

УДК 615.012.1:547.789.1

СТВОРЕННЯ ІННОВАЦІЙНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ (ПІДХОДИ ТА МЕТОДОЛОГІЯ *DRUG DESIGN*) – ОДНЕ З КЛЮЧОВИХ ПИТАНЬ СУЧАСНОЇ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ОСВІТИ

А.П.Крищишин, Д.В.Камінський, Р.Б.Лесик

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького
79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69. E-mail: dr_r_lesyk@org.lviv.net; roman.lesyk@gmail.com*Ключові слова: drug-design (конструювання ліків); медична хімія; комп'ютерні технології; освіта*

Представлені сучасні підходи до створення інноваційних лікарських засобів на основі малих молекул (*small molecules*), об'єднаних у систему досліджень – *drug design* (конструювання ліків). Представлені найпоширеніші концепції та етапність процесів створення інноваційних лікарських засобів з використанням концепції «від ідеї – до препарату». Показано важливість та роль комп'ютерних (*in silico*) методів у створенні лікарських засобів, що відображено у прийомах CADD (*computer assisted drug design*), наприклад: QSAR-аналіз, докінгові дослідження, молекулярне моделювання, оцінка подібності, лікоподібність тощо). Висвітлені підходи на сучасному етапі є домінуючими у створенні інноваційних ЛЗ та є предметом постійного інтересу наукової спільноти. Більшість основних моментів є інтегрованою в навчальні курси студентів-фармацевтів (на рівні PharmD та MS у західних країнах) в рамках дисципліни Медична хімія (*Medicinal Chemistry*) та представлена в авторитетних підручниках. Натомість в Україні ці питання практично залишені поза увагою та начальною програмою підготовки провізорів. Показана необхідність висвітлення сучасного стану проблематики створення лікарських засобів при підготовці студентів-фармацевтів, враховуючи принцип цілісності фармацевтичної галузі та опираючись на задану холистичну концепцію «від ідеї – до препарату». Це дозволить ліквідувати розбіжності (і/або гармонізувати їх) між «західною» та пострадянською системами освіти, зокрема і в контексті викладання медичної/фармацевтичної хімії. Один з можливих варіантів вирішення такої ситуації є запроваджений нами курс «Комп'ютерні технології у фармації» (для студентів 4-го курсу), який дає можливість вивчення загальних підходів сучасного *drug design*.

CREATION OF INNOVATIVE DRUGS (APPROACHES AND METHODOLOGY OF DRUG DESIGN) – ONE OF THE MAIN ISSUES OF THE MODERN PHARMACEUTICAL EDUCATION

A.P.Kryshchshyn, D.V.Kaminsky, R.B.Lesyk

Key words: *drug design; medicinal chemistry; computer technology; education*

The article is devoted to modern approaches to the creation of innovative drugs based on the so-called small molecules combined into the research system – *drug design*. The most common concepts and phasing of the processes of the innovative drug creation based on the concept “from idea – to a drug” are presented. The importance and role of the computer (*in silico*) methods in creating drugs reflected in CADD (*computer assisted drug design*) methods, for instance: QSAR-analysis, docking studies, molecular modeling, assessment of similarity and druglikeness, etc.) are discussed. Currently, being the permanent subject of interest of the scientific community, the approaches described are dominant in creating innovative drugs. Most of the major issues are integrated in training of pharmacy students (PharmD and MS levels in Western countries) within the discipline “Medicinal Chemistry” and are described in authoritative textbooks. At the same time, practically no attention is paid to these issues in Ukraine, and they are beyond the curricula for pharmacy students. There is the necessity of coverage of the current state of drug creation when training pharmacy students taking into account the principle of integrity of the pharmacy branch and based on the “from idea – to a drug” holistic concept mentioned. It allows to fill in the gaps between “western” and post-Soviet education systems (and/or their harmonization), especially in the context of teaching Pharmaceutical/Medicinal Chemistry. One of the possible solutions is our course “Computer Technology in Pharmacy” (for the 4th year students) covering the main milestones of drug design.

СОЗДАНИЕ ИННОВАЦИОННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ (ПОДХОДЫ И МЕТОДОЛОГИЯ *DRUG DESIGN*) – ОДИН ИЗ КЛЮЧЕВЫХ ВОПРОСОВ СОВРЕМЕННОГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ

А.П.Крищишин, Д.В.Каминский, Р.Б.Лесик

Ключевые слова: *drug-design (конструирование лекарств); медицинская химия; компьютерные технологии; образование*

В работе представлены современные подходы к созданию инновационных лекарственных средств на основе так называемых малых молекул (*small molecules*), которые объединены в систему исследований *drug design* (конструирование лекарств). Представлены самые распространенные концепции и этапность процессов создания инновационных лекарственных средств (ЛС) с использованием концепции «от идеи – к препарату». Показана значимость и роль компьютерных (*in silico*) методов в создании лекарственных средств, что отражено в приемах CADD (*computer assisted drug design*), например: QSAR-анализ, докинговые исследования, молекулярное моделирование, оценка сходства, *druglikeness* и т. д.). Рассмотренные подходы на современном этапе являются доминирующими в создании инновационных ЛС и являются предметом постоянного интереса научного сообщества. Большинство основных моментов интегрированы в учебные курсы студентов-фармацевтов (на уровне PharmD и MS в западных странах) в рамках дисциплины Медицинская химия (*Medicinal Chemistry*) и представлены в авторитет-

ных учебниках. В Украине же эти вопросы практически оставлены без внимания и за рамками учебных программ подготовки провизоров. Показана необходимость освещения современного состояния проблематики создания лекарственных средств при подготовке студентов-фармацевтов, учитывая принцип целостности фармацевтической отрасли и опираясь на упомянутую холистическую концепцию «от идеи – к препарату». Это позволит ликвидировать разногласия (и/или гармонизировать их) между «западной» и постсоветской системами образования, в том числе и в контексте преподавания медицинской/фармацевтической химии. Один из возможных вариантов решения такой ситуации является введенный нами курс «Компьютерные технологии в фармации» (для студентов 4-го курса), который дает возможность изучения общих подходов современного drug design.

Світ з кожним роком стає все динамічнішим, інноваційні технології впроваджуються буквально у всі сфери життєдіяльності людини, і фармацевтична галузь не є виключенням [1]. Фахівці фармацевтичної індустрії повинні володіти широкими знаннями як у царині фундаментальних фармацевтичних/медичних наук, так і бути обізнаними із сучасними методами та підходами до створення лікарських засобів (ЛЗ). На жаль, роль сучасного провизора в Україні на сьогодні зводиться до реалізації лікарських засобів, і лише незначний відсоток спеціалістів після закінчення ВНЗ працює в галузі створення/виробництва лікарських засобів. Проте саме створення інноваційних лікарських засобів є одним з головних завдань фармацевтичної галузі, враховуючи принцип її цілісності та роль фармакотерапії в системі охорони здоров'я [2]. Питанням розробки інноваційних лікарських засобів (не слід плутати із синтезом/виробництвом вже відомих) приділяється дуже мало уваги, в тому числі і в процесі навчання як студентів фармацевтичних факультетів, так і на рівні післядипломної освіти провизорів в Україні. Тому холистична концепція «від ідеї – до препарату» є базисною як для фармацевтичної галузі загалом, так і в навчанні майбутніх фахівців зокрема.

Метою даної роботи є відображення спроб впровадження даної концепції у навчальний процес студентів-фармацевтів для модернізації (і/або гармонізації із західними зразками) фармацевтичної освіти в Україні.

На сьогодні однією із вдалив ілюстрацій наведеної вище концепції, на наш погляд, може служити силденафіл, історія впровадження і використання якого включає: фундаментальні дослідження ролі оксиду азоту; дослідження родини фосфодіестераз; дизайн високоафінних/селективних інгібіторів; доклінічні та клінічні дослідження; впровадження Viagra® для лікування еректильної дисфункції; впровадження генериків та аналогів; продовження досліджень артеріальної/легеневої гіпертензії (в тому числі NO-асоційованих процесів); впровадження Revatio® для лікування легеневої артеріальної гіпертензії.

Сучасні підходи та методологія створення інноваційних лікарських засобів

В останні десятиліття сучасна фармацевтична індустрія відчуває нестачу нових унікальних

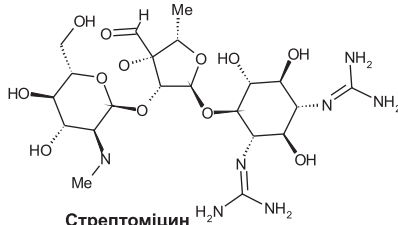
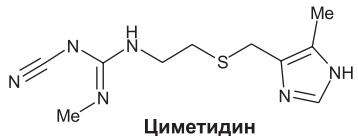
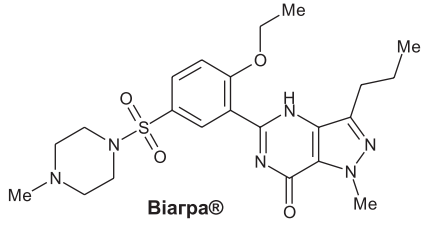
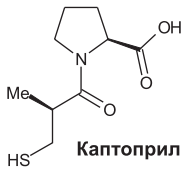
препаратів [3]. Одна з найважливіших причин зменшення кількості нових ЛЗ пов'язана з уже досягнутими високими терапевтичними стандартами. У теперішній час дослідження зосереджуються на пошуках середників для лікування хронічних дегенеративних та інших «соціально-значущих» захворювань, таких як ішемічна хвороба серця, хвороба Альцгеймера, артрити, рак, СНІД та ін. Високі вимоги до ефективності та безпечності ЛЗ також суттєво впливають на зниження темпів створення останніх. Тому актуальним завданням науково-дослідницького сектора фармацевтичної галузі стала генерація/реалізація принципово нових підходів до створення оригінальних лікарських субстанцій, що базуються на сучасній біотехнології, генній інженерії, удосконаленій методології фармацевтичного органічного синтезу тощо. Есенціальним у створенні будь-якого лікарського засобу є розуміння згаданого шляху «від молекули – до препарату» як безперервного процесу, що на різних етапах залучає всі сектори фармацевтичної галузі: від науково-освітнього до виробництва і постмаркетингових досліджень.

Процес створення нових ЛЗ можна умовно поділити на наступні фази: 1) пошук і конструювання сполук-лідерів (lead-compounds) (базових сполук), оптимізація сполук-лідерів (створення кандидатів на лікарський засіб (drug-candidates); 2) доклінічні дослідження; 3) клінічні дослідження; 4) впровадження лікарського засобу в медичну практику; 5) постмаркетингові дослідження. Причому реалізація перших трьох етапів в середньому охоплює 10-12 років і затрати, що перевищують мільярд доларів.

Бурхливий розвиток молекулярної біології, комп'ютерної хімії, як і еволюція форм та методів медичної/фармацевтичної хімії докорінно змінили підходи до створення нових ЛЗ, які, у свою чергу, трансформувалися і були об'єднані у систему наукових досліджень – drug design (конструювання ліків) з використанням великого спектра *in silico* (комп'ютерних) методів. Ключовим моментом усіх підходів drug design є спрямований синтез сполук-лідерів, кандидатів на лікарські засоби та наступна їх оптимізація з врахування усіх ADME/Tox (Absorbption – абсорбція, Distribution – розподіл, Metabolism – метаболізм, Elimination – виділення, Toxicity – токсичність) параметрів [4-8]. Різноманіття підходів у створенні нових лікарських

Таблиця 1

Основні стратегії пошуку інноваційних ЛЗ

Концепція	Основний зміст	Приклади успішного використання
Тотальний скринінг	Систематичний скринінг великого набору сполук, які довільно вибираються з усіх можливих/доступних варіантів	 <p>Стрептоміцин</p>
Модифікація і удосконалення молекул ЛЗ	Розпочавши з відомих активних сполук, через хімічні трансформації можна одержати нові сполуки з більшою ефективністю і безпечністю, кращою специфічністю і в формі, яка є легшою для застосування	 <p>Циметидин</p>
Використання інформації, яка з'являється в результаті досліджень у галузі біології і медицини	В основу покладені клінічні спостереження побічних (не основних) ефектів ЛЗ чи сполук на етапі клінічних досліджень	 <p>Віагра®</p>
Логічний дизайн діючої речовини	Базується на детальному знанні патологічної дисфункції на молекулярному рівні, особливо пов'язаних з ідентифікацією і структурним дослідженням нових рецепторів чи ензимів, «задіяних» при розвитку певного захворювання	 <p>Каптоприл</p>

засобів на основі ретроспективного аналізу узагальнено у наступній концепції (табл. 1) [4, 9].

Сьогодні на фармацевтичному ринку домінують ліки на основі так званих малих молекул (small molecules) і більш ніж 80% кандидатів на лікарські засоби та сполуки, що проходять клінічні дослідження, якраз і є такими низькомолекулярними сполуками. Висока вартість розробок та виробництва «біологічних лікарських засобів» і надалі залишає відкритий простір для розвитку ЛЗ на основі дешевих малих молекул [3]. Тим не менше, для розробки доступних та ефективних препаратів на сьогодні виділяють наступні аспекти: *i*) різке скорочення витрат виробництва біологічних препаратів; *ii*) суттєве «поліпшення ліків» при застосуванні комп'ютерних та комбінаторних методів; *iii*) повернення до масштабних досліджень природних продуктів як джерел ЛЗ; *iv*) створення ЛЗ шляхом раціонального дизайну структури молекули та застосування біоміметиків, що, можна сподіватись, буде супроводжуватися «серендипністю» (явище випадкового знаходження чогось вдалого, особливо коли людина шукає щось інше) та інтуїцією дослідників [9].

На межі між біоміметичним підходом та раціональним дизайном ліків є синтез так званих

гібридних молекул із подвійним механізмом дії для одержання нових ефективних ЛЗ. З такої точки зору гібридна молекула визначається як сполука з двома структурними доменами, які мають різні біологічні ефекти та, ймовірно, подвійну активність; це означає, що гібридна молекула може діяти як два різних фармакофори [10-12].

Аналіз структур різноманітних ЛЗ привів медичних хіміків до ідентифікації деяких молекулярних фрагментів, з якими висока біологічна активність пов'язана частіше, ніж з іншими структурами. Такі молекулярні фрагменти були названі привілейованими структурами (privileged scaffold), маючи на увазі суб-структури, які володіють активністю відносно двох чи більше рецепторів. Зміст цього визначення полягає в тому, що привілейовані структури надають основу для молекули, а зміна субституентів у них надає специфічності до конкретного рецептора [13, 14]. Прикладом такого підходу є блокатори кальцієвих каналів, які вміщують дигідропіридиновий фрагмент, що належить до привілейованих структур.

Розробка ЛЗ включає в себе також покращення фармацевтичних і фармакокінетичних властивостей активної сполуки для того, щоб зробити його зручним для клінічного застосування. При цьому інколи необхідно вдаватися до структур-

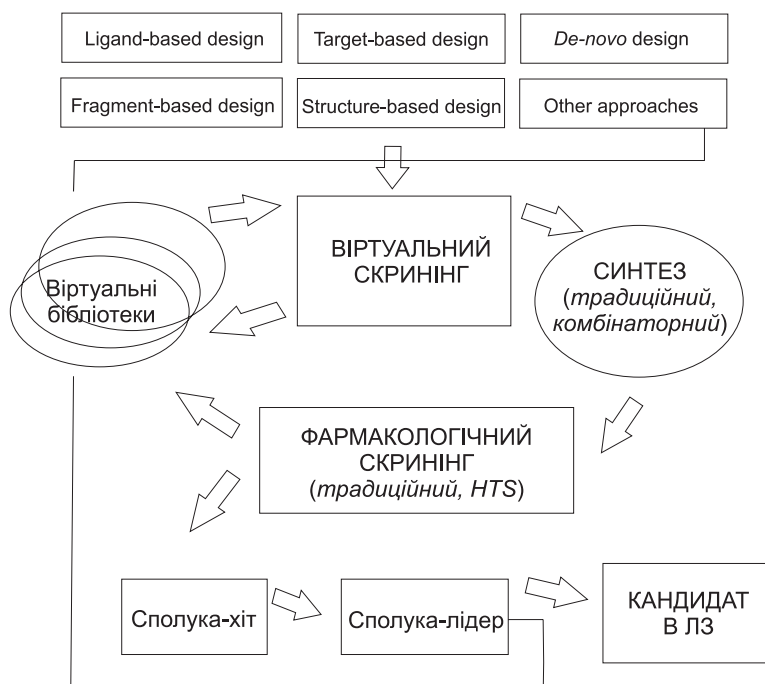


Рис. Взаємозв'язок сучасних підходів у конструюванні лікарських засобів.

ної модифікації і навіть синтезу нових структур. В цьому випадку використовують наступні можливі підходи:

- створення *біоізостерних сполук* (біоізостер – хімічна група, здатна замінити іншу хімічну групу, не суттєво змінивши при цьому тривимірну молекулярну структуру і тим самим фізіологічну активність);

- створення *проліків* (pro-drugs) – сполук, які не проявляють виразної фізіологічної активності, але здатні перетворюватися на активні сполуки шляхом ферментативної реакції або хімічним (без участі білкового каталізатора) шляхом. Прикладом може служити азатіоприм, який є проліком 6-меркаптопурину [15, 16], еналаприл тощо;

- створення *м'яких ліків* (soft drugs) – сполук, фармакологічний ефект яких локалізований у визначеному місці. Цей прийом був використаний при створенні протиглаукомних лікарських засобів [17];

- біфармакофорний підхід, що полягає у створенні *подвоєних ліків* (twin drugs) – фізіологічно активних сполук, молекула яких містить дві ковалентно з'єднані фармакофорні групи [18]. Класичним прикладом такого підходу є симетрична бінарна молекула BDHP, активність якої приблизно в 10 разів більша, ніж активність її моноскладової – нітрендипіну (антагоніста кальцієвих каналів). Крім того, подвоєні ліки можуть містити неідентичні молекулярні фрагменти. Так, можлива побудова складних *бінарних структур* (double drug), які вміщують декілька функціонально значущих частин молекули (фармакофорних угруповань) з різними біологічними механізмами впливу. Зважаючи на спільні риси зазначених підхо-

дів та неоднозначність у трактуванні, всі наведені групи об'єднують терміном *co-drug* [15];

- *селективна оптимізація побічних ефектів* відомих засобів – стратегія цього підходу базується на факті, що всі ліки впливають на велику кількість рецепторів/ферментів (відомих і невідомих) (т. з. поліфармакологічний підхід). На певні рецептори/ферменти лікарські засоби можуть впливати сильно, а на інші – слабо чи взагалі не впливати. Селективна оптимізація побічної активності передбачає модифікацію структури активної речовини з метою посилення ефекту на ті рецептори/ферменти, на які вона діяла слабо, та зменшення або усунення попередньої основної дії [9].

До зародження сучасної синтетичної органічної хімії метою дослідників на першій стадії було створення окремих речовин максимально можливої чистоти. Багато нових органічних молекул у такий спосіб розглядалися як попередники ліків для вивчення біологічної активності. Зрозуміло, що такий процес був довготривалим у часі і вимагав великих коштів. Останнім часом впроваджено ряд новітніх технологій, які радикально змінили початковий етап створення лікарських засобів. Серед них: *комбінаторна хімія* (combinatorial chemistry); *тотальний високоефективний скринінг* (high throughput screening – HTS) [19]; *віртуальний скринінг* (Virtual Screening) [20]; *молекулярне моделювання* (Molecular Modelling); *автоматизація процесів синтезу, очистки та скринінгу* (Automation) (рисунок). Названі сучасні підходи використовуються на всіх рівнях процесу конструювання лікарських засобів (drug design).

Побудова бібліотек сполук. Процес створення бібліотек речовин у цілому може розглядати-

ся як ітераційна процедура, коли одна бібліотека стає основою для створення нової, і складається з наступних етапів:

- планування бібліотеки;
- відбір структурних блоків (building blocks);
- хімічна апробація синтезу;
- синтез бібліотеки;
- біологічний скринінг;
- ідентифікація активних сполук;
- доведення активності;
- інтерпретація результатів.

При плануванні бібліотеки, в першу чергу, визначають ціль проведення скринінгу. Підхід на основі підбору ліганду до мішені, будова якої невідома, і немає відомостей про структуру сполук, здатних з нею зв'язуватися, називається «скринінг навмання» – random screening. Такий скринінг передбачає перевірку активності великої різноманітності структур, в результаті чого буде отримана величезна бібліотека або сукупність декількох дрібніших, тобто скринінг зведеться до виявлення активності в «океані неактивності». На противагу цьому цільові (directed or focused) бібліотеки містять споріднені структури, що, як правило, відрізняються тільки замісниками і мають значно менший розмір порівняно з масивами для broad або random screening. При цьому всі складові бібліотеки, як правило, володіють активністю, і вибір зводиться до ідентифікації сполук з найвищою афінністю до біомакромолекули. Способи конструювання бібліотек цих двох типів відрізняються кількістю використовуваних структурних блоків, розміром носіїв, стратегією декодування. Слід звернути увагу на те, що дані характеристики стосуються як реальних, так і віртуальних бібліотек сполук, в останньому випадку синтетична частина опускається, а всі експериментальні дослідження замінені на *in silico* імітації та прогнозування.

Комбінаторна хімія. Сьогодні термін «комбінаторна хімія» [21] застосовується до стратегії синтезу великих масивів органічних сполук і визначається як сукупність високотехнологічних методів, що дозволяють отримати за короткий термін часу від декількох сотень до десятків тисяч речовин. Згідно з номенклатурою ІЮПАК комбінаторна хімія використовує комбінаторний процес для приготування набору сполук з рядів building blocks, які також можна вважати прикладами комбінаторних бібліотек, загаданих вище. Комбінаторний синтез – це синтез великих рядів сполук у мікрокількостях для подальшого, як правило, високоефективного скринінгу. Комбінаторні бібліотеки можуть бути масивами індивідуальних речовин і/або сумішей, їх зручно описувати за допомогою загальної формули, яка отримала назву scaffold. Scaffold – це базова структура, в різ-

них положення якої варіюються замісники, так звані точки рандомізації. Наприклад, scaffold, в якому три різні замісники (R^1 - R^3 по 10 варіантів кожен) описує бібліотеку з 1000 сполук. Синтетичні підходи комбінаторної хімії класифікуються на дві категорії: паралельний синтез (parallel synthesis); синтез за методом «діли та змішуй» (portioning-mixing або «split & mix» method). Останній базується на процедурі Мерріфілда. Синтез виконується шляхом повторення трьох простих операцій: поділ твердого носія на рівні порції \Rightarrow взаємодія кожної порції індивідуально з відповідними мономерами (напр., амінокислотами) \Rightarrow гомогенне змішування порцій. *Паралельний синтез* спрямований на одержання індивідуальних речовин. При цьому ряди сполук готуються одночасно в масивах фізично відокремлених реакційних посудин чи мікроріакторів без взаємозміни протягом взаємодії реагентів. Усі операції, в т. ч. усунення захисних груп, сполучення, промивання і навіть розкладення, проводяться, як правило, на твердому носії [21-23].

Високоефективний фармакологічний скринінг. Для того, щоб дослідити величезну кількість зразків, яку здатна генерувати комбінаторна хімія за порівняно короткий час, потрібні автоматичні методи швидкого біологічного скринінгу. Таким методом є високоефективний скринінг сполук [24]. Цей аналіз включає, як правило, «проби» на ферментну активність, дію на клітинні рецептори (імунофлуорисцентний та радіоімунний метод) з використанням надмалих кількостей субстанцій (пікомолі). Використання роботизованої техніки, що контролюється відповідним програмним забезпеченням, чутливі детектори та комп'ютеризована обробка даних дозволяють досліднику швидко проводити мільйони хімічних, генетичних і фармакологічних тестів. Результати цих експериментів дозволяють створення не тільки бази активних сполук для розробки ліків, але й отримання інформації для розуміння взаємодії або ролі конкретного біохімічного процесу в біології.

Зважаючи на вищесказане, ключовим моментом в drug design є використання комп'ютерних технологій та уніфікація методів представлення/обробки хімічної структури речовин, що реалізується шляхом використання специфічних хімічних програмних пакетів (наприклад, ChemOffice Ultra 2005 v.9.0 (<http://www.cambridgesoft.com>, CambridgeSoft, Commercial; ChemWindow 5.1 (FreeWare)/6.0 (Commercial) (www.softshell.com / www.bio-rad.com та ін.). Існують різні типи файлів для представлення хімічної структури та роботи зі специфічною хімічною інформацією (.cml – CML (Chemical Markup Language), .sdf – SDF (Structural Data format), .pdb – PDB (Protein Data Bank), .skc – IsisDraw file, .smiles,

.*smi* – SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry Specifications), *mol* – MDL Molfile, *hin* – HyperChem HIN file тощо), які використовуються для реалізації різних завдань у різних сферах, таких як обробка та побудова бази даних хімічних структур, програми візуалізації, моделювання чи молекулярного докінгу [25].

Віртуальний скринінг. Віртуальний скринінг – це відбір та відсіювання речовин у межах віртуальних бібліотек з використанням різних дескрипторів, фільтрів, теорій, алгоритмів тощо і, як правило, відповідного програмного забезпечення для знаходження потенційних біологічно активних сполук серед віртуально можливих. Крім того, іншим можливим використанням віртуального скринінгу є прогнозування біологічної активності віртуальних сполук. Перед початком скринінгу, як правило, необхідно ідентифікувати мішень (мету), на яку має бути скерована дія майбутнього лікарського засобу. Цей принцип лежить в основі т. з. мішень-орієнтованого (target-based design) віртуального скринінгу [26]. Коли мішень є обраною, наприклад, певний рецептор/ензим, створюється віртуальна бібліотека з великою кількістю різноманітних сполук. Після цього, власне, і стартує віртуальний скринінг. Основними мішенями для існуючих лікарських засобів є клітинні та ядерні рецептори, ферменти, гормони та клітинні/тканинні фактори, іонні канали, ДНК [27, 28].

Методологія віртуального скринінгу включає ряд етапів відсіву сполук за різними критеріями. Очевидно, що виділення етапів віртуального скринінгу є умовним і включає різні варіанти їх комбінацій та черговості. Розглянемо спрощений приклад етапів процедури віртуального скринінгу.

1. REOS (Rapid Elimination Of Swill) – це початковий крок комп'ютерного відбору, який включає відсів абсолютно непридатних речовин. За допомогою цього методу відкидаються сполуки, що не можуть існувати фізично, містять токсикофори, хімічно та фармакологічно несумісні угруповання і не мають в своїй структурі жодного фармакофору або біологічно активного фрагменту. Такий варіант відбору є актуальним тільки для т. з. загальних (незфокусованих) бібліотек (див. вище). Слід відзначити, що для досягнення кардинального зменшення об'єму бібліотеки при відборі REOS використовують кілька припущень, які дозволяють значно скоротити поле пошуку. Наприклад, при необхідності створення сфокусованої лікоподібної бібліотеки (drug-like library), внесення речовин у бібліотеку потрібно проводити на основі аналогії з сучасними ЛЗ, фармакофорною теорією тощо [28, 29]. Оскільки простір пошуку є дуже великим, потрібно уникнути пастки повного перелічування віртуальної бази даних.

Для виходу з названої ситуації використовують поняття сполуки-лідера (див. нижче) і відповідно до її структури проводять відбір. Якщо ж структура речовини-лідера невідома, тоді проводять фармакологічний скринінг випадкової вибірки речовин з бази, найбільш активні сполуки приймають як сполуки-лідери та проводять відбір відносно їх структури.

2. Оцінка подібності структури. Наступним кроком віртуального скринінгу може бути оцінка подібності структури (наприклад, 2D подібності) до існуючих ліків або біологічно активних речовин. При опрацюванні 2D-структури оцінюється наявність фармакофорів згідно з фармакофорною теорією. Для проведення цього процесу використовуються спеціальні комп'ютерні програми. Так, CONJURE (Vertex Pharmaceuticals) здатна обробити до 100000 речовин за годину на одній робочій станції. Крім цього, при 2D-скринінгу відбувається перевірка на 2D-подібність, при якій сполуки бібліотеки, що пройшли попередній відсів, порівнюються із структурою сполуки-лідера (якщо вона була попередньо встановлена). Варто зазначити, що REOS і 2D-скринінг є практично незалежними одне від одного, тому вони можуть проводитися як в зазначеному порядку (REOS – 2D), так і навпаки. Ілюстративним прикладом може служити російська розробка – PASS C&T (Prof. V. Poroikov <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/>) [30].

3. Оцінка 3D конформацій. Молекулярний докінг. На цьому етапі віртуального скринінгу створюються об'ємні конформації речовин (власне молекулярне моделювання) для порівняння зі структурою рецепторів, на які повинен впливати ЛЗ. Спочатку моделюється тривимірна структура рецептора, потім – тривимірна структура речовин бази, після чого проводять 3D-скринінг (порівняння структур). Особливістю названого етапу є те, що кількість кандидатів не зменшується, а збільшується внаслідок моделювання можливих енантіо- та конформерів. Також на цьому етапі використовують поняття подібності та різноманітності (similarity and diversity), тобто, практично ідентичні за 3D-структурою сполуки (відмінний лише один замісник або речовина, як ліганд, в об'ємному відношенні еквівалентна іншим сполукам) відсіюються з віртуальної бібліотеки при надто великому її об'ємі (т. з. pooling). Ілюстративним підходом цього етапу є молекулярний докінг – розрахункова процедура суміщення тривимірної структури досліджуваної сполуки/сполук з активним центром мішені для встановлення стійкості комплексу ліганд-мішень, а отже розрахунку значення афінності ліганду. Докінг може проводитись при наявності інформації про структуру рецептора-мішені, а також його активно-го центру [31] (табл. 2). Як джерела даних щодо

Таблиця 2

Програмне забезпечення для молекулярного докінгу

Програмне забезпечення	Застосування	WWW
DOCK [®]	Протеїн-ліганд докінг, протеїн-протеїн докінг, протеїн-нуклеїнова кислота докінг, structure-based дизайн [33]	http://dock.compbio.ucsf.edu/
AutoDock [®]	Протеїн-ліганд докінг, дизайн комбінаторної бібліотеки, structure-based дизайн	http://www.scripps.edu/mb/olson/doc/autodock
FlexX [®]	Протеїн-ліганд докінг, structure-based дизайн	http://www.biosolveit.de/FlexX/ http://www.tripos.com
GOLD [®]	Протеїн-ліганд, ДНК(РНК)-ліганд, structure-based дизайн	http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/life_sciences/gold/
Glide [®]	Протеїн-ліганд докінг, віртуальний скринінг, прогнозування виду зв'язування, structure-based дизайн	http://www.philscience.com/schrodinger/Glide.htm
FRED [®]	Протеїн-ліганд докінг, прогнозування виду зв'язування	http://www.eyesopen.com/products/applications/fred.html
ICM [®]	Протеїн-ліганд докінг, протеїн-протеїн докінг, structure-based дизайн	http://www.molsoft.com/docking.html

структури останніх найчастіше використовується Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org>).

Загальна методологія проведення скринінгу з використанням докінгових досліджень, як правило, включає: *i*) підготовку бази сполук (вибір бібліотеки, протонування (імітація фізіологічного рН), конвертування в 3D); *ii*) вибір структури мішені (кристалграфічна модель, ЯМР або гомологічна модель); *iii*) «фільтрування» бібліотеки (наприклад, правила Ліпінського, фармакофорні моделі тощо); *iv*) визначення місця зв'язування (місце зв'язування ліганду з каталітичним центром, місця білок-білкових взаємодій); *v*) докінг для передбачення конформації та орієнтації ліганду в місці зв'язування; *vi*) скоринг, для оцінки енергії взаємодії між мішенню і лігандом; *vii*) проведення дослідження біологічної активності сполук-лідерів; *viii*) кореляція скорингових та експериментальних даних; *ix*) ключова оптимізація.

4. *Розрахункова стадія.* На цьому етапі віртуального скринінгу обчислюються фізико-хімічні властивості речовин, хімічна активність, токсичність, оцінюються прогнозовані значення фармакокінетичних параметрів. Після прогнозування відсіюють речовини з незадовільними значеннями названих параметрів. Враховуючи необхідність прогнозування токсичності сполук на ранніх стадіях розробки ЛЗ, розроблено ряд методів оцінки цього важливого параметра. Так, ряд експертних систем працює на основі взаємозв'язку структура – активність/токсичність. Зокрема, для створення моделей структура-LD₅₀ використовують пакети DEREK, OncoLogic. Інші системи побудовані на базі математичних і статистичних (метод QSAR в програмах TOPKAT, dbToxPre) або індуктивних (програма MultiCASE/CASE) моделей. Стратегія віртуального скринінгу на розрахунко-

вому етапі часто використовує QSAR аналіз (Quantitative Structure-Activity Relationships – кількісний взаємозв'язок між структурою та активністю) – виявлення залежності між фармакологічною дією сполук і їх фізико-хімічними властивостями в певній групі речовин і опис її рівнянням [33, 34]. QSAR методологія характеризується широким впровадженням математичних методів для встановлення співвідношення між заданим видом активності органічних сполук і їх структурою у вигляді $A = fS$ (A – активність, S – структура представлена значеннями молекулярних дескрипторів, чисельних характеристик, які виражають структурні властивості молекули). У зв'язку з цим головна проблема QSAR полягає у виборі (бажано мінімального) набору дескрипторів, достатнього для опису заданої властивості. Одним із джерел дескрипторів є методи квантової хімії, що дозволять проводити розрахунки електронної структури і геометрії найрізноманітніших хімічних систем аж до моделювання ефектів середовища і взаємодії молекули з рецептором. З цією метою, одночасно з добре відомим *регресійним аналізом* застосовуються методи, пов'язані з класифікацією молекул за різноманітними класами активності. Особливе значення мають *факторні методи*. Одним із варіантів факторного аналізу є метод головних компонент – статистичний підхід, що дозволяє проаналізувати структуру взаємозв'язку елементів дескрипторного набору і, що дуже суттєво, зменшити його.

Термін «лікоподібність» (drug-like properties) останнім часом став звичним поняттям для фармації і, як правило, відображає прості фізико-хімічні та структурні властивості (молекулярні дескриптори), характерні для успішних лікарських засобів. Одними з найвідоміших лікоподібних ха-

рактики є правила Ліпінського (правило п'яти), які мають наступний вигляд: *i*) $\text{LogP} \leq 5$; *ii*) молекулярна маса ≤ 500 ; *iii*) здатність бути акцептором протону ≤ 10 ; *iv*) здатність бути донором протону ≤ 5 ; *v*) обертання зв'язків ≤ 8 [35-37]. Параметри *iii* та *iv* вказують на здатність сполуки утворювати зв'язки на «відповідній» ділянці біомолекули, параметр *v* характеризує «жорсткість» структури і вказує на об'єм речовини. Таким чином, названі критерії характеризують загальні особливості хімічної структури потенційного ЛЗ, враховуючи сорбцію, розподіл в організмі, метаболізм, елімінацію. Однак, слід відмітити, що ці правила були розроблені на основі пероральних ЛЗ, відповідно, кандидати в лікарські засоби для інших шляхів введення (довенний, внутрішньом'язовий, інгаляційний та ін.) потребують інших критеріїв оцінки лікоподібності. Тому відомі інші правила лікоподібності. Наприклад, Вебер та ін. [38] встановили, що більшість сполук з доброю пероральною біодоступністю мали менше, ніж 10 зв'язків, що обертаються (rotatable bonds), та площу полярної поверхні (polar surface area (PSA)) менше, ніж 140 \AA^2 . Хьюз та співавт. показали, що сполуки із значеннями logP меншими, ніж 3 та PSA більше, ніж 75 \AA^2 у 6 разів рідше спричиняють побічні реакції у *in vivo* дослідженнях толерантності, ніж сполуки, що не відповідали цим критеріям [39]; Ловерінг та колеги [40] доводять, що існує взаємозв'язок між т. з. «плоскістю» молекули, що залежить від кількості sp^3 гібридизованих атомів карбону, та ймовірністю її потрапляння до сполук-лідерів при пошуку ЛЗ.

Віртуальний скринінг не є 100% надійним методом пошуку нових ЛЗ, оскільки не завжди можна передбачити фізичні, хімічні та біологічні властивості сполук на основі їх структури. На етапі віртуального скринінгу багато активних сполук можуть бути відкинуті і не взяті до уваги, проте цей підхід є гідною спробою систематизувати принципи дії ЛЗ і оптимізувати оцінку великих баз речовин. У контексті вищезгаданих проблем актуальними є переваги *фрагмент-орієнтованого конструювання ЛЗ* (fragment-oriented drug design) [41]. Парадоксально, але фрагмент-орієнтований дизайн базується на скринінгу меншої кількості сполук (декілька тисяч) з метою пошуку низькоафінних фрагментів (із значеннями K_d в мікро- та мілімолярному діапазоні). На противагу загальноприйнятій фармакологічній скринінг намагається охопити якнайбільше сполук (як правило, мільйон чи більше) з метою пошуку потенційних сполук-лідерів (із значеннями K_d нижчими, ніж $1 \mu\text{M}$). Проте, припускаючи, що розмір «хімічного весвіту» знаходиться в межах 10^{60} , скринінг 10^6 сполук (що представляє досить велику локальну вибірку) ледве охоплює якусь частину

доступного хімічного простору. Ще однією проблемою «звичайного» скринінгу є факт, що велика частина більшості хімічних бібліотек включає сполуки, оптимізовані для відомих мішеней, що в майбутньому обмежує хімічне розмаїття бібліотек і, як наслідок, зменшує шанси виявлення нових сполук-лідерів. На противагу ймовірна кількість існуючих хімічних фрагментів є на багато порядків меншою – сполук із молекулярною масою меншою, ніж 160 Da є приблизно 14 мільйонів. Отже, скринінг фрагментної бібліотеки із 10000 сполук охоплює значно більший хімічно диверсифікований простір, ніж звичайний високоефективний фармакологічний скринінг. З іншого боку, структурно простіші молекули характеризуються вищою ймовірністю реалізації рівня зв'язування з біомакромолекулами (hit rates). Високі hit rates у цьому випадку є не лише наслідком просто вищих концентрацій, але й відображають ширше охоплення хімічного диверсифікованого простору. Отже, дослідження фрагментів (менших і структурно простіших молекул) у багатьох випадках може бути найкоротшим шляхом для досягнення балансу між потенційною біологічною активністю та оптимальними фармакокінетичними властивостями [41].

Таким чином, очікуваним результатом всіх вищезгаданих методів та алгоритмів пошуку нових біологічно активних сполук є отримання так званої «сполуки-лідера». *Сполука-лідер (lead-compound)* – це «структурний прототип» майбутнього ЛЗ, що характеризується визначеною фізіологічною активністю, на базі якої і буде створюватися препарат. Сполука-лідер повинна володіти бажаною біологічною активністю та бути придатною для подальшої структурної оптимізації. Крім того, сполука-лідер не повинна бути дуже полярною чи ліпофільною (для уникнення проблеми з біодоступністю), не містити токсикофори чи групи, що можуть утворювати токсичні метаболіти, а також не повинна незворотно (ковалентно) реагувати з біологічною мішенню. Оптимізація структури-лідера є еволюційним процесом. Будь-які суттєві чи незначні покращення властивостей молекули призводять до нових аналогів, які оптимізуються до отримання кандидата на лікарський засіб [37, 42].

Сполуки-лідери можуть бути отримані не тільки в процесі віртуального чи високоефективного фармакологічного скринінгу. Одними з найбагатших джерел біологічно активних сполук залишаються речовини природного походження, причому мова йде не тільки про рослинну сировину, але й про мікроорганізми, що можуть бути продуцентами як антибіотиків, так і інших класів ЛЗ. Підтвердженням цього є «класичні» приклади – серцеві глікозиди з роду наперстянки; мор-

фін – сполука-лідер для створення аналгетиків, протикашльових засобів, антагоністів морфіну, антидіарейних засобів та нейролептиків; саліцилова кислота володіє слабкою протизапальною дією, а її похідне ацетилсаліцилова кислота є незворотнім інгібітором циклооксигенази та використовується для профілактики тромбозів. До інших прикладів сполук-лідерів рослинного походження можна віднести алкалоїди кураре, папаверин, атропін, кокаїн. Крім речовин рослинного походження багатим джерелом лікарських засобів є ендогенні нейромедіатори. Майже кожна модифікація дофаміну, серотоніну, гістаміну та ацетилхоліну приводила до отримання сполук із зміненою активністю та селективністю, які часто ставали кандидатами на ЛЗ. Ряд ЛЗ був отриманий під час вивчення біохімічних механізмів (наприклад, дії гормонів – синтетичні кортикостероїди, комбінація естро- та гестагенів у протизапальних ЛЗ), «копіювання» існуючих лікарських засобів із незначними хімічними модифікаціями (створення ліків-клонів – що отримало назву *me too*). Часто такі аналоги можуть мати суттєві терапевтичні переваги, наприклад, стійкі до дії β-лактамази пеніциліни, діуретичні і протидіабетичні сульфаніламіди, полярні H_1 -антигістамінні препарати без

седативного ефекту тощо. Активно використовуються як джерела інноваційних ЛЗ вже впроваджені на ринок препарати, як наслідок, встановлюється можливість інших аспектів використання (наприклад, загаданий силденафіл – див. вище) [37].

Наведений перелік підходів та методів, що на сьогодні є домінуючими у створенні інноваційних ЛЗ, є предметом постійного зацікавлення наукової спільноти. Окрім того, більшість основних моментів є інтегрованими в навчальні курси студентів-фармацевтів (на рівні PharmD та MS) в рамках дисципліни Медична хімія (Medicinal Chemistry) [5] та представлені в авторитетних підручниках [4, 6, 7, 43]. На жаль, в умовах сьогодення українські студенти-фармацевти недостатньо ознайомлені з загальносвітовими тенденціями фармацевтичної галузі. Максимально наближеним (з формальної точки зору) до згаданого курсу Медичної хімії є Фармацевтична хімія, проте реалії свідчать про необхідність її реформування. Як спроба такого реформування та гармонізації освітніх програм, є запроваджений нами курс «Комп'ютерні технології у фармації» (для студентів 4-го курсу) [44-48], який дає можливість вивчення загальних підходів сучасного drug design.

Література

1. Cain J., Romanelli F. *Current Pharmacy Teaching and Learning*, 2009, Vol. 1(2), pp.66-70. doi: 10.1016/j.cptl.2009.10.001.
2. Rowland M., Noe C. R., Smith D. A., Tucker G. T., Crommelin D. J., Peck C. C., Rocci M. L. Jr., Besançon L., Shah V. P. *Journal of Pharmaceutical Science*, 2012, Vol. 101, No.11, pp.4075-4099. doi: 10.1002/jps.23295.
3. Kinch M. S., Haynesworth A., Kinch S. L., Hoyer D. *Drug Discovery Today*, 2014, Vol. 19, No.8, pp.1033-1039. doi:10.1016/j.drudis.2014.03.018.
4. Patrick G. L. *An introduction to medicinal chemistry*. 5th ed. – New York: Oxford University Press, 2013, 816 p. ISBN: 9780199697397.
5. Khan M. O., Deimling M. J., Philip A. *American Journal of Pharmaceutical Education*, 2011, Vol. 75, No.8, art.161. doi:10.5688/ajpe758161.
6. Abraham D. J. *Burger's medicinal chemistry and drug discovery*, Vol. 1, Drug discovery. 6th ed. – New Jersey: Wiley, 2003, 932 p. ISBN: 0471270903.
7. Abraham D. J. *Burger's medicinal chemistry and drug discovery*, Vol. 2, Drug discovery and drug development. 6th ed. – New Jersey: Wiley, 2003, 808 p. ISBN: 047370282.
8. Richon A. B. A. *Scrolling history of computational chemistry*. <http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature17b.html>.
9. Camille G. W. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2004, Vol. 47, No.6, pp.1303-1314. doi:10.1021/jm030480f.
10. Kaminsky D., Bednarczyk-Cwynar B., Vasylenko O., Kazakova O., Zimenkovsky B., Zaprutko L., Lesyk R. *Medicinal Chemistry Research*, 2012, Vol. 21, No.11, pp.3568-3580. doi:10.1007/s00044-011-9893-9.
11. Fortin S., Bérubé G. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 2013, Vol. 8, No.8, pp.1029-1047. doi:10.1517/17460441.2013.798296.
12. Meunier B. *Accounts of chemical research*, 2007, Vol. 41, No.1, pp.69-77. doi:10.1021/ar7000843.
13. De-Simone R. W., Currie K. S., Mitchell S. A., Darrow J. W., Pippin D. A. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 2004, Vol. 7, No.5, pp.473-493. doi:10.2174/1386207043328544.
14. Lesyk R. B., Zimenkovsky B. S., Kaminsky D. V., Kryshchishyn A. P., Havryluk D. Y., Atamanyuk D. V., Khylyuk D. V. *Biopolymers and Cell*, 2011, Vol. 27, No.2, pp.107-117. doi:10.7124/bc.000089.
15. Rautio J., Kumpulainen H., Heimbach T., Oliyai R., Oh D., Järvinen T., Savolainen J. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2008, Vol. 7, No.3, pp.255-270. doi: 10.1038/nrd2468.
16. Etmayer P., Amidon G. L., Clement B., Testa B. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2004, Vol. 47, No.10, pp.2393-2404. doi:10.1021/jm0303812.
17. Nicholas B., Buchwald P. *Medicinal Research Reviews*, 2000, Vol. 20, No.1, pp.58-101. doi: 0.1002/(SICI)1098-1128(200001)20:1<58::AID-MED3>3.0.CO;2-X.
18. Contreras J.-M., Bourguignon J.-J. *In The Practice of Medicinal Chemistry*. 2nd ed., ed. C. G. Wermuth. – London: Academic press, 2003, pp.251-273. doi: 10.1016/B978-012744481-9/50020-9.
19. Bolger R. *Drug Discovery Today*, 1999, Vol. 4, No.6, pp.251-253. doi:10.1016/S1359-6446(99)01356-2.
20. Juan A., Shoichet B. Eds. *Virtual screening in drug discovery*. – Boca Raton: CRC press, 2005, 496 p. ISBN 9781420028775.
21. Fenniri H. Ed. *Combinatorial chemistry a practical approach* – New York: Oxford University Press, 2000, 516 p. ISBN 9780199637546.
22. Lehn J. M. *Chemistry-A European Journal*, 1991, Vol. 5, No.9, pp.2455-2463. doi:10.1002/(SICI)1521-3765(19990903)5:9<2455::AID-CHEM2455>3.0.CO;2-H.
23. Ghose A. K., Viswanadhan V. N., Wendoloski J. J. *Journal of Combinatorial Chemistry*, 1991, Vol. 1, No.1, pp.55-68. doi:10.1021/cc9800071.
24. Janzen W. P., Bernasconi P. Eds. *High throughput screening: methods and protocols (Methods in molecular biology, Vol. 190)*. – Totowa, New Jersey: Humana Press Inc, 2002, 265 p. ISBN: 9780896038899. doi:10.1385/1592591809.
25. Tetko I. V. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 2003, Vol. 3, No.8, pp.809-820. doi:10.2174/1389557033487638.
26. Sams-Dodd F. *Drug Discovery Today*, 2005, Vol. 10, No.2, pp.139-147. doi:10.1016/S1359-6446(04)03316-1.
27. Shoichet B. K. *Nature*, 2004, Vol. 432(7019), pp.862-865. doi:10.1038/nature03197.
28. Walters W. P., Stahl M. T., Murcko M. A. *Drug Discovery Today*, 1998, Vol. 3, No.4, pp.160-178. doi:10.1016/S1359-6446(97)01163-X.
29. Walters W. P., Namchuk M. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2003, Vol. 2, No.4, pp.259-266. doi:10.1038/nrd1063.

30. Filimonov D. A., Lagunin A. A., Gloriovzova T. A., Rudik A. V., Druzhilovskii D. S., Pogodin P. V., Poroikov V. V. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 2004, Vol. 50 No.3, pp.1-14. doi:10.1007/s10593-014-1496-1.
31. Kitchen D. B., Decornez H., Furr J. R., Bajorath J. *Nature Reviews Drug discovery*, 2004, Vol. 3, No.11, pp.935-949. doi:10.1038/nrd1549.
32. Lyne P. D. *Drug Discovery Today*, 2002, Vol. 7(20), pp.1047-1055. doi:10.1016/S1359-6446(02)02483-2.
33. Puzyn T., Leszczynski J., Cronin M. T. Eds. *Recent advances in QSAR studies. Methods and applications. Challenges and Advances in Computational Chemistry and Physics*, 2010, Vol. 8, 432 p. doi:10.1007/978-1-4020-9783-6.
34. Kubinyi H. *Drug Discovery Today*, 1997, Vol. 2(11), pp.457-467. doi:10.1016/S1359-6446(97)01079-9.
35. Lipinski C. A., Lombardo F., Dominy B. W., Feeney P. J. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012, Vol. 64, pp.4-17. doi:10.1016/j.addr.2012.09.019.
36. Lipinski C. A. *Drug Discovery Today: Technologies*, 2004, Vol. 1(4), pp.337-341. doi:10.1016/j.ddtec.2004.11.007.
37. Borchardt R., Kerns E., Hageman M., Thakker D., Stevens J. Eds. *Optimizing the "drug-like" Properties of Leads in Drug Discovery*, Vol. 4. – New York: Springer, 2007, 511 p. ISBN: 978-0-387-34056-2. doi:10.1007/978-0-387-44961-6.
38. Veber D. F., Johnson S. R., Cheng H. Y., Smith B. R., Ward K. W., Kopple K. D. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2002, Vol. 45, No.12, pp.2615-2623. doi:10.1021/jm020017n.
39. Hughes J. D., Blagg J., Price D. A., Bailey S., DeCrescenzo G. A., Devraj R. V., Zhang Y. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2008, Vol. 18, No.17, pp.4872-4875. doi:10.1016/j.bmcl.2008.07.071.
40. Lovering F., Bikker J., Humblet C. *Journal of Medicinal chemistry*, 2009, Vol. 52(21), pp.6752-6756. doi:10.1021/jm901241e.
41. Hajduk P. J., Greer J. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2007, Vol. 6(3), pp.211-219. doi 10.1038/nrd2220.
42. Kubinyi H. *In search for new leads*. In: *EFMC – Yearbook 2003*. 2004: pp.14-28. (Also published in *Rossiiskii Khimicheskii Zhurnal (Rus. Chem. J.)*. 2006; Vol. 50(2), pp.5-17. (in Russian).
43. Beale J. M., Block J. H. Jr. Eds. *Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical chemistry*. 12th ed. – New York: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business, 2011, 1010 p. ISBN 978-0-7817-7929-6.
44. Lesyk R. B., Gromovyk B. P., Atamanyuk D. V., Subtel'na I. Yu., Soronovych I. I. *Farmaceutychnyj Zhurnal – Pharmaceutical Journal*, 2002, No.2, pp.33-39. (In Ukrainian).
45. Zimenkovsky B. S., Kryshchyshyn A. P., Kaminskyy D. V., Lesyk R. B. *Abstract book of Ukrainian conference "New Level of the Credit and Module System of the educational processes organization in the Medical(Pharmaceutical) Universities" 18-19 April 2013, Ternopil, pp.305. (In Ukrainian).*
46. Zimenkovsky B. S., Lesyk R. B., Kaminskyy D. V., Kryshchyshyn A. P., Atamanyuk V. V. *Computer technology in pharmacy. Tutorials for 4th course students*. – Lviv: LNMU, 2013, 66p. (In Ukrainian).
47. Kovalenko S. I., Lesyk R. B., Belienichev I. F. *Medychna Osvita – Medical education*, 2004, No.4, pp.27-30. (In Ukrainian). http://217.196.164.19/data/kafedra/journals/education/2004_2/all.pdf#page=27.
48. Lesyk R. B., Muzychenko V. P., Kazmirchuk H. V., Sementsiv H. M., Yaroshchuk S. M., Gnidets V. I. *Medychna Osvita – Medical education*, 2004, No.4, pp.24-26. (In Ukrainian). http://217.196.164.19/data/kafedra/journals/education/2004_2/all.pdf#page=24.

Надійшла до редакції 30.01.2015 р.