

М. Я. Головенко

Фармакофорне моделювання селективної взаємодії лігандів з ізоформами цитохрому Р450

Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського
Національної академії наук України, м. Одеса

Ключові слова: ізоформи цитохрому Р450, фармакофорне моделювання, ліганди, субстрати, інгібітори, метаболізм

Цитохроми Р450 (СУР) є великою надродиною ферментів, які відіграють ключову роль у метаболізмі ендогенних сполук і ксенобіотиків, зокрема лікарських засобів, токсинів і канцерогенів [1]. Незважаючи на спільні каталітичні властивості, різні ізоформи СУР демонструють значну селективність щодо субстратів та інгібіторів, що зумовлено відмінностями в їхній амінокислотній послідовності, просторовій структурі активного сайту та динамічній поведінці. Селективність взаємодії субстратів та інгібіторів з окремими ізоформами СУР суттєво впливає на фармакокінетику, біодоступність, ефективність і безпеку лікарських засобів. Наявність генетичного поліморфізму в генах СУР, а також варіації в структурі активних центрів обумовлюють міжіндивідуальні відмінності у метаболізмі препаратів і підвищують ризик розвитку побічних реакцій або неефективності терапії [2].

Розуміння причин такої селективності має важливе значення як для фундаментальної біохімії, так і для прикладних завдань, зокрема в фармакології та токсикології. Визначення структурних факторів, які лежать в основі взаємодії специфічних молекул з певними ізоформами СУР, дозволяє

прогнозувати метаболічні шляхи нових сполук, попереджати лікарські взаємодії й оптимізувати дизайн інгібіторів для цілеспрямованої терапії.

У контексті сучасної медицини надзвичайно актуальним є завдання точного прогнозування взаємодії лікарських речовин із конкретними ізоформами СУР. Це потребує глибшого розуміння структурних детермінант, що визначають селективність лігандів. Таким чином, дослідження молекулярних механізмів розпізнавання субстратів та інгібіторів ізоформами СУР має як фундаментальне, так і практичне значення – від розвитку персоналізованої медицини до раціонального дизайну лікарських засобів.

Мета дослідження – встановити причину селективної взаємодії субстратів та інгібіторів із різними ізоформами СУР шляхом виявлення структурних і функціональних особливостей активного сайту ферментів, які зумовлюють відмінності їхньої специфічності.

Матеріали та методи. Для підготовки цього дослідження проаналізовано наукові публікації, які присвячені селективності ізоферментів СУР щодо субстратів та інгібіторів, із фокусом на фармакофорний аналіз і молекулярне моделювання. Основними джерелами інформації були рецензовані статті з баз даних PubMed, Scopus, Web of Science, а також патентні матеріали та відкриті хімічні бази даних (ChEMBL, DrugBank, Protein Data Bank (PDB)).

З метою встановлення кореляцій між будовою СYP і їхньою функціональною активністю було використано комплекс методів комп'ютерного моделювання, структурного аналізу та хемоінформатики, що дозволяє системно дослідити взаємодію субстратів й інгібіторів з різними ізоформами СYP. Вихідні структурні дані про ізоформи СYP були отримані з відкритих біоінформаційних баз, зокрема PDB. У випадках відсутності експериментальних структур використовувались передбачені тривимірні моделі, які згенеровані за допомогою інструментів гомологічного моделювання (SWISS-MODEL) або алгоритмів на основі ШІ (AlphaFold). Структури ферментів були піддані порівняльному аналізу з метою виявлення відмінностей у конформації активного сайту, розмірах і хімічних властивостях ключових амінокислотних залишків, що беруть участь у взаємодії з лігандами. Побудова фармакофорних моделей здійснювалась на основі відомих субстратів та інгібіторів ізоформ СYP із використанням програмного забезпечення LigandScout, Discovery Studio або аналогічних платформ. Аналіз проводився для виявлення ключових функціональних груп, необхідних для високої афінності до конкретної ізоформи.

Отримані результати були систематизовані для встановлення взаємозв'язку між структурними особливостями ізоформ СYP і селективністю лігандів, що дозволяє формувати узагальнені висновки про молекулярні механізми розпізнавання.

Результати та їх обговорення. *Цитохром P450: будова та функціональна роль.* У процесі еволюції кожна група організмів «удосконалювала» свою підсистему СYP у відповідь на специфіку довкілля. Висока кількість ізоформ є перевагою для пристосування організму до хімічного середовища (природні отрути, власні гормони, інші речови-

ни), яке постійно змінюється. Станом на 2024 рік у базі даних зафіксовано 21 000 генів СYP, з них у тварини – близько 8000, у рослини – близько 10 000, у грибів і мікроорганізмів – близько 3000. У людини виявлено близько 57 генів і понад 50 функціональних ізоформ СYP. Їх можна поділити на два основні класи:

1) СYP, що метаболізують ксенобіотики (переважно в печінці), які представлені наступними ізоформами: 3A4 – близько 50 %; 2D6 – близько 25 %; 2C9 – близько 15 %; 1A2 – близько 10 %; 2C19 – близько 10 % [3].

2) ті, що метаболізують ендogenousні сполуки, зокрема беруть участь у синтезі гормонів і каталізуються ізоформами: 11A1, 17A1, 19A, 21A2, 46A1, 27A1 [4]. Таке різноманіття ізоформ ферменту є еволюційним пристосуванням, яке забезпечує широку специфічність до субстратів, тканинну специфічність і різний рівень експресії / регуляції. Різні ізоформи активуються різними індукторними або репресивними сигналами. Деякі ізоформи мають різні алелі (особливо CYP2D6), що впливає на швидкість метаболізму в різних осіб (повільні, нормальні, ультрашвидкі метаболізатори). Така експресія багатьох ізоформ одного фермента є своєрідною «системою запасу», яка дозволяє організму гнучко реагувати на різні ситуації [5].

Отже, ізоформи СYP виникли не для того, щоб метаболізувати ліки, а для боротьби з природною «хімією» – отрутами, гормонами, чужими молекулами. Сучасна фармакологія лише «випадково» скористалась цією вже існуючою системою.

Білкова структура СYP має компактну глобулярну будову, сформовану з численних α -спіралей і β -шарів [6]. Центральне місце займає гемова група – молекула з атомом заліза, що виконує роль каталізатора. Саме тут відбувається перетворення молекул-субстратів.

Глибоко в структурі білка розміщений активний центр – кишення, де субстрат зв'язується й зазнає хімічної трансформації. Завдяки гнучкості будови різні ізоформи CYP можуть «підлаштовуватись» під широкий спектр молекул. Через спеціальний канал молекула субстрату потрапляє в активний центр, де вона зв'язується з залізом гемової групи та піддається окисненню за участю кисню.

Активний центр CYP розташований у глибокій гідрофобній кишені білка та включає такі основні компоненти [7] (рис. 1). Центральним елементом активного центру є гемова група з атомом заліза ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$). Залізо гемової групи здатне зв'язувати кисень (O^-) і переносити електрони, що необхідно для реакцій монооксигеназного типу. Координаційна структура гемового заліза складається з чотирьох азотних атомів порфіринового кільця, п'ятих координат, забезпечених залишком цистеїну білкової частини (через тіол-групу). Шоста координата зайнята водою, лігандами або киснем у різних стадіях реакції. Сірка залишку цистеїну є обов'язковим лігандом до заліза гемової групи. Він забезпечує електронну активацію заліза та дозволяє утворення реакційноздатних кисневих видів (наприклад, ферил-оксидного комплексу).

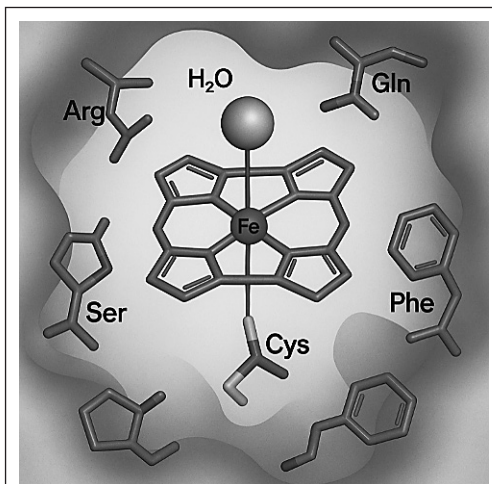


Рис. 1. Активний центр CYP

Форма та хімічні властивості кишені визначають субстратну специфічність окремих ізоформ CYP. Навколо гема зазвичай присутні гідрофобні амінокислоти (Phe, Leu), які стабілізують гідрофобні субстрати. В околицях активного центру можуть бути полярні залишки (наприклад, Ser, Thr, Arg), які забезпечують водневі зв'язки чи електростатичні взаємодії. Часто присутні Tyr, Phe, Trp, які забезпечують π - π або cation- π взаємодії. Багато ізоформ мають здатність до індукованої відповідності (induced fit), тобто, зміни форми активного центру при зв'язуванні ліганду, що забезпечує гнучкість сайту.

Ізоформи CYP мають різну будову активного центру (табл. 1), що пояснюється відмінностями послідовності амінокислот у ділянках, які формують субстратну кишеньку й оточення гемової групи, що відображає еволюційну адаптацію [8]. Це дозволяє кожній ізоформі забезпечити субстратну специфічність, хімічну селективність реакції та регулювати доступ до активного центру. У деяких ізоформах активний центр частково прикритий, в інших – відкритий. Це дозволяє реагувати на розміри субстратів, які можуть потрапити всередину, швидкість реакції та сприйнятливість до інгібіторів.

У той самий час, незважаючи на значну розбіжність в амінокислотній послідовності різних ізоформ CYP, їхня третинна структура зберігає спільні елементи, такі як N-кінцева мембранна α -спіраль, центральна I-спіраль і петля BC. Ці елементи відіграють значну роль у каталізі та визначають специфічність до субстратів. Основною каталітичною функцією CYP є окиснення субстрату, в якому активний центр виконує ключові функції [9]. Цикл реакції ферменту складається з кількох стадій [10]:

**Структури активних центрів основних ізоформ CYP,
ключових у метаболізмі ксенобіотиків і лікарських засобів**

Параметр / Ізоформа	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4
Локалізація гена	Хромосома 15q24	Хромосома 10q24	Хромосома 10q23.33	Хромосома 22q13.2	Хромосома 7q22.1
Розмір активного центру	~375 Å ³	~400 Å ³	~400 Å ³	~500 Å ³	~530–600 Å ³
Об'єм порожнини	Малий, вузький	Середній, вузький	Середній, гнучкий	Гнучкий, але вузький	Великий, гнучкий
Полярність середовища	Гідрофобне	Помірно гідрофобне	Помірно гідрофобне	Більш полярне	Гетерогенне
Ключові аміно- кислоти	Phe226, Thr124, Ser122	Arg108, Phe114, Asn204	Ser221, Phe100, Ala103	Asp301, Phe120, Glu216	Phe57, Arg212, Thr309
Координація гему	Цистеїн	Цистеїн	Цистеїн	Цистеїн	Цистеїн
Гнучкість сайту	Низька	Помірна	Помірна	Помірна	Висока
Субстратна специ- фічність	Поліциклічні ароматичні вуглеводні, кофеїн	Варфарин, НПЗЗ (напроксен)	Іміпрамін, омепразол	Кодеїн, декстро- меторфан	Множинна (еритроміцин, мідозалам, циклоспорин)
Відомі інгібітори	Флувоксамін	Флуконазол	Флуконазол	Квінідин	Кетоконазол, ритонавір
Особливості	Субстрати з пласкою структурою	Вузька специ- фічність	Схожість із CYP2C9	Має генетичні полі- морфізми	Найширший спектр субстратів

1) зв'язування субстрату (*S*) з ферментом: *S* зв'язується з активним центром CYP у формі ферменту з окисдованим залізом Fe³⁺ (гем). Це спричиняє зміну конформації ферменту та збільшує його спорідненість до кисню;

2) відновлення Fe³⁺ до Fe²⁺: NADPH → NADP⁺ (через редуктазу CYP або феродоксин). Перенос електрона від NADPH відновлює Fe³⁺ до Fe²⁺, що дозволяє йому зв'язати молекулярний кисень;

3) зв'язування молекули кисню: Fe²⁺-CYP зв'язує кисень, утворюючи трійчастий комплекс (фермент-субстрат-кисень, CYP-Fe²⁺-O⁻-S). Це нестабільна структура, яка потребує подальшої активації;

4) перенос другого електрона: надходить ще один електрон (знову від NADPH), утворюючи пероксидний проміжний комплекс Fe³⁺-O-O⁻. Це основний крок, що активує кисень до подальших перетворень;

5) розрив O-O зв'язку й утворення активного кисню: відбувається гетероліз зв'язку O-O. Один атом кисню відщеплюється до води, другий утворює реакційноздатну оксигенову форму (оксоферил або оксеній іон);

6) гідроксильовання субстрату: активна форма кисню переносить атом кисню на субстрат. Це основний етап монооксигенування, коли один атом кисню вбудовується в субстрат, а другий – утворює воду;

7) відновлення ферменту до початкового стану: CYP повертається у вихідну форму з Fe³⁺, готовий до нового циклу.

Узагальненою реакцією процесу є:



Безліч сполук можуть інгібувати CYP шляхом зв'язування з активним центром (наприклад, кетоконазол).

Інші можуть індукувати експресію певних ізоформ CYP, змінюючи активність ферменту.

Отже, активний центр є критичним для біотрансформації речовин, визначаючи їхню активність, токсичність або виведення.

Поняття фармакофору та методи фармакофорного картування. Фармакофор є одним із ключових концептів комп'ютерного моделювання взаємодії ліганд-мішень. Згідно з визначенням IUPAC, «Фармакофор – це сукупність стеричних та електронних характеристик, необхідних для забезпечення оптимальних надмолекулярних взаємодій з конкретною біологічною цільовою структурою та для ініціювання (або блокування) її біологічної відповіді». Це визначення є загальновизнаним у сфері медичної хімії та фармакології й використовується для опису основних структурних елементів молекули, які забезпечують її біологічну активність.

Фармакофор має кілька ключових загальних положень і характеристик, які визначають його роль у процесі розробки лікарських засобів. Це не конкретна молекула, а узагальнена модель просторової організації функціональних груп, відповідальних за біологічну активність. Різні хімічні сполуки можуть мати однаковий фармакофор, якщо вони демонструють схожу біологічну дію через подібне просторове розташування ключових груп. Фармакофор використовується в *in silico* дослідженнях, наприклад, для віртуального скринінгу та дизайну нових лікарських молекул. Допомогає передбачити, які молекули можуть зв'язуватись з біологічною мішенню, що значно зменшує витрати часу та ресурсів [11].

Основними характеристиками фармакофора є функціональні групи (донори та акцептори водневих зв'язків, гідрофобні області, ароматичні

кільця, позитивні або негативні іонні центри). Важлива не лише наявність груп, а й їхнє просторове розміщення, яке визначає здатність взаємодіяти з активним сайтом мішені. Деякі фармакофори враховують гнучкість молекули (можливість обертання зв'язків), інші – фіксовану конформацію. Якщо молекули з однаковим фармакофором показують подібну активність, то модель вважається валідною.

Фармакофорне моделювання дозволяє досліджувати взаємозв'язок «структура–активність», проводити віртуальний скринінг бібліотек сполук, оптимізувати ліганди й уникати потенційно небажаних властивостей, таких як метаболічна нестабільність чи інгібування ізоформ CYP [12].

Існує декілька підходів щодо фармакофорного моделювання [13–15], а саме:

1) *ліганд-орієнтоване фармакофорне моделювання (LBPM)*: цей підхід базується на аналізі набору біологічно активних сполук, що зв'язуються з однією мішенню. Навіть при відсутності даних просторової структури білка, LBPM дозволяє виокремити спільні структурні риси, які є критичними для активності;

2) *фармакофорне моделювання на основі структури білка (SBPM)*: воно використовує 3D-структури білків, отримані з X-ray кристалографії або моделей, побудованих за допомогою гомологічного моделювання чи методом AlphaFold. Такий підхід дозволяє створити фармакофорну модель безпосередньо з активного центру мішені, включаючи просторове розташування ключових амінокислотних залишків та їхню взаємодію з лігандом;

3) *гібридні стратегії*: поєднання LBPM та SBPM дозволяє досягти кращого узгодження між емпіричними

даними та структурною інформацією. Наприклад, модель може бути згенерованою з лігандів, а потім перевірена або оптимізована через докінг або динамічне моделювання взаємодії з білком.

У таблиці 2 наведено приклади відомих інструментів фармакофорного фільтра для скринінгу, який є ключовим етапом у створенні біологічно активних сполук.

Щоб успішно його реалізувати, потрібно дотриматися низки вимог і мати відповідні ресурси.

1. *Формування фармакофорної моделі*. Джерело: експериментальні дані (кристалографія, NMR, SAR), докінг або QSAR. Модель має врахувати водневі донори / акцептори, гідрофобні центри, ароматичні кільця, іонні / катіонні / аніонні центри, відстані між цими точками (у Å). Типи моделей: Ligand-based (на основі активних лігандів) і Structure-based (на основі 3D-структури білка).

2. *Вибір бази даних для скринінгу*. Комерційні або відкриті бібліотеки, як от: ZINC, ChEMBL, DrugBank, PubChem, Enamine тощо. Формат структур: 3D-структури в SDF або MOL2 форматі. Оптимізовані геометрії (зазвичай енергетично мінімізовані).

3. *Підготовка бібліотеки сполук*. Протонування / депротонування при фізіологічному pH. Генерація конформацій, оскільки одна молекула може мати кілька просторових форм. Перевірка валентності, зарядженості, правильного стерео.

4. *Програмне забезпечення для фармакофорного скринінгу*. Популярні інструменти (табл. 2) створення фармакофорів, Візуалізація, Високопродуктивний скринінг, Сортування / оцінка за «fit value» або RMSD.

5. *Критерії фільтрації*. Мінімальна кількість відповідностей (matching features). Відстані між фармакофор-

Основні програмні інструменти для фармакофорного картування

Програма	Тип моделі	Особливості	Ліцензія
LigandScout	LBPM, SBPM	Автоматичне виділення фармакофорів з лігандів, підтримка 3D-візуалізації	Комерційна, безкоштовна академічна
MOE (CCG)	LBPM, SBPM	Потужний модуль для моделювання лігандів і білків, інтеграція QSAR	Комерційна (акад. ліцензії)
Discovery Studio			Комерційна
Pharmacophore Phase (Schrödinger)	LBPM	Створення та валідація моделей; інтеграція зі скринінгом та ADMET-аналізом	Комерційна
Pharmit	LBPM	Онлайн-сервіс для швидкого фармакофорного пошуку в бібліотеках сполук	Безкоштовна (open access)
ZINCPharmer	LBPM	Віртуальний скринінг фармакофорів у ZINC-базі; працює в браузері	Безкоштовна (open access)
Catalyst/HipHop (BIOVIA)	LBPM	Створення моделей на основі активних сполук; інструмент ранньої генерації	Комерційна

ними точками повинні бути в межах допуску. Додаткові фільтри: Lipinski's Rule of Five, PAINS, ADMET-прогноз.

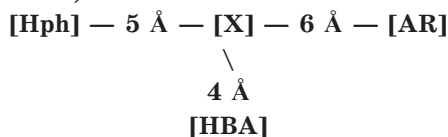
6. *Аналіз результатів*. Оцінка (fit score) – наскільки добре молекула відповідає фармакофору. Вибір топ-кандидатів для подальшого докінгу, QSAR аналізу та *in vitro* досліджень.

Фармакофорне моделювання має свою наступну термінологію та скорочення: *Hph* – гідрофобна (неполярна) ділянка, яка взаємодіє з гідрофобними кишнями білка (алкільні ланцюги, ізопропіл, феніл); *HBD* – донор водневого зв'язку (атом, який віддає протон у водневому зв'язку). Найчастіше це -OH, -NH₂, -NH; *HBA* (іноді

HBD) – акцептор водневого зв'язку, що приймає протон (=O, -OR, -NR₂, піридиновий азот; *R* (або *Ar*) – ароматичне кільце, яке бере участь у π - π або π -катіонних взаємодіях із залишками ферменту (феніл, піридин, індол); *Nitrogen* (зазвичай основний атом азоту) – атом азоту, який може координувати з гемом CYP або брати участь у електростатичних взаємодіях (піридин, імідазол, аміни); *X* – місце метаболічної трансформації (Site of Metabolism, SoM) або атом, який схильний до окиснення CYP.

Ці елементи разом утворюють фармакофорну карту – абстрактне зображення просторового розміщення

функціональних груп, що необхідні для активної взаємодії з біомішенню (наприклад, для умовного субстрату CYP3A4):



Це означає, що місце окиснення молекули (X) знаходиться між гідрофобною та ароматичною групами, а поруч є акцептор водневого зв'язку.

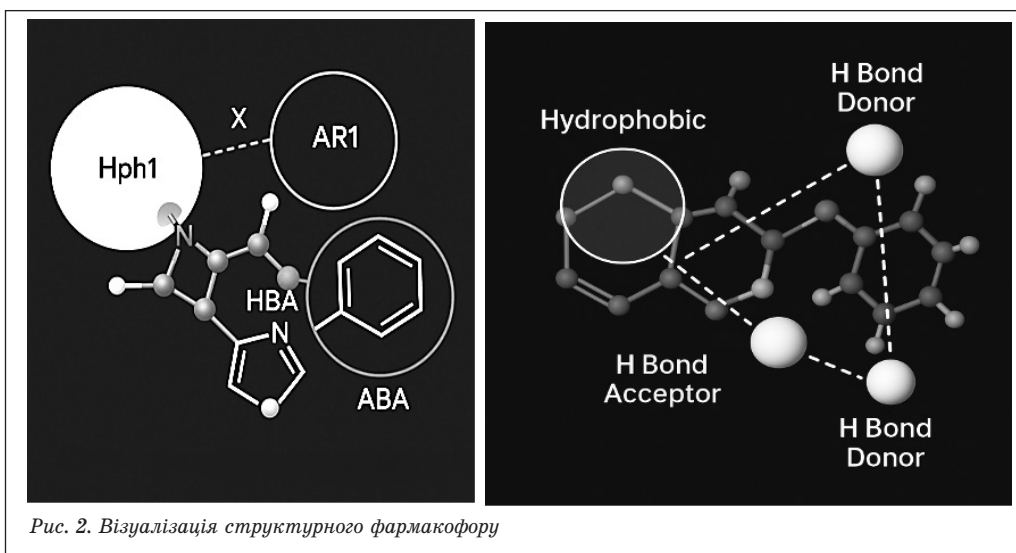
У деяких випадках використовують візуалізацію структурного фармакофору, що є фармакофорною моделлю, побудованою з урахуванням просторової структури ліганду (рис. 2). Це один із підходів до дизайну лікарських засобів на основі структури.

Фармакофорне моделювання як інструмент дослідження селективності субстратів та інгібіторів до ізоформ CYP. Селективність лігандів щодо різних ізоформ CYP є критичним фактором у розробці безпечних та ефективних лікарських засобів. Деякі молекули демонструють високу специфічність до певної ізоформи, тоді як інші взаємодіють із кількома формами CYP, що може призводити до небажаних фармакокінетичних

ефектів, включно з лікарськими взаємодіями або токсичністю [16]. Визначення структурних та електронних ознак, які зумовлюють таку селективність або її відсутність, є важливим завданням для сучасної медичної хімії та фармакології.

Фармакофорне моделювання дозволяє ідентифікувати ключові функціональні групи та просторові характеристики молекул, які визначають їхню здатність взаємодіяти з конкретними ізоформами CYP [17]. Особливу цінність має застосування фармакофорів у порівняльному аналізі селективних і неселективних лігандів, що сприяє кращому розумінню молекулярних механізмів розпізнавання й інгібування [18]. У таблиці 3 наведено результати фармакофорного моделювання лігандів основних ізоформ CYP людини.

У тому випадку, коли сполука має фенільну групу (AR), алкільний ланцюг (Hph), метильовану аміногрупу (X), кетон або етер (HBA) і вони розташовані в межах типових відстаней, то ймовірно, що вона є субстратом CYP3A4 (табл. 4). У той самий час існують і деякі застереження щодо використання цього правила.



Фармакофорний аналіз субстратів основних ізоформ CYP

Ізо-фермент	Типова молекулярна маса (Да)	Структурні особливості субстратів	Типові функціональні групи	Приклади субстратів
CYP3A4	> 500	Велика, гнучка, ліпофільна молекула; часто з кількома ароматичними / гетероциклічними системами	Аміни, етери, кетони, алкіл ланцюги	Мідозолам, еритроміцин, циклоспорин
CYP2D6	~300–500	Ароматичне кільце на відстані 5–7 Å від основного аміну	Третинні / вторинні аміни	Кодеїн, метопролол, флуоксетин
CYP2C9	~250–400	Наявність кислотної групи, обмежена ліпофільність	Карбоксильна кислота, феноли	Варфарин, ібупрофен, фенітоїн
CYP2C19	~250–450	Помірна ліпофільність, частіше нейтральні або слабкокислі сполуки	Етери, нітрогрупи, прості ацени	Омепразол, клопідогрель, діазепам
CYP1A2	< 350	Плоскі, ароматичні системи, часто поліциклічні	Аміни, ароматичні кільця	Кофеїн, теофілін, ацетамінофен
CYP2E1	< 250	Невеликі, леткі або полярні молекули	Етанол, кетони, прості ацени	Етанол, ацетон, хлороформ

CYP3A4 відноситься до ферментів з високою гнучкістю та низькою субстратною селективністю, тому фармакофорна модель може допомогти, але не гарантує точного прогнозу. Тому фармакофорна модель є корисним фільтром для передскрінінгу потенційних субстратів CYP3A4, але для остаточного підтвердження потрібні докінг-аналізи, QSAR-моделі або експериментальні дані (наприклад, метаболічні дослідження *in vitro*).

Враховуючи відмінності у конфігурації активних центрів, глибину та гнучкість субстратного каналу, фармакофорні моделі дають змогу пояснити, чому певна сполука є суб-

стратом, наприклад, для CYP3A4, а інша – ні (табл. 5).

Методами фармакофорного аналізу можна також визначити структурну різницю інгібіторів основних ізоформ CYP. Так, на прикладі порівняння CYP3A4 та CYP2D6, як показали розрахунки, вона зумовлена як розмірами та гнучкістю їхніх активних центрів, так і специфічними електростатичними та гідрофобними взаємодіями, характерними для кожного ферменту (табл. 6).

Перспективи та обмеження методу. Фармакофорне моделювання в майбутньому чекає низка значних досягнень завдяки розвитку штучного інтелекту (ШІ), великих обчислень

Типова фармакофорна модель субстратів CYP3A4

Фармакофорна ознака	Функціональна роль	Типова відстань до центру окиснення (X)
Hph	Забезпечує зв'язування з гідрофобною кишенею ферменту	~3–7 Å
AR	Обумовлює п-п взаємодію в активному центрі з фенілаланіном, тирозином	~5–8 Å
X	Атом (зазвичай C-H або N-CH ₃), який має бути розташований поблизу гема	~1.5–3 Å (від гема)
HBA	Орієнтація молекули, іноді – додаткова стабілізація	~5–9 Å від Hph або AR
HBD	Може взаємодіяти з залишками білка або водою в активному сайті	Варіюється

і нових експериментальних методів. Вони трансформуються для фільтрації хімічних бібліотек у динамічну, адаптивну платформу для дизайну складних молекул з заданою активністю та селективністю. Ось деякі потенційні напрями [21–23]:

1) *інтеграція з глибоким навчанням*: оскільки нейронні мережі можуть навчатися автоматично виявляти фармакофори з великих баз біологічних і хімічних даних, це дозволить створювати динамічні фармакофори, які враховують гнучкість білків і лігандів;

2) *використання big data*: з баз типу ChEMBL, PubChem та AlphaFold дозволить генерувати статистично обґрунтовані моделі. Комбінування структурної та активності-залежної інформації в одному фармакофорі;

3) *адаптивні або еволюційні фармакофори*: нові методи дозволять створю-

вати фармакофори, які змінюються під час віртуального скринінгу для кращого охоплення хімічного простору;

4) *зв'язок з білковою динамікою (MD + pharmacophores)*: урахування докінгу та молекулярної динаміки дозволить моделювати тимчасові або умовно активні фармакофори. Це особливо важливо для таргетів з індукованою відповіддю або високою гнучкістю, наприклад, GPCR чи IDP-білки;

5) *застосування в складних системах, як от PROTAC*, молекули-«клеї», мультитаргетні препарати. Фармакофорне моделювання може допомагати створювати бівалентні молекули або функціональні платформи, які взаємодіють із кількома мішенями;

6) *розширена валідація in silico ↔ in vitro*: нові лабораторні мікрофлюїдні платформи дозволять швидко перевіряти передбачення фармакофорного

Порівняльна характеристика субстратів та несубстратів CYP3A4

Критерій	Субстрати CYP3A4	Несубстрати CYP3A4
Гідрофобність	Висока / помірна	Низька, полярні або заряджені
Ароматичні системи (AR)	Часто присутні	Часто відсутні
Місце для окиснення (C-H, etc.)	Доступне й реакційноздатне	Відсутнє або стерично / електронно захищене
Гнучкість молекули	Гнучка або напівгнучка	Занадто жорстка або повністю розгалужена
Розмір молекули	Середній–великий (300–800 Да)	Занадто маленькі або дуже великі
Просторова орієнтація	Може зорієнтувати «реакційний центр» до гема	Немає правильної орієнтації до активного центру
Фармакофорні ознаки (Hph, AR, HBA)	Щонайменше 2–3 ознаки	Відсутні або не відповідають розташуванню
Зв'язування з ферментом	Має спорідненість до активного сайту	Не утворює стабільний комплекс

скринінгу, зменшуючи кількість хибно-позитивних результатів;

7) *хмарні технології та колаборативні платформи*: фармакофорне моделювання стане доступнішим через SaaS-рішення – інтеграція з платформами на кшталт OpenEye, Schrodinger, MOE у хмарі.

Особлива роль при цьому відводить-ся III, фармакофорні моделі якого не просто «встигають» за змінами ізоформ CYP, але вони здатні передбачати їхні наслідки й адаптуватися в режимі реального часу, якщо мають достатньо даних. Так III-моделі (AlphaFold чи ESMFold) уже тепер можуть передбачити 3D-структури нових, навіть раніше невідомих ізоформ CYP. Це дозволяє миттєво згенерувати модель активного сайту для

нової ізоформи, тобто, без потреби в кристалографії. Така модель дає можливість одразу використовувати її для докінгу та скринінгу потенційних лігандів. III-моделі зможуть вивчати патерни взаємодії лігандів з сімейством CYP (враховуючи мутації, поліморфізм, алостеричні ефекти). III-генерація нових фармакофорів, наприклад, variational autoencoders (VAEs) або diffusion models) можуть спрогнозувати молекули, які відповідають фармакофору нової форми CYP, навіть якщо ця форма еволюційно нова та пристосовувати фармакофори до зміненого активного сайту.

Висновки

У результаті проведеного фармакофорного моделювання ідентифікова-

Таблиця 6

Основні фармакофорні причини відмінностей інгібіторів CYP3A4 та CYP2D6

Фактор	CYP3A4 (інгібітори)	CYP2D6 (інгібітори)
Розмір активного центру	Дуже великий (~1500 Å³), може вміщати кілька лігандів	Маленький (~500 Å³), менш гнучкий
Гідрофобність	Висока гідрофобність активного центру	Менша гідрофобність із вираженими полярними сайтами
Ключова взаємодія	Гідрофобна + π-π взаємодія з гемом + координація через атом N або кетон	Іонно-дипольна взаємодія з аспаратом (Asp301) + ароматичне кільце
Фармакофорна вимога: атом азоту	Переважно основний азот, який координує з гемом	Обов'язково іонізований або основний N (наприклад, вторинний / третинний амін)
Обов'язковий елемент	Hph (гідрофобна ділянка), Ar, іноді HBA, N	Іонізований N + AR (планарне ароматичне кільце)
Приклади інгібіторів	Кетоконазол, ритонавір, мідозолам, верапаміл	Флуоксетин, хінідин, пароксетин, пропафенон

но ключові просторові й електронні характеристики, що зумовлюють специфічність зв'язування лігандів з ізоформами CYP. Побудовані фармакофорні моделі дали змогу визначити мінімальні структурні вимоги до селективних субстратів та інгібіторів CYP3A4 та CYP2D6, які мають провідне значення в метаболізмі лікарських засобів.

Отримані результати можуть бути використані для скринінгу нових біоактивних сполук з прогнозованою метаболічною стабільністю, раціо-

нального дизайну лікарських препаратів з покращеними фармакокінетичними властивостями та зниження ризику міжлікарської взаємодії за рахунок підвищення селективності взаємодії з певними ізоформами цитохрому P450.

Таким чином, фармакофорне моделювання підтвердило свою ефективність як інструмент комп'ютерної фармакології для дослідження метаболічної поведінки лігандів і розробки безпечніших та ефективніших терапевтичних агентів.

1. Guengerich F. P., Wilkey C. J., Phar T. N. Human cytochrome P450 enzymes bind drugs and other substrates mainly through conformational-selection modes. *J. Biol. Chem.* 2019. V. 94 (28). P. 10928–10941. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.009305>.
2. Головенко Н. Я. Физико-химическая фармакология. Одесса : Феникс, 2004. 720 с.
3. Головенко Н. Я., Карасева Т. Л. Сравнительная биохимия чужеродных соединений. Киев : Наукова думка, 1983. 200 с.
4. Головенко Н. Я., Галкин Б. Н. Цитохром Р-450 зависимый путь окисления арахидоновой кислоты и ее метаболитов. *Укр. биохим. ж.* 1985. Т. 58 (2). С. 104–116.
5. Guengerich, F. P. Cytochrome P450 and chemical toxicology. *Chemical Research in Toxicology.* 2008. V. 21 (1). P. 70–83. <https://doi.org/10.1021/tx700079z>.
6. Rendic S., Di Carlo F. J. Human cytochrome P450 enzymes: a status report summarizing their reactions, substrates, inducers, and inhibitors. *Drug Metabolism Reviews.* 1997. V. 29 (182). P. 413–580. https://doi.org/10.3109/0360_2539709037591.
7. Wrighta W. C., Chenge J., Chena T. Structural perspectives of the CYP3A family and their small molecule modulators in drug metabolism. *Liver Res.* 2019. V. 3 (3–4). P. 132–142. <https://doi.org/10.1016/j.livres.2019.08.001>.
8. Johnson E. F., Stout C. D. Structural diversity of human xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 monooxygenases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. V. 38 (1). P. 331–336. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.08.190>.
9. Gay S. C., Roberts A. G., Halpert J. R. Structural features of cytochromes P450 and ligands that affect drug metabolism as revealed by X-ray crystallography and NMR. *Future Med. Chem.* 2010. V. 2 (9). P. 1451–1468. <https://doi.org/10.4155/fmc.10.229>.
10. Головенко Н. Я. Механизмы реакций метаболизма ксенобиотиков в биологических мембранах. Киев : Наукова думка, 1981. 220 с.
11. Wolber G., Langer T. LigandScout: 3-D pharmacophores derived from protein-bound ligands and their use as virtual screening filters. *Journal of Chemical Information and Modeling.* 2005. V. 45 (1). P. 160–169. <https://doi.org/10.1021/ci049885e>.
12. Yang S. Y. Pharmacophore modeling and applications in drug discovery: challenges and recent advances. *Drug Discovery Today.* 2010. V. 15 (11–12). P. 444–450. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.03.013>.
13. Wermuth C. G. The practice of medicinal chemistry (4th ed.). Academic Pres, 2015. 415 p.
14. Structure-based virtual screening for drug discovery: principles, applications and recent advances. E. Lionta, G. Spyrou, D. K. Vassiliatis, Z. Cournia. *Current Topics in Medicinal Chemistry.* 2014. V. 14 (16). P. 1923–1938. <https://doi.org/10.2174/1568026614666140929124445>.
15. Kirchmair J. Predicting drug metabolism: experiment and/or computation? *Nature Reviews Drug Discovery.* 2015. V. 14. P. 387–404. <https://doi.org/10.1038/nrd4581>.
16. Kirchmair J. Computational prediction of metabolism: sites, products, SAR, P450 enzyme dynamics, and mechanisms. *Journal of Chemical Information and Modeling.* 2012. V. 52 (3). P. 617–648. <https://doi.org/10.1021/ci200542m>.
17. de Graaf C., Vermeulen N. P., Feenstra K. A. Cytochrome P450 *in silico*: an integrative modeling approach. *Journal of Medicinal Chemistry.* 2005. V. 48 (8). P. 2725–2755. <https://doi.org/10.1021/jm040180d>.
18. Ekins S., Stresser D. M., Williams J. A. *In vitro* and pharmacophore insights into CYP3A enzymes. *Trends Pharmacol Sci.* 2003. V. 24. P. 161–166. [https://doi.org/10.1016/s0165-6147\(03\)00049-x](https://doi.org/10.1016/s0165-6147(03)00049-x).
19. SMART Cyp: A 2D method for prediction of cytochrome P450-mediated drug metabolism. P. Rydberg, D. E. Gloriam, J. Zaretski, C. Breneman. *ACS Medicinal Chemistry Letters.* 2010. V. 1 (3). P. 96–100. <https://doi.org/10.1021/ml100016x>.
20. Lewis D. F. Human P450s involved in drug metabolism and the use of structural modelling for understanding substrate selectivity and binding affinity. *Xenobiotica.* 2009. V. 39 (8). P. 625–635. <https://doi.org/10.1080/00498250903000255>.
21. Bayer's in silico ADMET platform: a journey of machine learning over the past two decades. A. H. Göller et al. *Drug Discovery Today.* 2020. V. 25(9), 1702–1709. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.07.001>.
22. TeachOpenCADD: a teaching platform for computer-aided drug design using open source packages and data. C. de Bruyn Kops et al. *Journal of Chemical Education.* 2019. V. 96 (11). P. 2380–2384. <https://doi.org/10.1186/s13321-019-0351-x>.
23. Artificial intelligence in drug discovery and development. D. Paul, G. Sanap, S. Shenoy, D. Kalyane. *Drug Discovery Today.* 2021. V. 26 (1). P. 80–93. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.10.010>.

М. Я. Головенко

Фармакофорне моделювання селективної взаємодії лігандів з ізоформами цитохрому P450

Цитохроми P450 (CYP) є ключовими ферментами, які залучені до метаболізму лікарських засобів і демонструють високу селективність щодо субстратів та інгібіторів. Така селективність пов'язана з особливостями просторової будови активного сайту різних ізоформ ферменту.

Мета дослідження – встановити причину селективної взаємодії субстратів та інгібіторів із різними ізоформами CYP шляхом виявлення структурних і функціональних особливостей активного сайту ферментів, які зумовлюють відмінності їхньої специфічності.

У цьому дослідженні застосовано методи фармакофорного моделювання для ідентифікації характерних взаємодій між лігандами й окремими ізоформами CYP. На основі аналізу просторових та електронних характеристик субстратів й інгібіторів побудовано фармакофорні моделі для окремих ізоформ.

Результати дозволили встановити ключові детермінанти селективного зв'язування та можуть бути використані для прогнозування метаболізму, проектування селективних інгібіторів, а також оптимізації лікарських сполук на етапі доклінічного скринінгу.

Ключові слова: ізоформи цитохрому P450, фармакофорне моделювання, ліганди, субстрати, інгібітори, метаболізм

М. Ya. Golovenko

Pharmacophore modeling of selective interaction of ligands with cytochrome P450 isoforms

Cytochrome P450 (CYP) enzymes are essential players in drug metabolism and exhibit pronounced selectivity toward specific substrates and inhibitors. This selectivity arises from structural differences in the active sites of various CYP isoforms.

The aim of the study - to establish the reasons for the selective interaction of substrates and inhibitors with different CYP isoforms by identifying the structural and functional features of the active site of enzymes that cause differences in their specificity.

In this study, pharmacophore modeling approaches were applied to identify key molecular interactions governing ligand selectivity across CYP isoforms. Pharmacophore models were constructed based on the spatial and electronic features of known substrates and inhibitors. The analysis revealed critical pharmacophoric elements responsible for isoform-specific binding.

The models obtained can be used to predict metabolic pathways, guide the design of selective inhibitors, and support early-stage drug development and screening.

Key words: isoforms cytochrome P450, pharmacophore modeling, ligands, substrates, inhibitors, metabolism

Надійшла: 27 травня 2025 р.

Прийнята до друку: 16 липня 2025 р.

Контактна особа: Головенко Микола Якович, академік НАМН України, доктор біологічних наук, професор, відділ біомедицини, Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, буд. 86, вул. Люстдорфська дорога, м. Одеса, 65980. Тел.: + 38 0 94 863 70 56.
Електронна пошта: n.golovenko@gmail.com