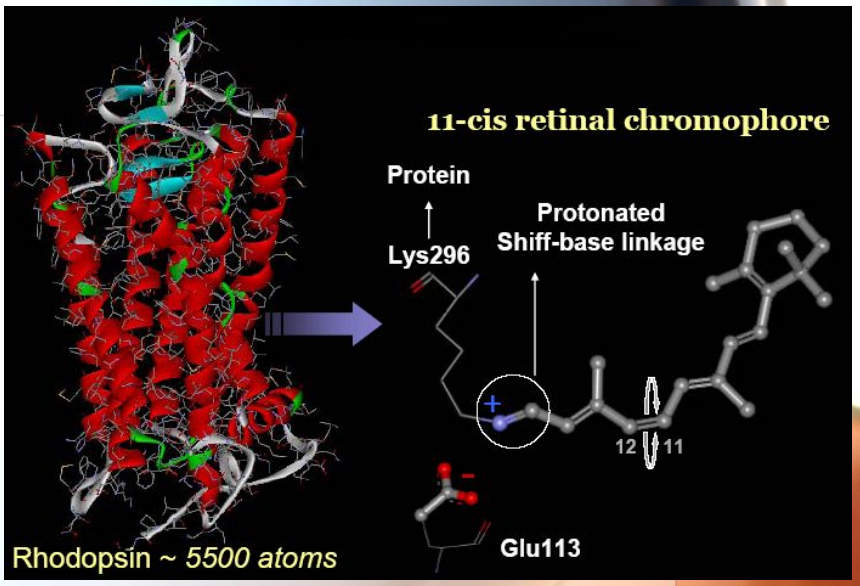
Перспективи розвитку квантової фармакології:

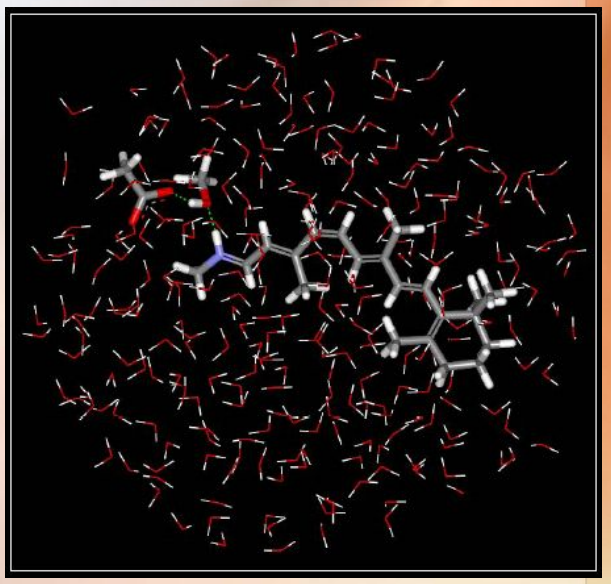
1. Розрахунки квантово-фармакологічних параметрів біомолекул великих розмірів

2. Якомога точніше урахування оточення середовища досліджуваних молекул

3. Вдосконалення методів розрахунку 3D-дескрипторів

4. Підвищення ефективності QSAR-моделювання.





ДЯКУЄМО ЗА УВАГУ!