



 Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego  
Ministry of Science and Higher Education  
Department of Poland

**KNO** 

Krajowy Naukowy  
Ośrodek Wiodący  
2012-2017

*Leading National Research Centre*

Gdański Uniwersytet Medyczny

Wydział Farmaceutyczny  
z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej

Mariusz Belka

**Chemometrycznie wspomagana, oparta na badaniach  
metabolicznych, strategia projektowania nowych leków**

Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej  
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Promotor:

prof. dr hab. Tomasz Bączek

Gdańsk 2015

# Streszczenie

Metabolizm ksenobiotyków to zjawisko biochemiczne występujące w przyrodzie w tym także w organizmie człowieka. Szczególnym rodzajem ksenobiotyków są leki, a ich metabolizm może prowadzić do skutków o istotnym znaczeniu klinicznym, takich jak wzrost lub spadek aktywności leku, wywołanie działań niepożądanych czy interakcji międzylekowych. Dostępne dane statystyczne świadczą o tym, że postęp w dziedzinie badań metabolizmu potencjalnych leków znacząco zmniejszył prawdopodobieństwo konieczności wycofania leku z powodów związanych z tym zjawiskiem. Z drugiej strony rośnie zainteresowanie technikami obliczeniowymi *in silico* przewidywania właściwości metabolicznych kandydatów na leki, które w porównaniu z badaniami *in vitro* i *in vivo* cechują się zazwyczaj niższym kosztem wykonania oraz krótszym czasem uzyskania wyników.

Przedłożona rozprawa doktorska, skupiając się na przykładzie dwóch odrębnych grup: pochodnych benzenosulfonamidu o aktywności cytotoksycznej oraz analogów arylopiiperazyny o potencjalnym zastosowaniu w leczeniu depresji i stanów lękowych, proponuje kilka schematów postępowania, które z pomocą technik chemometrycznych wspomagają, bądź ułatwiają podejmowanie decyzji o wyborze kandydata na lek, o korzystnych właściwościach już na wczesnym etapie badań przedklinicznych. W toku prowadzonych badań uzyskano szereg oryginalnych wyników, które zaliczyć można do dziedziny nauk podstawowych w zakresie biochemii, w szczególności zaproponowano kierunki biotransformacji w grupie badanych pochodnych benzenosulfonamidu zawierających ugrupowanie tiohydrazonu. Opisano również występowanie izomeryzacji geometrycznej w tej grupie związków. W grupie pochodnych arylopiiperazyny oznaczono ilościowo stabilność metaboliczną, a uzyskany metaboliczny czas półtrwania porównano z wartością uzyskaną dla związku referencyjnego – buspironu. Część z badanych związków odznaczała się stabilnością kilkukrotnie wyższą od buspironu.

W poszczególnych etapach badań zaproponowano schematy kilku interdyscyplinarnych procedur badawczych, obejmujących modelowanie molekularne, eksperymenty biochemiczne i chromatograficzne (także z wykorzystaniem spektrometrii mas) oraz kompleksową analizę danych z wykorzystaniem technik chemometrycznych. Zaproponowane procedury obejmują: wykorzystanie analizy głównych składowych do wielowymiarowej analizy macierzy danych aktywności i macierzy deskryptorów

molekularnych w celu poszukiwania zależności pomiędzy strukturą chemiczną a aktywnością; wykorzystanie regresji wielorakiej w celu opracowania modelu QSAR – ilościowej zależności pomiędzy strukturą a aktywnością biologiczną; wykorzystanie metodologii badania zależności pomiędzy strukturą chemiczną a zachowaniem substancji w układzie chromatograficznym (QSRR) do wspierania identyfikacji izomerów geometrycznych. W ostatnim etapie wykorzystano także technikę regresji cząstkowych najmniejszych kwadratów do ilościowego opisu stabilności metabolicznej w grupie analogów arylopiperazyny.

Uzyskane wyniki stanowią oryginalny wkład w stan wiedzy z zakresu metabolizmu dwóch badanych grup chemicznych. Natomiast opisane procedury badawcze zostały skonstruowane w sposób umożliwiający ich zastosowanie do badania właściwości innych grup związków, co nadaje pracy możliwość praktycznego wykorzystania jej wyników w innych projektach z dziedziny chemii leków.

# Abstract

The metabolism of xenobiotics is a biochemical phenomenon occurring naturally in the human body. Drugs are a special type of xenobiotics, and their metabolism may lead to the clinically significant effects, such as an increase or decrease in the activity of the drug, the induction of adverse effects or drug interactions. Available statistics indicate that progress in the field of metabolic studies of potential drug significantly reduced the probability of a withdrawal of the drug for reasons connected with this phenomenon. Moreover, there is a growing interest in developing computational techniques of *in silico* prediction of metabolic properties of drug candidates. Those techniques are, in comparison to *in vitro* and *in vivo* studies, usually characterized by a lower cost of implementation and reduced time to obtain results.

The submitted doctoral dissertation is focused on the case of two distinct chemical groups: cytotoxic benzenesulfonamide derivatives and arylpiperazine analogs designed for potential use in the treatment of depression and anxiety. The dissertation proposes several workflows that with the help of chemometric techniques support, or assist decision making process on the selection of a drug candidate for beneficial properties at an early stage of preclinical studies. The study produced a series of original results in the field of biochemistry, and proposes types of biotransformation in the studied group of benzenesulfonamide derivatives. The dissertation also describes the occurrence of geometric isomerization in this group of compounds. In the arylpiperazines derivatives group of compounds, metabolic stability was assessed quantitatively and the resulting metabolic half-life was compared with that obtained for the reference compound - buspirone. Some of the tested compounds was characterized by stability several times higher than obtained for buspirone.

In the consecutive stages of the doctoral dissertation several schemes of interdisciplinary research workflows were proposed. The workflows include molecular modeling, biochemical and chromatographic experiments (including the use of mass spectrometry) and comprehensive data analysis using chemometric techniques. Proposed procedures include: the use of principal component analysis (PCA) to multivariate analysis of the activity and molecular descriptor data matrixes to search for relationships between chemical structure and biological activity; the use of multiple stepwise regression model to develop QSAR – quantitative relationship between the structure and biological activity; the

application of methodology of constructing models of relationship between chemical structure and chromatographic retention (QSRR) to support the identification of geometric isomers. In the last step partial least squares regression was used to quantitatively describe the metabolic stability of a group arylpiperazine analogues.

Firstly, the obtained results are an original contribution to the state of knowledge of the metabolism of the two group of drug candidates. On the other hand, the described research workflows have been designed in a way, so that they can be further applied to study the properties of other classes of compounds. This gives the opportunity of the practical implementation of the results in other projects in the field of medicinal chemistry.