

**IOSUD – UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS” DIN GALAȚI**

**Școala doctorală de Inginerie Mecanică și Industrială**



**TEZĂ DE DOCTORAT**  
**REZUMAT**  
**METODE DE AUTOMATIZARE A**  
**CARACTERIZĂRII ȘI DETECȚIEI**  
**UNOR SUBSTANȚE**  
**BIODISPONIBILE**

**Doctorand,**

**Ing. Cristina NEDELUCU (PARASCHIV)**

**Conducător științific,**

**Prof. univ. dr. fiz. Mirela PRAISLER**

**Seria I 4 Inginerie industrială Nr. 100**

**GALAȚI**

**2024**

**IOSUD – UNIVERSITATEA „DUNĂREA DE JOS” DIN GALAȚI**

**Școala doctorală de Inginerie Mecanică și Industrială**



# **TEZĂ DE DOCTORAT**

**REZUMAT**

**METODE DE AUTOMATIZARE A CARACTERIZĂRII ȘI DETECȚIEI  
UNOR SUBSTANȚE BIODISPONIBILE**

**Doctorand**

**Cristina NEDELCU (PARASCHIV)**

**Președinte**

Prof. univ. dr. ing. Cătălin FETECĂU, Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați

**Conducător științific**

Prof. univ. dr. Mirela PRAISLER, Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați

**Referenți științifici**

Prof. univ. dr. ing. Gheorghe NAGÎȚ, Universitatea Tehnică „Gh. Asachi” din Iași

Prof. univ. dr. ing. Remus ZĂGAN, Universitatea Maritimă din Constanța

Prof. univ. dr. Dana TUTUNARU, Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați

**Seria I 4 Inginerie industrială Nr. 100**

**GALAȚI**

**2024**

**Seriile tezelor de doctorat susținute public în UDJG începând cu 1 octombrie 2013 sunt:**

**Domeniul fundamental ȘTIINTE INGINERESTI**

- Seria I 1: **Biotehnologii**
- Seria I 2: **Calculatoare și tehnologia informației**
- Seria I 3: **Inginerie electrică**
- Seria I 4: **Inginerie industrială**
- Seria I 5: **Ingineria materialelor**
- Seria I 6: **Inginerie mecanică**
- Seria I 7: **Ingineria produselor alimentare**
- Seria I 8: **Ingineria sistemelor**
- Seria I 9: **Inginerie și management în agicultură și dezvoltare rurală**

**Domeniul fundamental ȘTIINTE SOCIALE**

- Seria E 1: **Economie**
- Seria E 2: **Management**
- Seria E 3: **Marketing**
- Seria SSEF: **Știința sportului și educației fizice**
- Seria SJ: **Drept**

**Domeniul fundamental ȘTIINTE UMANISTE**

- Seria U 1: **Filologie- Engleză**
- Seria U 2: **Filologie- Română**
- Seria U 3: **Istorie**
- Seria U 4: **Filologie - Franceză**

**Domeniul fundamental MATEMATICĂ ȘI ȘTIINTE ALE NATURII**

- Seria C: **Chimie**

**Domeniul fundamental ȘTIINTE BIOMEDICALE**

- Seria M: **Medicină**
- Seria F: **Farmacie**

## Cuvânt înainte (Mulțumiri)

La finalizarea acestei etape semnificative din viața mea, doresc să îmi exprim recunoștința față de cei care m-au ghidat și mi-au fost alături cu suportul constant și încurajările lor pe parcursul acestei lucrări de doctorat.

În primul rând, doresc să îmi exprim profunda recunoștință față de coordonatorul meu științific, doamna **prof. dr. fiz. Mirela PRAISLER**, pentru ghidarea sa, răbdarea și susținerea neîncetată în tot timpul procesului de cercetare și redactare. Vă mulțumesc pentru faptul că ați acceptat să-mi fiți îndrumător și doresc să subliniez că fără expertiza, încurajările și sprijinul dumneavoastră această lucrare nu ar fi fost posibilă.

Deosebită grațitudine dătez doamnei **lect. dr. Camelia FRIGIOIU** pentru încrederea, susținerea și încurajările acordate în momentele dificile ale acestei "călătorii academice".

O recunoștință deosebită se îndreaptă către doamna **conf. dr. fiz. Steluța GOSAV** pentru timpul prețios acordat, sfaturile științifice valoroase cât și pentru îndrumarea competentă și permanentă pe parcursul elaborării diverselor articole științifice, precum și a tezei de doctorat.

În continuare, doresc să îmi exprim recunoștința față de ceilalți membri ai comisiei de îndrumare, respectiv doamnelor **prof. dr. Luminița Moraru** și **prof. dr. habil. ing. Antoaneta Ene**, pentru sfaturile și sugestiile oferite pe parcursul anilor de studiu și cercetare.

În mod deosebit aș dori să mulțumesc colegelor mele doctorande, alături de care am beneficiat de un cadru ambiental plăcut, precum și de sprijin reciproc.

De asemenea, mulțumesc în mod deosebit părinților mei, Ion și Ioana, fiului meu, Andrei, familiei mele pentru faptul că întotdeauna m-au susținut să mă dezvolt profesional și personal.

Cu deosebită recunoștință și dragoste, dedic această teză memoriei tatălui meu, familiei mele și prietenelor mele, care m-au susținut cu afecțiune și răbdare, pe întreaga perioadă a studiilor doctorale.

Tuturor, încă o dată, vă mulțumesc!

Galați, 2024

ing. Cristina Nedelcu (Paraschiv)

## Cuprins

|  |           |
|--|-----------|
| Introducere .....  | VII       |
| Rezumatul și structura lucrării științifice .....  | VIII      |
| Motivația alegerii temei de cercetare .....  | VIII      |
| Obiectivele de cercetare urmărite .....  | IX        |
| <b>Capitolul 1. Aspecte teoretice privind substanțele biodisponibile .....</b>   | <b>10</b> |
| 1.1 Substanțele biodisponibile: noțiuni generale .....   | 10        |
| 1.2 Prezentarea substanțelor biodisponibile studiate .....   | 10        |
| 1.2.1 Canabinoide .....  | 10        |
| 1.2.2 Flavonoide .....   | 11        |
| <b>Capitolul 2. Metode de caracterizare și identificare a substanțelor biodisponibile .....</b>                                  | <b>12</b> |
| 2.1 Metode spectrale de caracterizare și identificare a substanțelor biodisponibile<br>12  |           |
| 2.1.1 Analiza spectroscopică în domeniul infraroșu (IR) .....  | 12        |
| 2.1.2 Prezentarea spectrelor unor substanțe biodisponibile .....   | 12        |
| 2.2 Analiza proprietăților fizico-chimice a substanțelor biodisponibile pe baza<br>descriptoarelor moleculare .....              | 15        |
| 2.2.1 Canabinoide .....  | 15        |
| 2.2.2 Flavonoide .....   | 16        |
| 2.3 Aplicarea metodei DFT și a tehnicilor chemometrice în caracterizarea<br>substanțelor biodisponibile .....                    | 17        |
| 2.3.1 Teoria funcționalei de densitate ( Density Functional Theory – DFT) .....  | 18        |
| 2.3.2 Teoremele lui Hohenberg și Kohn .....  | 18        |
| 2.3.3 Formalismul Kohn-Sham .....  | 18        |
| 2.3.4 Funcționala hibridă B3LYP .....  | 18        |
| 2.4 Andocarea moleculară .....   | 18        |
| 2.4.1 Prepararea receptorului și ligandului .....  | 19        |
| 2.4.2 Algoritmi pentru realizarea andocării moleculare .....   | 19        |
| <b>Capitolul 3. Contribuții proprii privind caracterizarea și identificarea flavonoidelor și<br/>canabinoidelor .....</b>        | <b>20</b> |
| 3.1 Evaluarea potențialului inhibitor al resokaempferol și tectochrysin asupra<br>proteinelor PI3K $\alpha$ și H1047R [84] ..... | 20        |
| 3.1.1 Analiza structurilor moleculare optimizate ale substanțelor studiate .....   | 20        |
| 3.1.2 Evaluarea parametrilor electronici ai compușilor folosiți în studiu .....  | 22        |
| 3.1.3 Prezentarea profilurilor fizico-chimice și farmacocinetice .....   | 25        |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.1.4 Andocarea moleculară a structurilor native și a liganzilor de interes pe receptorii PI3K $\alpha$ și H1047R.....   | 29        |
| 3.1.5 Validarea alinierii structurale și analiza MolProbity.....   | 35        |
| 3.1.6 Analiza interacțiunilor moleculare .....   | 42        |
| 3.2 Evaluarea potențialului chimic al kaempferolului folosind andocarea moleculară [139].....  | 48        |
| 3.3 Studii experimentale și computaționale ale 3-(Nmorpholinylcarbodithioate)-2-(4-methoxyphenyl)chroman-4-one flavanonă cu potențiale proprietăți terapeutice [59]..... | 54        |
| 3.4 Metode de automatizare a detecției cannabinoidelor [150] .....   | 56        |
| <b>Capitolul 4. Concluzii generale și direcții viitoare de cercetare și dezvoltare .....</b>   | <b>57</b> |
| <b>Lista lucrărilor publicate și prezentate .....</b>  | <b>58</b> |
| <b>Bibliografie .....</b>  | <b>60</b> |

## Introducere

**Biodisponibilitatea** este definită ca fracțiunea unei substanțe care este absorbită în mod eficient din tractul gastrointestinal și intră în circulația sângelui [1,2]. Mai multe organizații mondiale de prestigiu, precum organizația Mondială a Sănătății (OMS), Organizația Food and Drug Administration (FDA) și American Pharmaceutical Association (APA), au oferit definiții pentru acest concept des întâlnit în farmacologie, nutriție, toxicologie, deoarece determină cât de eficient un nutrient sau un medicament își poate exercita efectele în organism.

Pe măsură ce nivelurile de poluare cresc, oamenii devin mai susceptibili la îmbolnăvire, de aceea este necesară evaluarea și optimizarea biodisponibilității atât a medicamentelor cât și a nutrienților, acestea fiind cruciale pentru eficacitatea terapiei medicamentoase și pentru asigurarea unei nutriții adecvate.

Statisticile privind cazurile de îmbolnăviri cu cancer variază în funcție de regiune, tipul de cancer și diferiți factori demografici. Astfel la nivel global, cancerul rămâne principala cauză a mortalității, în anul 2020 fiind înregistrate aproximativ 10 milioane de decese [3]. Pe de altă parte, conform datelor prezentate în *Registrul european al inegalităților în domeniul cancerului din 2023*, elaborat de Organizația pentru Cooperare și Dezvoltare Economică (OECD), cancerul este cea de a doua cauză principală a deceselor din România, media fiind mai mare decât cea a UE. Cancerul pulmonar, colorectal și cancerul de sân ocupă primele locuri ale tipurilor de cancer care provoacă decesul în România. Deși mortalitatea cauzată de cancerul pulmonar a înregistrat o scădere în ultimii ani, incidența cancerului de sân este în creștere [4].

Procesul de descoperire și dezvoltare de noi medicamente, cunoscut și sub denumirea de „*drug design*”, presupune identificarea de compuși chimici care au potențialul de a trata boli sau afecțiuni specifice. Acest proces implică o serie de etape și tehnici avansate, care includ: *identificarea țintei biologice, designul compușilor, sinteza și optimizarea, testarea in vitro și in vivo, studii clinice, aprobarea și lansarea pe piață*. Procesul de descoperire a noilor medicamente este un domeniu multidisciplinar care implică biologia, chimia, farmacologia și bioinformatica, cu scopul de a dezvolta noi terapii eficiente și sigure pentru diverse boli, dar care este un consumator semnificativ de timp și de resurse financiare.

Ca atare, descoperirea de noi substanțe biodisponibile este crucială în lupta împotriva cancerului deoarece poate conduce la tratamente mai eficiente și mai sigure, reducând toxicitatea și îmbunătățind calitatea vieții pacienților. În plus, acest proces susține inovația continuă în domeniul oncologiei, contribuind la dezvoltarea de soluții noi și personalizate pentru combaterea cancerului. Noile substanțe biodisponibile pot fi adaptate pentru a răspunde nevoilor specifice ale fiecărui pacient, pe baza caracteristicilor genetice și biologice ale tumorii lor, contribuind la dezvoltarea medicinei personalizate.

Identificarea și caracterizarea substanțelor biodisponibile implică eficientizarea și integrarea tehnologiilor avansate în procesul de dezvoltare a ingineriei industriale, în special în cazul industriei chimice și a medicamentelor. Andocarea moleculară utilizează instrumente computaționale avansate contribuind, astfel, la reducerea numărului de experimente fizice necesare pentru a identifica și optimiza compușii potențiali, economisind astfel resurse materiale și umane. Prin utilizarea acestor tehnici, se pot proiecta procese mai eficiente, se reduc riscurile asociate cu dezvoltarea de noi medicamente iar medicamentele pot fi produse în cantități mari, cu costuri controlate și la standarde de calitate ridicate.

## Rezumatul și structura lucrării științifice

Teza de doctorat cu titlul „*Metode de automatizare a caracterizării și detecției unor substanțe biodisponibile*” a fost structurată în 3 capitole, însoțite de introducere referitoare la tema studiată, concluzii generale și de direcții viitoare de cercetare.

În introducere este prezentată o succintă descriere a evoluției principalelor cauze ale mortalității la nivel global și național, împreună cu strategiile de combatere a cancerului. Capitolul 1 prezintă caracterizarea generală a substanțelor biodisponibile, evidențiindu-se cele două categorii studiate: canabinoide și flavonoide. Capitolul 2 descrie metode de caracterizare și identificare care s-au dovedit foarte performante în cazul substanțelor biodisponibile analizate, respectiv metode de identificare folosind principiile spectrometriei IR, metode de caracterizare precum DFT și totodată andocarea moleculară. Capitolul 3 prezintă contribuțiile proprii cu privire la analiza potențialului inhibitor al resokaempferol și tectochrysin asupra proteinelor PI3K $\alpha$  și H1047R. PI3K $\alpha$  contribuie la proliferarea celulară iar H1047R este o mutație oncogenică asociată cu o activitate enzimatică crescută și, implicit, cu o creștere necontrolată a celulelor tumorale. În cadrul acestui capitol au fost evaluați parametrii electronici pentru patru flavonoide, au fost prezentate profilurile lor fizico-chimice și analizate interacțiunile moleculare prin andocare moleculară pentru trei compuși. În ceea ce privește compușii din clasa canabinoidelor, aceștia au fost caracterizați din punct de vedere al biodisponibilității și prezentate metode de identificare folosind spectrele ATR-FTIR.

Secțiunea de concluzii și direcții viitoare evidențiază unicitatea rezultatelor obținute și descrie principalele direcții de studiu. Teza se încheie cu listarea lucrărilor științifice prezentate în cadrul conferințelor științifice naționale sau internaționale precum și a celor publicate în reviste de specialitate.

## Motivația alegerii temei de cercetare

Lumea contemporană se confruntă cu o serie de probleme de sănătate semnificative, reflectând complexitatea și diversitatea provocărilor globale, printre care boli infecțioase emergente (pandemii), boli cronice netransmisibile (boli cardiovasculare, diabet, cancer), probleme de sănătate mintală, probleme de sănătate provocate de schimbările climatice, nutriția și stilul de viață (obezitatea și alimentația nesănătoasă), precum și politicile de sănătate publică a căror implementare corectă poate contribui la combaterea bolilor și promovarea sănătății.

Studierea proprietăților substanțelor biodisponibile, atât compuși sintetici cât și compuși naturali, este esențială pentru asigurarea eficacității, siguranței și accesibilității tratamentelor medicamentoase, contribuind la îmbunătățirea generală a sănătății publice. Identificarea compușilor naturali permite introducerea în consumul zilnic a diferitelor fructe, legume, cu rol adjuvant în tratarea diverselor afecțiuni.

Printre efectele pozitive ale descoperirii de noi substanțe biodisponibile, se numără: *maximizarea* efectului terapeutic prin determinarea proporției și vitezei cu care un medicament anticanceros ajunge la celule tumorale, *personalizarea tratamentului* prin adaptarea dozelor și a formelor de administrare la nevoile individuale ale pacienților, *dezvoltarea de terapii țintite* prin identificare de substanțe care atacă specific celulele canceroase, *accelerarea procesului de aprobare și comercializare* prin faptul că analiza potențialului inhibitor cu diverse tehnici chemometrice ajută evaluarea lor în studiile clinice.

Folosirea tehnicilor computaționale avansate contribuie la identificarea rapidă a compușilor cu potențial terapeutic ridicat, reducând astfel timpul și costurile necesare pentru testarea



experimentală și eficientizând procesele industriale de producție și dezvoltare a noilor compuși chimici în general și a medicamentelor în special.

### Obiectivele de cercetare urmărite

Principalele obiective științifice de cercetare urmărite, concretizate și diseminate în timpul elaborării tezei au fost:

- Realizarea unui studiu documentar referitor la:
  - ❖ tipurile de substanțe biodisponibile, în special canabinoide și flavonoide;
  - ❖ proteinele răspunzătoare de multiplicarea celulelor canceroase;
  - ❖ spectre IR;
  - ❖ metode spectrale de caracterizare și identificare a substanțelor biodisponibile;
  - ❖ metode de caracterizare ale substanțelor biodisponibile;
  - ❖ algoritmi pentru andocarea moleculară;
  - ❖ metode de automatizare a detecției canabinoizilor.
  
- Analiza potențialului inhibitor al resokaempferol și tectochrysin asupra proteinelor PI3K $\alpha$  și H1047R:
  - ❖ calcularea parametrilor electronici
  - ❖ descrierea profilurilor fizico-chimice și farmacocinetice
  - ❖ analiza interacțiunilor intermoleculare dintre liganzi (substanțele biodisponibile) și proteina PI3K $\alpha$  și mutația ei oncogenică, H1047R
  - ❖ validarea andocării și analiza MolProbability, care oferă o evaluare riguroasă și detaliată a structurilor moleculare.
  
- Analiza potențialului inhibitor al kaempferolului asupra proteinei PI3K $\alpha$ :
  - ❖ calcularea parametrilor electronici
  - ❖ descrierea profilurilor fizico-chimice și farmacocinetice
  - ❖ analiza interacțiunilor intermoleculare dintre liganzi (substanțele biodisponibile) și proteina PI3K $\alpha$  și mutația ei oncogenică, H1047R
  - ❖ validarea andocării prin comparare cu compusul standard alpelisib, medicament folosit, deja, în terapiile anticancer.
  
- Metode de automatizare a detecției canabinoizilor utilizând spectrele ATR-FTIR.

## Capitolul 1. Aspecte teoretice privind substanțele biodisponibile

### 1.1 Substanțele biodisponibile: noțiuni generale

**Substanțele biodisponibile** sunt acele substanțe care, după administrare sub diverse forme, sunt absorbite de sistemul circulator pentru a fi utilizate de către organism. Dintre tipurile de substanțe biodisponibile pot fi amintite: *nutrienții esențiali* (vitamine, minerale), *aminoacizii*, *acizii grași*, *fitonutrienții* (polifenoli, flavonoide, carotenoide), *probioticele* și *prebioticele*, *enzimele*, *medicamentele*.

Clasificarea substanțelor biodisponibile se poate face în funcție de mai mulți factori, cum ar fi solubilitatea în apă și permeabilitatea prin membranele biologice. Una dintre cele mai utilizate clasificări este clasificarea biofarmaceutică (Biopharmaceutics Classification System, BCS), care este un instrument conceput în 1995 și a devenit un standard în reglementarea bioechivalenței formelor farmaceutice orale [7,8].

### 1.2 Prezentarea substanțelor biodisponibile studiate

#### 1.2.1 Canabinoide

**Canabinoidele** sunt compuși chimici care interacționează cu receptorii canabinoizi din organism. Există mai multe tipuri de canabinoide, incluzând *canabinoidele endogene* (produse de organismul uman), *fitocanabinoidele* (găsite în plante, în special în canabis) și *canabinoidele sintetice* (create în laborator) [11].

**Canabinoidele endogene**, cunoscute și sub numele de **endocanabinoide**, sunt produse natural de către corpul uman și joacă un rol esențial în reglarea funcțiilor fiziologice prin interacțiunea cu receptorii canabinoizi (CB1 și CB2). Au fost identificate două grupe principale: *amide ale acidului arahidonic*, din care face parte anandamida și *esteri ai acidului arahidonic* cu glicerolul, din care face parte 2-arachidonilglicerolul ale căror structuri chimice sunt prezentate în figura 1.1 [11–15].



**Figura 1.1.** Tipuri principale de endocanabinoide [12,15].

**Canabinoidele naturale** sunt *compuși terpenofenolici* ce se găsesc în rășina secretată de florile și frunzele plantei canabis. Acești compuși s-au descoperit în cantități mici și în tulpină, dar lipsesc din semințe. Până în prezent au fost descoperiți peste 100 de fitocanabinoizi, dintre care cel mai psihoactiv fiind  $\Delta^9$  THC [16].

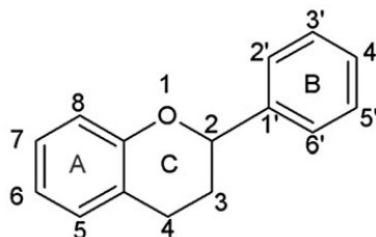
**Canabinoidele sintetice** au efecte psihoactive similare canabinoizilor naturali. Efectele canabinoizilor asupra corpului uman sunt datorate stimulării unei proteine de membrană numite receptor. Până acum, au fost descoperiți și caracterizați complet doi receptori, și anume CB<sub>1</sub> (receptor cu implicații asupra memoriei, percepției și mobilității) și CB<sub>2</sub> (localizat la nivelul splinei, amigdalelor și celulelor sistemului imunitar) [12].

În timp ce canabinoidele au efecte paliative asupra pacienților cu cancer, prevenind greața, vărsăturile și durerea și stimulând pofta de mâncare, s-a demonstrat, de asemenea, că inhibă creșterea celulelor tumorale în culturi și modele animale prin modularea unor căi esențiale de semnalizare celulară [11]. Cercetările efectuate asupra canabinoidelor au arătat că au efecte anticancerigene, de exemplu THC (cancerul de sân, carcinom hepatic, cancerul de prostată, cancer de plămâni, glioblastom), JWH-015 (cancer de prostată), WIN 55,212-2 (glioblastom, cancer de prostată) [11,12].

## 1.2.2 Flavonoide

**Flavonoidele** sunt o clasă diversă de compuși fenolici naturali care sunt răspândiți în regnul vegetal. Ele sunt cunoscute pentru contribuția lor la culoarea, aroma și gustul fructelor, legumelor și altor plante și se găsesc și în cereale, scoarță, rădăcini, tulpini, flori, ceai și vin. Acești compuși bioactivi cu structuri chimice variate sunt esențiali în dieta umană datorită efectelor lor antioxidante, antiinflamatorii, anticancerigene și cardioprotectoare. Ele sunt prezente în fructe (mere, citrice, fructe de pădure), legume (ceapă, ardei), ceaiuri (ceai verde, negru), vin roșu [2,20–24].

Flavonoidele au o structură de bază (vezi figura 1.2) de tip flavan, care include un schelet de 15 atomi de carbon organizat într-un model de 2 cicluri benzenice ((A), (B)) legate printr-un heterociclu piranic (C). Această structură de bază este împărțită în mai multe subgrupe, fiecare având variații în grupările funcționale atașate, cum ar fi: grupări hidroxil, metoxi, sau carbonil [25].



**Figura 1.2.** Structura chimică fundamentală a flavonoidelor [21].

Flavonoidele se clasifică în șase grupe, în funcție de heterociclu implicat: *flavonoli*, *flavone*, *izoflavone*, *flavanone*, *antocianidine* și *flavanoli (catechine și proantocianidine)* [21,23]. Corespondența între tipurile de flavonoide și culorile fructelor, legumelor se regăsește în figura 1.3.

|  |   |                             |  |   |   |
|--|---|-----------------------------|--|---|---|
| <b>Flavonoli</b><br>coaja fructelor și legumelor | <b>Flavone</b><br>fructe și legume verzi și galbene | <b>Flavanone</b><br>citrice | <b>Flavanoli</b><br>mere, ceai verde, struguri, vin roșu, cireșe, pere | <b>Antocianidine</b><br>fructe de pădure, struguri, prune, rodii, vinete, | <b>Izoflavone</b><br>soia, năut, măsline, fistic, muguri de lucernă |
|--|---|-----------------------------|--|---|---|

**Figura 1.3.** Diferite culori ale polifenolilor și fructele și legumele corespunzătoare [26].

## Capitolul 2. Metode de caracterizare și identificare a substanțelor biodisponibile

### 2.1 Metode spectrale de caracterizare și identificare a substanțelor biodisponibile

Metodele spectroscopice oferă instrumente precise și versatile pentru identificarea substanțelor biodisponibile. Fiecare tehnică are avantaje specifice și poate fi utilizată complementar pentru a obține o caracterizare completă a substanțelor de interes. În funcție de natura probelor și de informațiile necesare, alegerea metodei spectroscopice adecvate este esențială pentru o analiză corectă și eficientă. Printre cele mai comune metode spectroscopice se numără spectroscopia în infraroșu (IR), spectroscopia de rezonanță magnetică nucleară (RMN), combinația de cromatografie gazoasă cu spectroscopia în infraroșu cu transformare Fourier (GC / FTIR), spectroscopia de masă (MS) [46].

#### 2.1.1 Analiza spectroscopică în domeniul infraroșu (IR)

*Spectroscopia în infraroșu (IR)* este o tehnică analitică puternică utilizată pentru a studia și identifica moleculele prin analiza absorbției de radiații infraroșii. Această tehnică se bazează pe interacțiunea radiației infraroșii cu moleculele, determinând vibrații caracteristice ale legăturilor chimice. Înțelegerea fundamentelor spectroscopiei în infraroșu (IR) este esențială pentru valorificarea capacităților acesteia în analiza chimică ca ajutor în obținerea informațiilor detaliate despre compoziția moleculară a diferitelor substanțe, vibrațiile moleculare și legăturile chimice [51,52]. Spectroscopia IR este folosită pentru *analize calitative* dar și *cantitative*, deși cele din urmă nu sunt la fel de precise ca alte tehnici precum cromatografia de gaze (GC) sau cea lichidă (LC). În analiza cantitativă se folosește legea Lambert – Beer pentru determinarea concentrației unei substanțe.

#### 2.1.2 Prezentarea spectrelor unor substanțe biodisponibile

Un exemplu de spectru de absorbantă pentru cannabinoidul sintetic, JWH-019, este prezentat în figura 2.6 și a fost înregistrat utilizând accesoriu ATR (reflexie totală atenuată) din diamant (ATR 3 – diamond 3 Bounce) la 32 de scanări și o rezoluție de  $4\text{ cm}^{-1}$  [57].

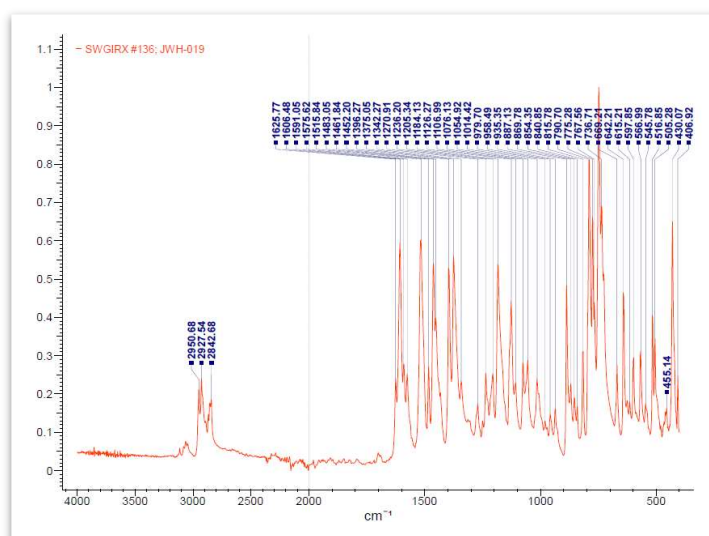
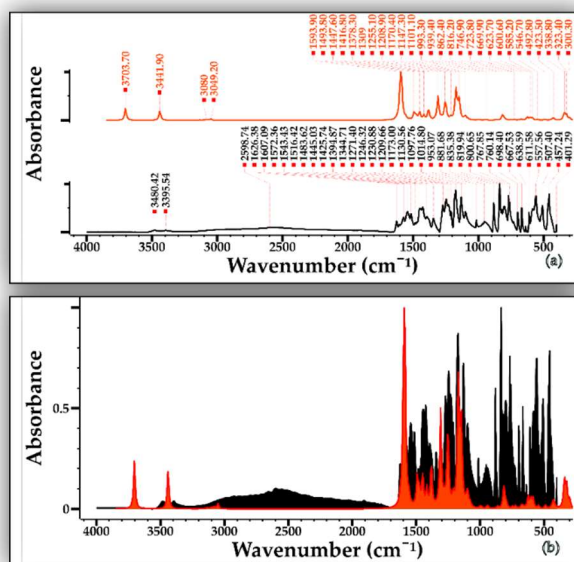


Figura 2.1. Spectrul ATR-FTIR pentru JWH-019 [57].

### Comparația spectrului IR teoretic cu cel experimental pentru compusul resokaempferol

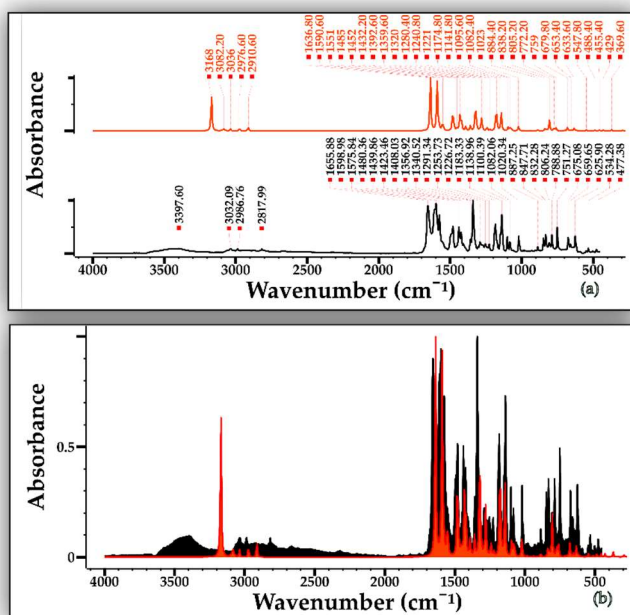
În figura 2.7 este reprezentată comparația dintre spectrul teoretic al flavonolului și cel experimental obținut după optimizarea structurii moleculare. Spectrul teoretic a fost obținut de pe platforma online SpectraBase [58], apoi scalat și comparat cu cel experimental. Acest spectru teoretic a fost înregistrat în faza solidă de la 4000 la 400  $\text{cm}^{-1}$  utilizând ca instrument Bio-Rad FTS echipat cu tehnica ATR-Neat (DuraSamplIR II).



**Figura 2.2.** Analiza spectroscopică comparativă în infraroșu a compusului resokaempferol: (a) vizualizare suprapusă și (b) vizualizare suprapusă a spectrului IR teoretic scalat (roșu) alături de spectrul IR experimental (negru).

### Comparația spectrului IR teoretic cu cel experimental pentru compusul tectochrysin

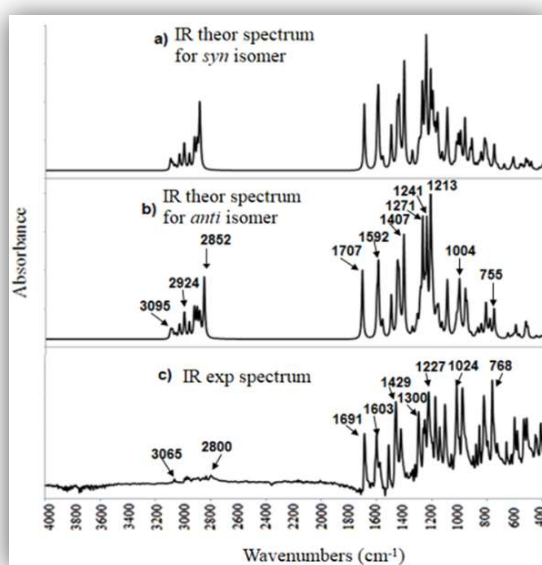
În figura 2.8 este reprezentată comparația dintre spectrul teoretic al flavonoidului natural și cel experimental obținut după optimizarea structurii moleculare. Spectrul teoretic a fost obținut de pe platforma online SpectraBase [58], apoi scalat și comparat cu cel experimental. Acest spectru teoretic a fost înregistrat în faza solidă de la 4000 la 400  $\text{cm}^{-1}$  utilizând ca instrument Bio-Rad FTS echipat cu tehnica ATR-Neat (DuraSamplIR II).



**Figura 2.3.** Analiza spectroscopică comparativă în infraroșu a Tectochrysin: (a) vizualizare suprapusă și (b) vizualizare suprapusă a spectrului IR teoretic scalat (roșu) alături de spectrul IR experimental (negru).

### Comparația spectrului IR teoretic cu cel experimental pentru flavanona 3-(N-morpholinylcarbodithioate)-2-(4-methoxyphenyl)chroman-4-one

În figura 2.9 sunt reprezentate spectrele teoretic și experimental pentru flavanona 3-(N-morpholinylcarbodithioate)-2-(4-methoxyphenyl)chroman-4-one care au fost înregistrate pe un spectrometru FT-IR Brucker Tensor 27 cu un dispozitiv ATR (cristal Ge-ATR), în regiunea 4000–400 cm<sup>-1</sup>, la temperatura camerei, cu o rezoluție spectrală de 2,0 cm<sup>-1</sup> și 32 de scanări adăugate [59].



**Figura 2.4.** Analiza spectroscopică comparativă în infraroșu a 3-(N-morpholinylcarbodithioate)-2-(4-methoxyphenyl)chroman-4-one [59].

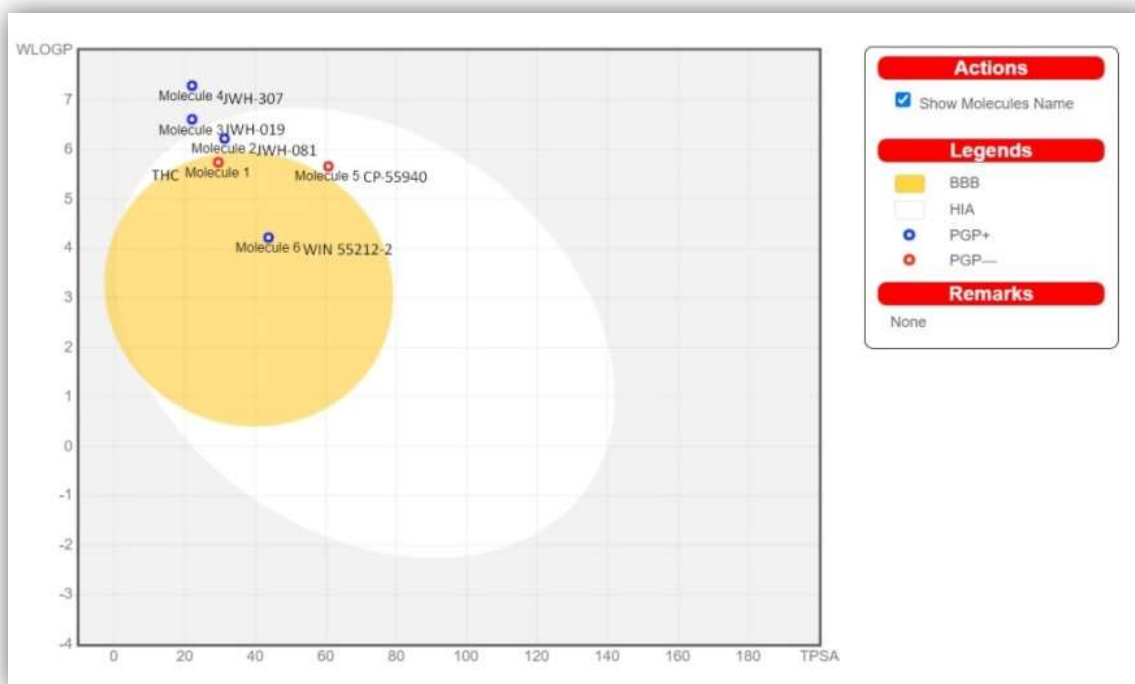
## 2.2 Analiza proprietăților fizico-chimice a substanțelor biodisponibile pe baza descriptorilor moleculari

Modelarea QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) este o metodă utilizată pentru a prezice activitatea biologică a compușilor chimici pe baza caracteristicilor structurale și fizico-chimice ale acestora. Respectarea standardelor și protocoalelor, care impun restricții asupra proprietăților moleculare precum masa moleculară, coeficientul de partiție (logP), acceptorii și donatorii de legături de hidrogen, suprafața polară topologică, numărul de legături rotative și rigide, precum și raportul dintre heteroatomi și carbon, a crescut probabilitatea de a identifica compuși cu aplicații terapeutice de succes [60,61].

Unul dintre instrumentele folosite pentru evaluarea proprietăților **ADMET** (*Absorbție, Distribuție, Metabolism, Excreție și Toxicitate*) ale compușilor studiați este *diagrama radar*.

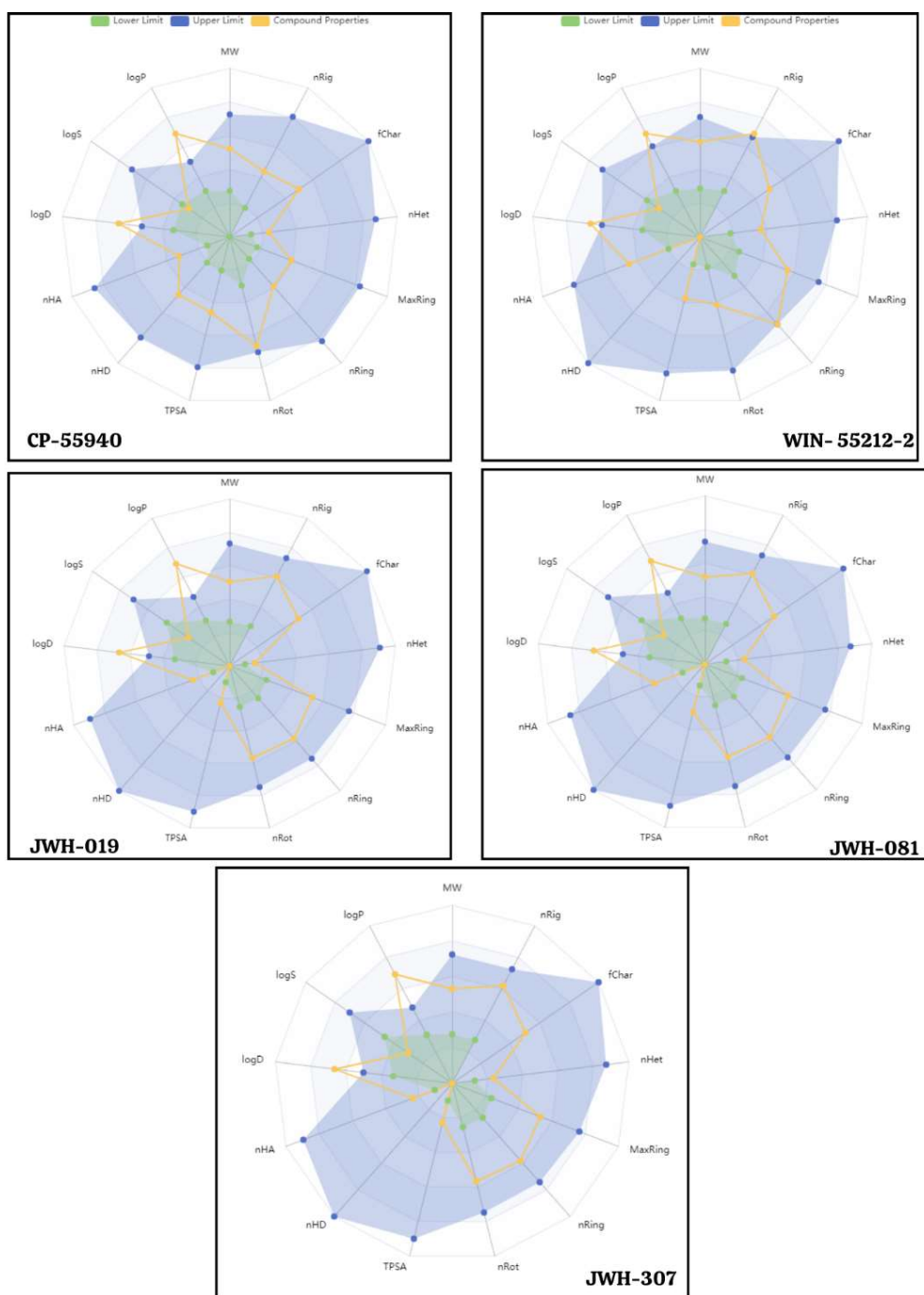
### 2.2.1 Canabinoide

Pentru a analiza unele proprietăți fizico-chimice, cinci canabinoide au fost comparate cu THC (tetrahidrocanabinol), întrucât acesta este unul dintre cei mai studiați și cunoscuți compuși și este adesea folosit ca standard de referință.



**Figura 2.5.** Diagrama BOILED Egg care evaluează absorbția gastrointestinală și penetrarea barierei hematoencefalice pentru canabinoidele sintetice selectate [14].

În figura 2.12 sunt prezentate diagramele radar care delimitează spațiul fizico-chimic optim pentru biodisponibilitatea orală a celor 5 canabinoide sintetice studiate (CP-55940, WIN 55212-2, JWH-019, JWH-081, JWH-307).

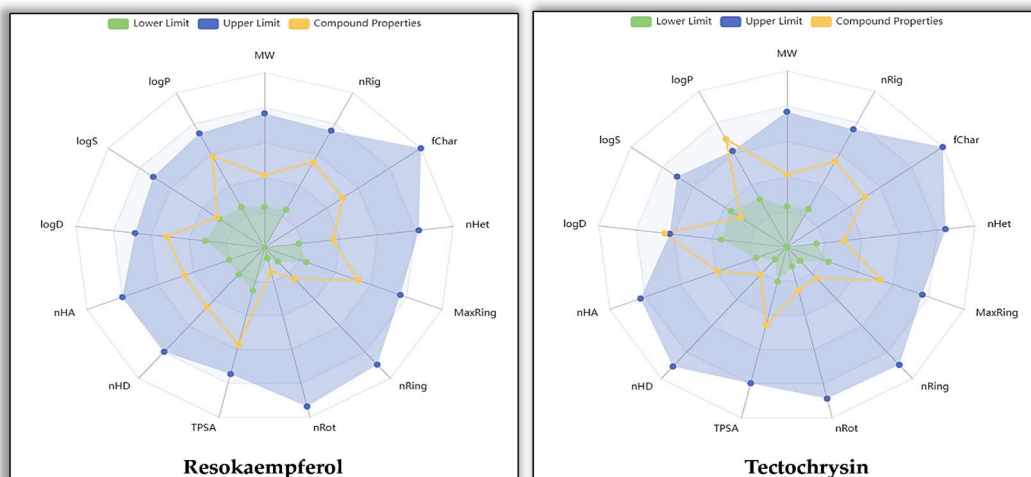


**Figura 2.6.** Diagramă radar pentru evaluarea biodisponibilității celor 5 canabinoide sintetice obținute cu ADMETlab3.0 [81].

## 2.2.2 Flavonoide

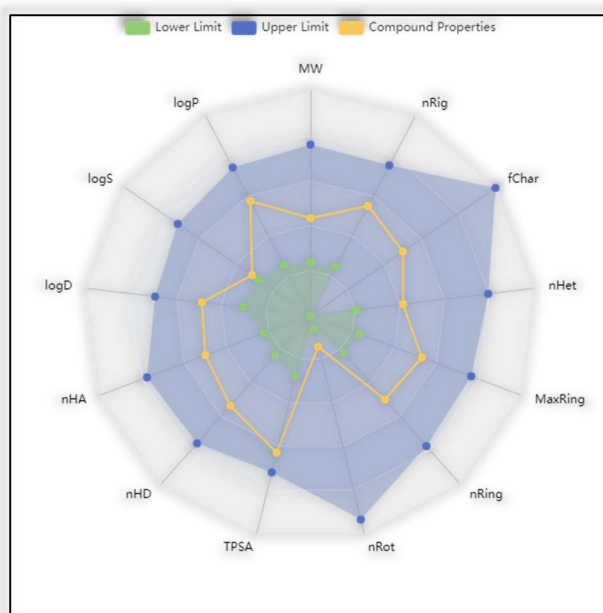
Diagramele radar pentru resokaempferol și tectochrysin sunt prezentate în figura 2.13. Analizând diagramele radar, putem observa că resokaempferol are proprietăți mai favorabile pentru biodisponibilitate, decât tectochrysin.





**Figura 2.7.** Diagramă radar pentru evaluarea biodisponibilității resokaempferol și tectochrysin obținute cu ADMETlab3.0 [81,84].

Analizând diagrama radar din figura 2.14 realizată pentru kaempferol, putem concluziona că și acest flavonoid are proprietăți care îl încadrează în categoria substanțelor biodisponibile.



**Figura 2.8.** Diagramă radar pentru evaluarea biodisponibilității kaempferolului obținută cu ADMETlab3.0 [81].

### 2.3 Aplicarea metodei DFT și a tehnicilor chemometrice în caracterizarea substanțelor biodisponibile

Una dintre metodele computaționale din chemometrie utilizate în prezenta cercetare este **teoria funcționalei de densitate (Density Functional Theory - DFT)**.

### 2.3.1 Teoria funcționalei de densitate ( Density Functional Theory – DFT)

*Teoria funcționalei de densitate*, cunoscută ca DFT (Density Functional Theory), este una dintre cele mai utilizate metode în chimia computațională și fizica materiei condensate pentru a studia proprietățile electronice ale atomilor, moleculelor și solidelor. DFT este esențială în diverse domenii, inclusiv în știința materialelor, chimie cuantică și biofizică.

### 2.3.2 Teoremele lui Hohenberg și Kohn

Începuturile DFT (anul 1926) sunt legate de dezvoltarea mecanicii cuantice și a teoriei structurii electronice. Studiile timpurii au fost influențate de lucrările lui Schrödinger și Dirac. În 1964, Pierre Hohenberg și Walter Kohn au pus bazele teoretice ale DFT prin două teoreme fundamentale. Prima este o teoremă de existență care prezintă energia stării fundamentale a unui sistem ca un funcțional al densității. A doua teoremă oferă un principiu variațional și, astfel, cel puțin în principiu, o cale către cea mai bună densitate: căutarea celei care dă energia cea mai mică, așa cum este cunoscut de decenii în mecanica cuantică bazată pe funcția de undă [86].

### 2.3.3 Formalismul Kohn-Sham

Abordarea Kohn-Sham presupune înlocuirea sistemului real de electroni care interacționează cu mai multe corpuri (interacțiuni clasice și neclasice), cu un sistem auxiliar de electroni non-interactivi cu aceeași densitate ca sistemul fizic și care poate fi redat de o funcție de undă unică având  $N$  orbitali [85].

### 2.3.4 Funcționala hibridă B3LYP

De-a lungul timpului au existat mai multe încercări de aproximare a energiei totale a unui sistem. Cea mai utilizată și cunoscută funcțională hibridă este **B3LYP** (*Becke, 3-parameter, Lee-Yang-Parr*) și oferă un mod relativ ieftin și totuși destul de precis de a prezice structurile moleculare, energiile și frecvențele [22,142].

## 2.4 Andocarea moleculară

*Andocarea moleculară* (*molecular docking*) este o tehnică computațională utilizată încă din 1980, pentru a studia interacțiunile dintre molecule, în special pentru a prezice modul în care două molecule, de obicei un ligand și o proteină țintă, se leagă între ele. Aceasta este o metodă esențială în descoperirea de medicamente și în bioinformatică, având aplicații importante în designul și optimizarea medicamentelor. Principalul scop al andocării moleculare este de a înțelege și de a prezice recunoașterea moleculară atât din punct de vedere structural (adică găsirea modurilor posibile de legare), cât și energetic (adică prezicerea afinității de legare) [89].

Structurile 3D ale macromoleculii țintă și ale moleculei mici trebuie mai întâi alese, iar apoi fiecare structură trebuie pregătită în conformitate cu cerințele metodei de andocare utilizate.

### 2.4.1. Prepararea receptorului și ligandului

Unul dintre obiectivele prezentei cercetări este investigarea capacității de inhibare a kinazei *PI3K $\alpha$*  și a mutației *H1047R* de către liganzii nativi *VYP* și *UE9*, precum și de către noii compuși *resokaempferol* și *tectochrysin*.

În acest studiu am realizat andocarea moleculară cu ajutorul a trei programe: *AutoDock*, *Vina* și *Glide*. *Prepararea receptorului și ligandului* este un pas care presupune pregătirea moleculelor receptor și ligand ca date de intrare pentru calculele de andocare, care prezic orientările unui ligand în interiorul situsului activ al receptorului. Pentru pregătirea *receptorilor* am utilizat instrumentele disponibile în *Glide* și am folosit cadrul său implicit „*Protein Preparation Workflow*” care include pașii de preprocesare, optimizarea alocărilor de legături de hidrogen și pașii de curățare. Pentru *liganzi*, pregătirea urmează o abordare în general mai simplă, dar similară cu cea pentru receptori, folosind instrumentele *Glide LigPrep* împreună cu Epik din suita Maestro care presupun corecții, conversii și optimizări ale structurilor la pH 7.0±2.0 [84,100–104].

### 2.4.2 Algoritmi pentru realizarea andocării moleculare

*AutoDock* (AD4) utilizează un algoritm computațional cunoscut sub numele de *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA) pentru a simula și prezice modul în care un ligand s-ar putea lega de un receptor [89,90,105–111].

*Vina* utilizează un algoritm de optimizare globală cunoscut sub numele de *Gradient-Based Local Search Genetic Algorithm* pentru a prezice modurile de legare ale moleculelor mici la țintele lor proteice [90,108,112–116].

Metodologia de andocare *Glide XP* (dezvoltată de Schrödinger) pe care am utilizat-o încorporează o ierarhie sofisticată de filtre pentru a explora potențialele situsuri de andocare în cadrul regiunii de legare a receptorului. *Glide* utilizează funcția de scor *Emodel* pentru a diferenția între diverși compuși proteină- ligand iar funcția *GlideScore* pentru a clasifica acești compuși. Acest sistem de punctaj complex asigură o evaluare cuprinzătoare a potențialilor inhibitori, evidențiindu-i pe aceia cu caracteristici optime de legare [96,105–107,117–120].

### Capitolul 3. Contribuții proprii privind caracterizarea și identificarea flavonoidelor și cannabinoidelor

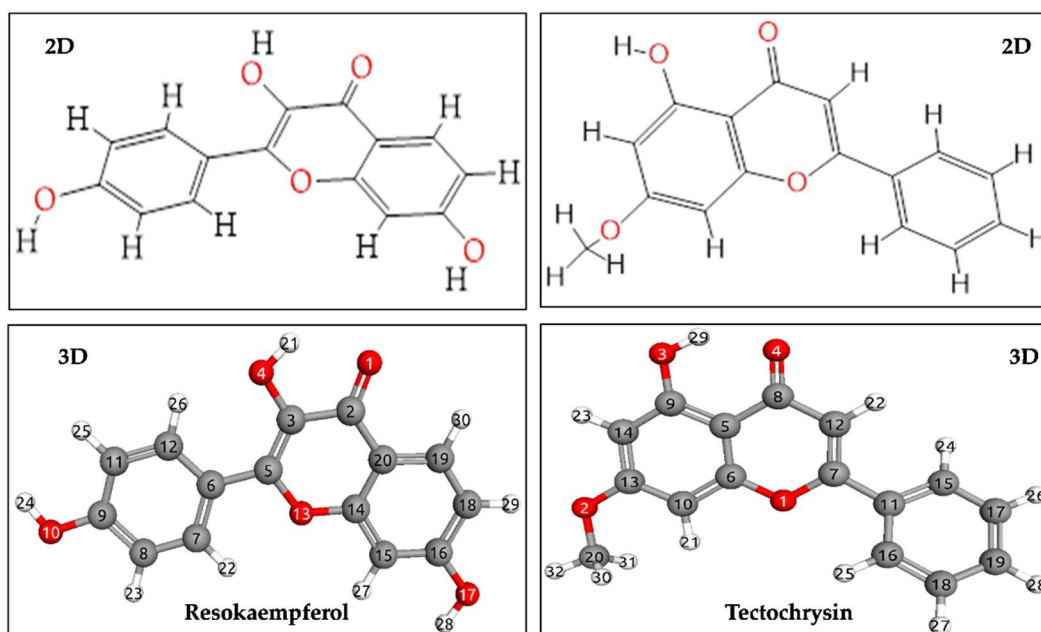
#### 3.1 Evaluarea potențialului inhibitor al resokaempferol și tectochrysin asupra proteinelor PI3K $\alpha$ și H1047R [84]

##### 3.1.1 Analiza structurilor moleculare optimizate ale substanțelor studiate

Structurile moleculare studiate ale potențialilor liganzi au fost obținute din bazele de date *Human Metabolome Database* (HMDB) și *PhytoChemical Interactions Database* (PCIDB) [121,122] și sunt următoarele:

- Flavonolul: 3,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one (Resokaempferol, ID: HMDB0034004)
- Flavona: 5-hydroxy-7-methoxy-2-phenylchromen-4-one (Tectochrysin, ID: C00003795)

În figura 3.1 sunt reprezentate structurile optimizate ale compușilor resokaempferol și tectochrysin. Numerele din structura 3D indică atomii specifici din fiecare moleculă. Aceste etichete numerice sunt utilizate pentru a identifica și diferenția atomii diferiți, oferind claritate în analiza structurii chimice. În mod specific, fiecare număr corespunde unei poziții unice în cadrul moleculei, ajutând la înțelegerea precisă a aranjamentului lor spațial și a interacțiunilor de legătură.

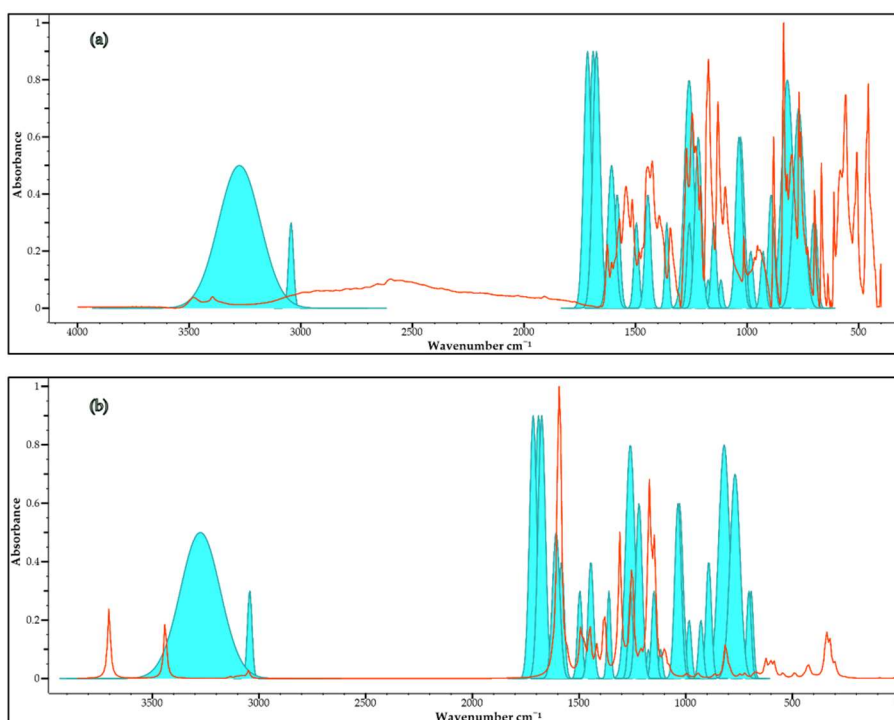


**Figura 3.1.** Structurile moleculare 2D și 3D ale liganzilor resokaempferol și tectochrysin [84].

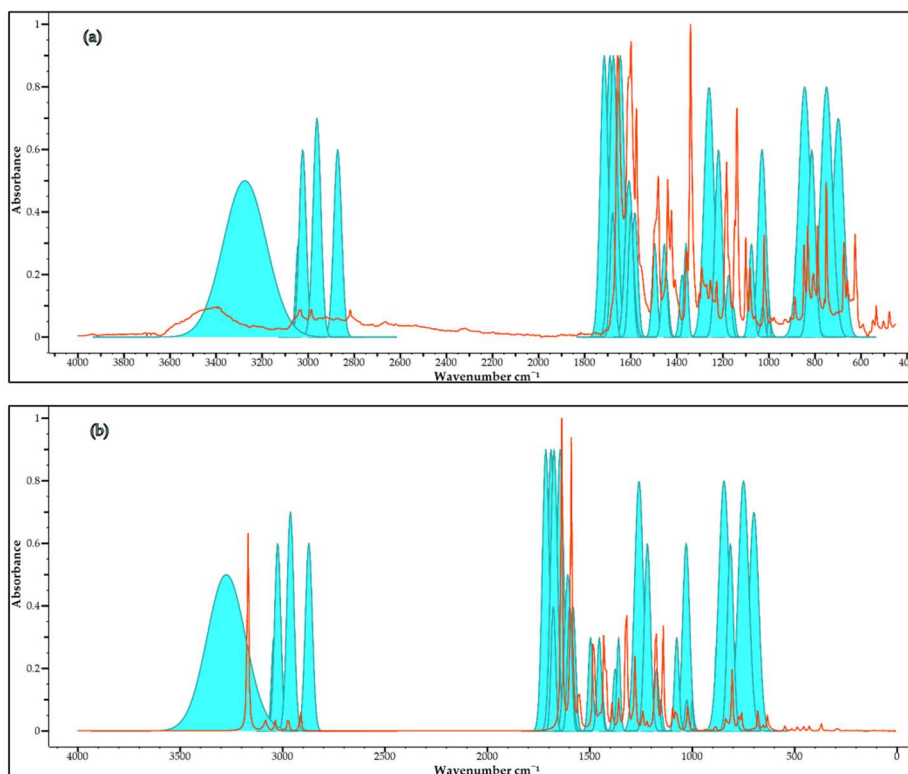
**Structura moleculară a compusului resokaempferol**, compus format din 30 atomi, prezintă 84 de moduri normale distincte de vibrație. Pentru a surprinde aceste dinamici vibraționale, sunt utilizate 84 de coordonate interne liniare independente, inclusiv 21 de moduri C-H (numerotate 4 -10, 36 - 42 și 61 -67). Acest ligand prezintă un set variat de coordonate vibraționale interne, constând din 29 de moduri de întindere (numerotate de la 1 la 29), 28 de moduri de îndoire (numerotate de la 30 la 57) și 27 de moduri de torsiune (numerotate 58- 84)..

**Structura moleculară a compusului tectochrysin**, compus format din 32 atomi, prezintă 90 de moduri normale distincte de vibrație. Pentru a surprinde aceste dinamici vibraționale, sunt utilizate 90 de coordonate interne liniare independente. Acestea includ 33 de moduri C-H (numerotate 2 - 12, 36 - 46 și 63 - 73). Acest ligand prezintă coordonate vibraționale interne, reprezentate de 31 de moduri de întindere (numerotate de la 1 la 31), 30 de moduri de îndoire (numerotate de la 32 la 61) și 29 de moduri de torsiune (numerotate 62-90).

Pentru cei doi liganzi am realizat o analiză vibrațională comparativă a grupărilor funcționale reprezentată grafic în figurile 3.4 și 3.5. Graficele superioare (a) prezintă spectrele IR experimentale, obținute din măsurători de laborator. Linia roșie reprezintă absorbția observată, reflectând comportamentul vibrațional real al liganzilor în interacțiunea cu radiația IR. Zonele verzi suprapuse pe datele experimentale corespund regiunilor de grupări funcționale identificate în spectrele teoretice, permițând o comparație vizuală directă. În schimb, graficele inferioare (b) prezintă spectrele IR teoretice, unde liniile roșii indică valorile calculate ale absorbției pe întregul interval de numere de undă. Zonele umbrite în verde denotă absorbțiile vibraționale ale diverselor grupări funcționale din liganzi, așa cum sunt prezise de calculele chimice cuantice. Aceste spectre teoretice oferă perspective asupra tranzițiilor vibraționale așteptate pe baza simulărilor moleculare.



**Figura 3.2.** Analiza vibrațională comparativă a grupărilor funcționale (verde) în reprezentarea spectrală a compusului resokaempferol (roșu): (a) spectrul IR experimental și (b) spectrul IR teoretic scalat.



**Figura 3.3.** Analiza vibrațională comparativă a grupărilor funcționale (verde) în reprezentarea spectrală a compusului tectochrysin (roșu): (a) spectrul IR experimental și (b) spectrul IR teoretic scalat.

Din analiza atribuirii modurilor vibraționale ale diferitelor grupări funcționale din cei doi compuși studiați putem deduce câteva informații referitoare la relația dintre anumite grupări funcționale și potențialul lor ca liganzi pentru inhibarea proteinelor asociate cu cancerul.

Resokaempferol prezintă grupări de tip eter (Ph-O-C), iar tectochrysin afișează grupări unice de alcani și alchene. Aceste grupări contribuie cu proprietăți chimice diferite, cum ar fi polaritatea și flexibilitatea, care ar putea influența dinamica generală a legării. Grupările funcționale de tip eteri din resokaempferol ar putea spori solubilitatea moleculară, influențând proprietățile asemănătoare medicamentelor și posibil îmbunătățind interacțiunea cu regiunile hidrofobe ale receptorilor. În schimb, grupările de alcani și alchene din Tectochrysin ar putea influența capacitatea ligandului de a pătrunde mai adânc în situsurile hidrofobe ale proteinelor.

Potențialul acestor două molecule ca inhibitori se bazează semnificativ pe aceste grupări funcționale și pe capacitatea lor de a interacționa favorabil cu structura proteică. Analizarea acestor interacțiuni asociată cu studii de andocare moleculară și teste experimentale de legare conduce la stabilirea eficacității celor doi compuși ca potențiali inhibitori ai proteinei PI3K $\alpha$ .

### 3.1.2 Evaluarea parametrilor electronici ai compușilor folosiți în studiu

Parametrii electronici au un rol important în predicția proprietăților biologice a moleculelor. Flavonoidele, resokaempferol și tectochrysin, au fost evaluate prin analize chimice teoretice pentru a evalua potențialul lor ca substanțe medicamentoase. Utilizând metoda B3LYP/6-311G++(d,p), am obținut valorile pentru energiile orbitalilor moleculari de frontieră  $E_{\text{HOMO}}$  și  $E_{\text{LUMO}}$  și momentul de dipol (DM) [127].

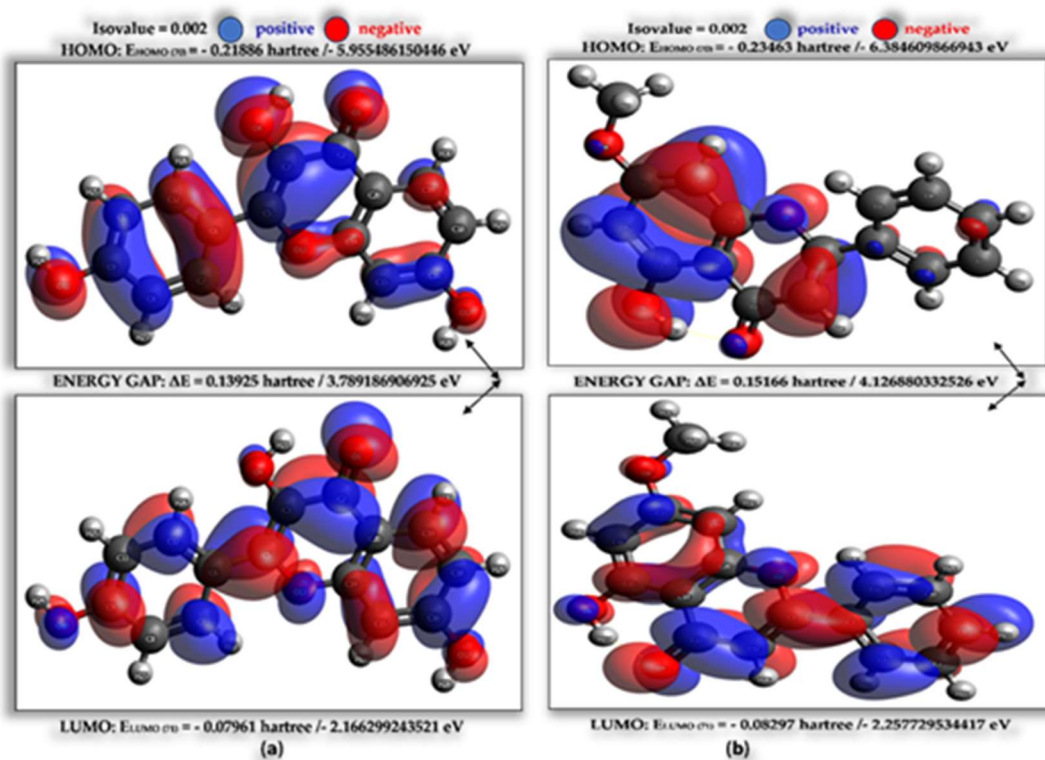
Rezultatele prezentate în Tabelul 3.9 oferă o cuantificare detaliată a energiilor orbitalilor moleculari, în special a energiilor orbitalului molecular ocupat cel mai înalt (HOMO) și a orbitalului molecular neocupat cel mai jos (LUMO), precum și a gap-urilor de energie ( $E_{\text{gap}}$ ) dintre aceștia pentru ambii liganzi.

**Tabelul 3.1.** Energiile orbitalilor de frontieră și a diferenței de energie pentru resokaempferol și tectochrysin [84].

| Ligand         | $E_{\text{HOMO}}$<br>(hartree/eV) | $E_{\text{LUMO}}$<br>(hartree/eV) | $E_{\text{GAP}}$<br>(hartree/eV) <sup>1</sup> |
|----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---|
| Resokaempferol | - 0,22/- 5,96                     | - 0,08/- 2,17                     | 0,14/3,79                                     |
| Tectochrysin   | - 0,23/- 6,38                     | - 0,08/- 2,26                     | 0,15/4,13                                     |

<sup>1</sup>1 Hartree = 27,21 eV / 219474,63  $\text{cm}^{-1}$  / 627,51 kcal/mol

Reprezentarea grafică asociată tabelului 3.9 este Figura 3.6 și oferă o analiză comparativă a intervalului de energie moleculară pentru resokaempferol și tectochrysin [84].



**Figura 3.4** Analiza comparativă a energiei  $E_{\text{gap}}$  pentru: (a) resokaempferol și (b) tectochrysin [84].

Diferența de energie HOMO-LUMO pentru tectochrysin (4,1269 eV) este mai mare decât cea a compusului resokaempferol (3,7892 eV). Acest lucru semnifică faptul că tectochrysin are o stabilitate chimică mai mare decât resokaempferol și o reactivitate mai mică, întrucât este necesară o cantitate de energie mai mare pentru a excita un electron de la nivelul HOMO la nivelul LUMO.

În tabelul 3.10 sunt centralizate valorile pentru momentele de dipol și polarizabilitatea fiecărui ligand în parte. Aceste proprietăți sunt importante pentru înțelegerea interacțiunilor liganzilor cu mediul lor, fie că este vorba despre un solvent sau un sistem biologic. Valoarea momentului de dipol al compusului tectochrysin (6,69 debye) este mai mare decât cea a compusului resokaempferol (3,47 debye) ceea ce implică o distribuție asimetrică a sarcinii electronilor în moleculă putând spori interacțiunile cu alte substanțe polare. Ambii liganzi prezintă valori similare ale polarizabilității, ceea ce indică faptul că ambele molecule au capacități comparabile de a-și deforma norii lor electronici în fața câmpurilor electrice externe, sugerând susceptibilități similare la interacțiunile van der Waals [84].

**Tabelul 3.2.** Momentul de dipol și polarizabilitatea pentru cei doi liganzi [84].

| Ligand         | Moment de dipol<br>(Debye) | Polarizabilitatea<br>(Å <sup>3</sup> ) |
|----------------|----------------------------|--|
| Resokaempferol | 3,47                       | 32,44                                  |
| Tectochrysin   | 6,69                       | 32,21                                  |

Datele obținute referitoare la energiile  $E_{\text{HOMO}}$ ,  $E_{\text{LUMO}}$  și  $E_{\text{gap}}$  au facilitat determinarea altor parametri chimici (*potențialul de ionizare* (IP), *afinitatea electronică* (EA), *rigiditatea chimică* ( $\eta$ ), *flexibilitatea chimică* ( $\sigma$ ), *electronegativitatea* ( $\chi$ ), *indicele de electrofilicitate* ( $\omega$ )) ale căror valori sunt înscrise în tabelul 3.11:

**Tabelul 3.3.** Descriptori moleculari pentru resokaempferol și tectochrysin [84].

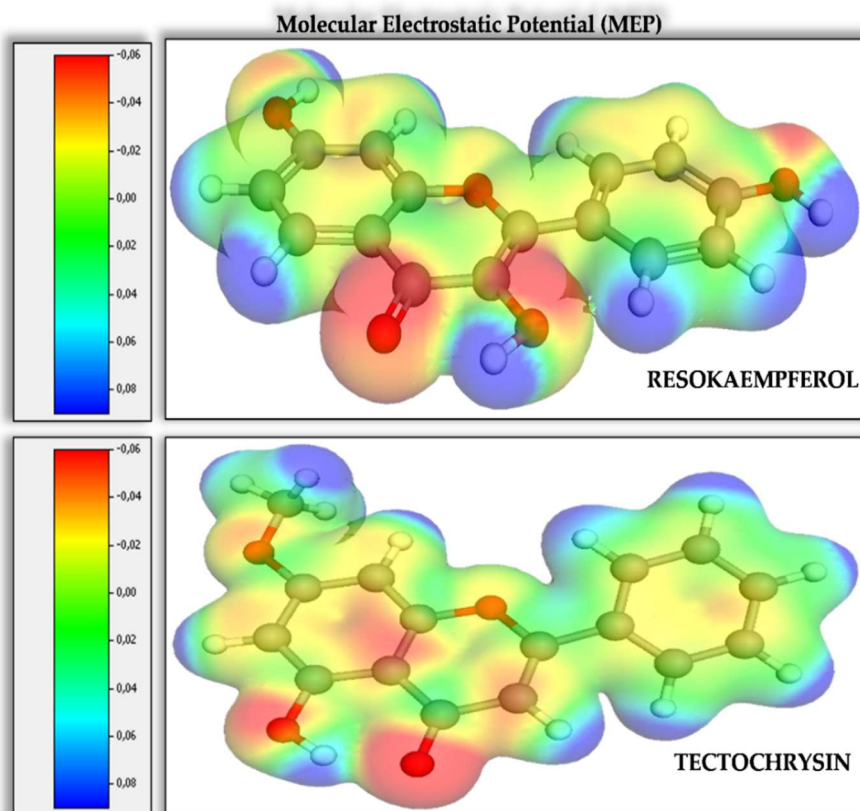
| Descriptori moleculari | Resokaempferol<br>(eV) | Tectochrysin<br>(eV) |
|------------------------|------------------------|----------------------|
| IP                     | 5,96                   | 6,38                 |
| EA                     | 2,17                   | 2,26                 |
| $\eta$                 | 1,89                   | 2,06                 |
| $\sigma$               | 0,53                   | 0,48                 |
| $\chi$                 | 4,06                   | 4,32                 |
| $\omega$               | 4,35                   | 4,52                 |

Analiza comparativă relevă că tectochrysin prezintă în general valori mai mari în majoritatea descriptorilor moleculari, indicând o moleculă cu o stabilitate chimică mai mare și o capacitate mai puternică de a atrage și păstra electroni. Aceste atribute sugerează că tectochrysin ar putea manifesta o reactivitate mai scăzută, dar un potențial mai mare de a interacționa cu alte entități chimice într-un mod controlat, făcându-l potențial mai potrivit pentru aplicații unde stabilitatea este crucială. În schimb, rigiditatea și stabilitatea mai scăzute ale compusului resokaempferol fac ca acesta să fie mai reactiv, ceea ce ar putea fi avantajos în medii chimice dinamice [84].

Pentru a completa rezultatele obținute, am construit *harta potențialului electrostatic molecular* (MEP) a fiecărui compus în parte, pentru predicția interacțiunilor acestor liganzi cu ioni, proteine și acizi nucleici. În aceste reprezentări grafice, figura 3.7, gradientul de culoare ilustrează potențialul electrostatic de la pozitiv (albastru) la negativ (roșu). Regiunile roșii din jurul atomilor de oxigen indică zone cu densitate mare de electroni, indicative ale unui potențial electrostatic



negativ, unde atacul electrofilic este favorabil. În schimb, regiunile pozitive sunt concentrate în jurul tuturor atomilor de hidrogen, care sunt cele mai probabile locații pentru atacul nucleofilic. Ambele flavonoide prezintă regiuni cu potențial electrostatic variabil, ceea ce poate influența modul în care interacționează cu alte molecule, în special în legarea de proteinele țintă din sistemele biologice. Pe lângă înțelegerea interacțiunilor intermoleculare (ligand-receptor), harta MEP oferă și o explicație vizuală a proprietăților biologice, spre exemplu zonele cu potențial negativ (albastru) sunt adesea asociate cu proprietăți antioxidante datorită abilității lor de a dona electroni radicalilor liberi [84].



**Figura 3.5.** Harta potențialului electrostatic molecular (MEP) pentru fiecare ligand [84].

### 3.1.3 Prezentarea profilurilor fizico-chimice și farmacocinetice

Analiza profilurilor fizico-chimice și farmaco-cinetice celor doi liganzi (resokaempferol și tectochrysin) este un alt pas în identificarea lor ca potențiali inhibitori ai proteinei PI3K $\alpha$  și a mutației sale care reprezintă țintele în terapia anticancer. Diagramele radar (figura 2.13) prezentate în capitolul 2, sunt completate de datele înscrise în tabelul 3.13. Valorile pentru masele moleculare ale celor doi compuși (resokaempferol: 270,240 g/mol și tectochrysin: 268.260 g/mol) arată că liganzii îndeplinesc unul dintre criteriile referitoare la o bună absorbție și permeabilitate.

**Tabelul 3.4.** Proprietățile fizico-chimice ale compusilor resokaempferol și tectochrysin.

| Proprietăți fizico -chimice | Resokaempferol | Tectochrysin |
|-----------------------------|----------------|--------------|
| Masă moleculară             | 270,240        | 268,260      |
| Volum Van der Waals         | 265,186        | 273,692      |
| Densitate                   | 1,018          | 0,979        |
| nHA                         | 5              | 4            |

|                   |         |         |
|-------------------|---------|---------|
| nHD               | 3       | 1       |
| nRot              | 1       | 2       |
| nRing             | 3       | 3       |
| MaxRing           | 10      | 10      |
| nHet              | 5       | 4       |
| fChar             | 0       | 0       |
| nRig              | 18      | 18      |
| Flexibilitate     | 0,056   | 0,111   |
| Centre stereo     | 0       | 0       |
| TPSA              | 90,900  | 59,670  |
| AMR               | 73,990  | 75,203  |
| Hy                | 1,103   | -0,320  |
| LogS              | -3,828  | -4,390  |
| LogP              | 2,073   | 3,850   |
| XLogP             | 3,168   | 3,141   |
| XLogP2            | 10,036  | 9,865   |
| XLogP3            | 2,690   | 3,850   |
| ALogP             | 2,038   | 2,852   |
| ALogP2            | 4,155   | 8,137   |
| LogD7.4           | 2,098   | 3,072   |
| pka (Acid)        | 7,196   | 7,478   |
| pka (Baza)        | 2,932   | 3,177   |
| Punct de topire   | 288,744 | 184,312 |
| Punct de fierbere | 378,783 | 331,085 |
| Ui                | 3,906   | 3,906   |

Resokaempferol pare să aibă proprietăți mai favorabile pentru biodisponibilitate, adică un număr mai mare de acceptori și donori de legături de hidrogen, un TPSA mai mare și un factor hidrofobic mai bun. Tectochrysin, deși ușor mai puțin favorabil în aceste aspecte, ar putea avea o permeabilitate mai bună a membranei datorită valorii sale mai mari a LogD7.4. În plus, flexibilitatea sa crescută ar putea permite o mai bună adaptare la situsul activ al proteinei țintă. Profilurile fizico-chimice ale ambilor compuși sugerează că aceștia au potențialul de a fi inhibitori buni ai PI3K $\alpha$ , dar eficacitatea lor ar trebui în cele din urmă validată prin teste biologice și studii clinice.

Pentru resokaempferol și tectochrysin, o serie de proprietăți chimice ADMET alături de descriptorii moleculari corespunzători au fost evaluate și interpretate empiric în baza unor presupuneri specifice, așa cum este detaliat în tabelul 3.14 [84].

**Tabelul 3.5.** Proprietăți ADMET și descriptorii moleculari pentru resokaempferol și tectochrysin [84].

| Proprietate ADMET | Descriptor molecular * | Resokaempferol                    |                  | Tectochrysin                      |                  |
|-------------------|------------------------|-----------------------------------|------------------|-----------------------------------|------------------|
|                   |                        | Valoare precisă/<br>Probabilitate | Decizie empirică | Valoare precisă/<br>Probabilitate | Decizie empirică |
|                   | Caco-2                 | -5,62                             | slab             | -4,78                             | excelent         |
|                   | Pgp-inhibitor          | 0,14 (--)                         | excelent         | 0,96 (+++)                        | slab             |
|                   | Pgp-substrat           | 0,27 (--)                         | excelent         | 0,07 (---)                        | excelent         |
| Absorbție         | HIA                    | 0,03 (---)                        | excelent         | 0,01 (---)                        | excelent         |
|                   | F <sub>20%</sub>       | 0,32 (-)                          | medium           | 0,05 (---)                        | excelent         |
|                   | F <sub>30%</sub>       | 0,78 (++)                         | slab             | 0,45 (-)                          | medium           |
|                   | MDCK                   | -4,85                             | slab             | -4,68                             | excelent         |

| Proprietate<br>ADMET | Descriptor molecular *  | Resokaempferol                       |                     | Tectochrysin                         |                     |
|----------------------|---|--------------------------------------|---------------------|--------------------------------------|---------------------|
|                      |   | Valoare<br>prezisă/<br>Probabilitate | Decizie<br>empirică | Valoare<br>prezisă/<br>Probabilitate | Decizie<br>empirică |
| Distribuție          | PPB   | 96,66                                | slab                | 98,51                                | slab                |
|                      | VDss  | 0,20                                 | excelent            | 0,77                                 | excelent            |
|                      | Penetrare BBB   | 0,01 (---)                           | excelent            | 0,2 (--)                             | excelent            |
|                      | Fu  | 3,33                                 | slab                | 0,81                                 | slab                |
| Metabolism           | CYP1A2 inhibitor  | 0,75 (++)                            | slab                | 1,00 (+++)                           | slab                |
|                      | CYP1A2 substrat   | 0,12 (--)                            | excelent            | 0,79 (++)                            | slab                |
|                      | CYP2C19 inhibitor   | 0,25 (--)                            | excelent            | 0,98 (+++)                           | slab                |
|                      | CYP2C19 substrat  | 0,001 (---)                          | excelent            | 0,02 (---)                           | excelent            |
|                      | CYP2C9 inhibitor  | 0,89 (++)                            | slab                | 0,038 (---)                          | excelent            |
|                      | CYP2C9 substrat   | 0,32 (-)                             | mediu               | 0,98 (+++)                           | slab                |
|                      | CYP2D6 inhibitor  | 0,01 (---)                           | excelent            | 0,81 (++)                            | slab                |
|                      | CYP2D6 substrat   | 0,75 (++)                            | slab                | 0,98 (+++)                           | slab                |
|                      | CYP3A4 inhibitor  | 0,92 (+++)                           | slab                | 0,98 (+++)                           | slab                |
|                      | CYP3A4 substrat   | 0,01 (---)                           | excelent            | 0,01 (---)                           | excelent            |
| Excreție             | CL <sub>plasma</sub>  | 7,14                                 | mediu               | 5,28                                 | mediu               |
|                      | T <sub>1/2</sub>  | 1,49                                 | mediu               | 0,75                                 | slab                |
| Toxicitate           | Blocanți ai canalelor<br>hERG                                 | 0,11                                 | excelent            | 0,13                                 | excelent            |
|                      | H-HT  | 0,40                                 | mediu               | 0,46                                 | mediu               |
|                      | DILI  | 0,67                                 | mediu               | 0,94                                 | slab                |
|                      | Mutagenitatea<br>testului<br>AMES                             | 0,55                                 | mediu               | 0,64                                 | mediu               |
|                      | FDAMDD  | 0,74                                 | slab                | 0,73                                 | slab                |
|                      | Sensibilizarea pielii   | 0,63                                 | mediu               | 0,42                                 | mediu               |
|                      | Carcinogenitate   | 0,79                                 | slab                | 0,81                                 | slab                |
|                      | Potențialul de a provoca<br>deteriorări severe ale<br>ochilor | 0,77                                 | slab                | 0,32                                 | mediu               |
|                      | Iritația ochilor  | 0,99                                 | slab                | 0,99                                 | slab                |
|                      | Toxicitatea pentru<br>sistemul respirator                     | 0,64                                 | mediu               | 0,77                                 | slab                |

Evaluarea ADMET pentru resokaempferol arată că, deși anumiți descriptori indică o absorbție slabă, alții sugerează proprietăți favorabile. În plus, probabilitatea sa de absorbție intestinală umană (HIA) este de 0,03 (---), ceea ce îl clasifică ca excelent, sugerând și mai departe un potențial favorabil de absorbție. Rezultatele mixte din tabelul 3.14 subliniază complexitatea interacțiunii factorilor care afectează absorbția și evidențiază necesitatea unei evaluări cuprinzătoare dincolo de descriptorii moleculari singulari. Validarea experimentală suplimentară va contribui la clarificarea și rezolvarea discrepanțelor evidente [84].

Predicția *in silico* a potențialului de blocare a canalelor HERG de către compușii resokaempferol și tectochrysin sugerează că aceste flavonoide ar putea prezenta activitate cardiotoxică. Această predicție necesită o analiză și interpretare detaliată, având în vedere mai mulți factori esențiali. De aceea, pașii următori în evaluarea acestor compuși ar trebui să includă teste electrofiziologice *in vitro* pe celule cardiace, pentru a verifica potențialul lor de blocare a canalelor HERG în condiții fiziologice reale [84].

Ambele substanțe prezintă rezultate mixte în ceea ce privește indicatorii de toxicitate. Cu toate acestea, tectochrysin tinde să prezinte valori ridicate pentru mai mulți indicatori de toxicitate, inclusiv DILI, carcinogenitate și toxicitate respiratorie, ceea ce ar putea limita utilizarea sa din cauza preocupărilor legate de siguranță. Ambii compuși prezintă potențial de iritație oculară și au rezultate slabe în evaluările de corozivitate oculară, indicând un risc în aceste domenii toxicologice specifice.

În ansamblu, tectochrysin, în ciuda profilurilor sale mai bune de absorbție și distribuție, prezintă provocări semnificative în ceea ce privește metabolismul și toxicitatea, care ar putea împiedica dezvoltarea sa ca agent terapeutic sigur. Resokaempferol, cu un profil metabolic mai favorabil și niveluri mai scăzute ale anumitor toxicități, ar putea oferi o alternativă mai sigură, deși caracteristicile sale de absorbție sunt mai puțin ideale [84].

O altă analiză comparativă pentru cei doi compuși (resokaempferol și tectochrysin) se referă la descrierea caracteristicilor specifice chimiei medicinale pentru a sublinia potențialul lor ca liganzi. Rezultatele acestei analize au fost centralizate în tabelul 3.15.

**Tabelul 3.6.** Analiza comparativă a caracteristicilor de chimie medicinală și a regulilor toxicofore pentru resokaempferol și tectochrysin [84].

| Chimia medicinală | Resokaempferol  |                  | Tectochrysin    |                  |
|-------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
|                   | Valoare prezisă | Decizie empirică | Valoare prezisă | Decizie empirică |
| Drug-likeness     | 0,63            | slab             | 0,78            | excelent         |
| SAscore           | 3,08            | excelent         | 3,01            | excelent         |
| Fsp3              | 0               | slab             | 0,06            | slab             |
| MCE-18            | 17              | slab             | 16              | slab             |
| NPscore           | 1,04            | mediu            | 0,95            | mediu            |
| Regula Lipinski   | 0               | excelent         | 0               | excelent         |

| Chimia medicinală | Resokaempferol  |                  | Tectochrysin    |                                       |
|-------------------|-----------------|------------------|-----------------|---------------------------------------|
|                   | Valoare prezisă | Decizie empirică | Valoare prezisă | Decizie empirică                      |
| Regula Pfizer     | 0               | excelent         | 2               | (2 condiții îndeplinite) <sup>1</sup> |
| Regula GSK        | 0               | excelent         | 0               | excelent                              |
| Triunghiul de aur | 0               | excelent         | 0               | excelent                              |
| PAINS             | 0               | excelent         | 0               | excelent                              |
| BMS               | 0               | excelent         | 0               | excelent                              |
| NonBiodegradabil  | 0               | excelent         | 0               | excelent                              |
| Regula SureChEMBL | 0               | excelent         | 0               | excelent                              |

<sup>1</sup>: 2 condiții îndeplinite: logP > 3; TPSA < 75;

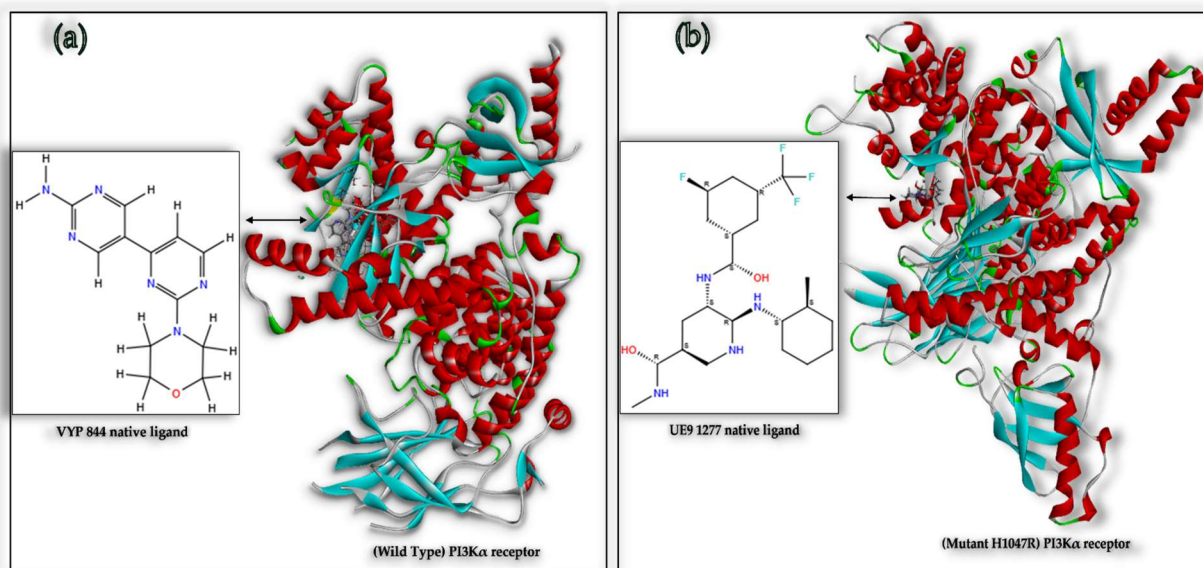
Deși tectochrysin prezintă o compatibilitate ușor mai bună cu caracteristicile de tip medicament și îndeplinește favorabil mai multe criterii de chimie medicinală, acesta ar putea întâmpina dificultăți din cauza profilului său farmacocinetic, așa cum indică regula lui Pfizer. Resokaempferol, deși are un scor mai mic ca posibil medicament, nu prezintă aceste probleme farmacocinetice, beneficiind de mai multe avantaje în etapa inițială a dezvoltării de noi medicamente. Totuși, ambii compuși pot suporta o optimizare suplimentară pentru îmbunătățirea profilurilor lor ca potențiali agenți terapeutici ce vizează proteinele cancerigene și mutațiilor lor [84].

### 3.1.4 Andocarea moleculară a structurilor native și a liganzilor de interes pe receptorii PI3K $\alpha$ și H1047R

În prezenta cercetare, am folosit structuri cristaline (provenite din baza de date online RCSB PDB) pentru a efectua studii de *re-andocare* („*re-docking*”) și *andocare încrucișată* (*cross-docking*). *Re-docking*-ul, cunoscut și sub denumirea de *auto-andocare* („*self-docking*”) a implicat reproducerea geometriei și orientării de legare co-cristalizate a liganzilor în contextul unor structuri macromoleculare rigide. *Cross-docking*-ul a fost aplicat pentru a examina interacțiunile dintre liganzii studiați, resokaempferol și tectochrysin, cu structurile rigide ale proteinei PI3K $\alpha$  și a mutației, H1047R.

Studiul de *self-docking* a fost realizat pentru a explora dinamica interacțiunilor și afinitățile de legare ale perechilor moleculare native. Utilizând structurile cristaline 7K71 și 8TS9 obținute din baza de date online RCSB PDB [129], am izolat inițial varianta de tip sălbatic a subunității catalitice alfa a fosfatidilinozitolului 4,5-bifosfat 3-kinazei și mutația sa H1047R folosind software-ul Chimera X, așa cum este ilustrat în figura 3.10. În continuare, au fost izolați inhibitorii nativi din aceste structuri obținute prin raze X, și anume: ligandul VYP (5-(2-morpholin-4-ylpyrimidin-4-yl)pyrimidin-2-amine) din complexul 7K71 și ligandul UE9 (5 - [ 3 - fluoro-5-(trifluoromethyl)

*benzamido]-N-methyl-6-(2-methylanilino) pyridine-3-carboxamide*) din complexul 8TS9, utilizând denumirea, sinonimele sau numărul de intrare al acestora [84].



**Figura 3.6.** Reprezentare comparativă a receptorului PI3K $\alpha$  – perechea de liganzi nativi: (a) tulpina sălbatică cu 2-(morpholin-4-yl)[4,5'-bipirimidin]-2'-amine și (b) mutația H1047R cu 5-[3-fluoro-5-(trifluoromethyl)benzamido]-N-methyl-6-(2-methylanilino)pyridine-3-carboxamide [84].

Primul ligand, VYP izolat din complexul 7K71, clasificat ca non-polimer, cuprinde 33 atomi, 35 legături, dintre care 12 sunt aromatice, cu o sarcină formală de 0 și fără atomi chirali și este caracterizat de formula chimică  $C_{12}H_{14}N_6O$ , având o masă moleculară de 258.279 g/mol. Cel de al doilea ligand UE9, este clasificat ca non-polimer, are formula chimică:  $C_{22}H_{18}F_4N_4O_2$  și o masă moleculară de 446.398 g/mol. El cuprinde 50 atomi, 52 legături, dintre care 18 sunt aromatice, cu o sarcină formală de 0 și fără atomi chirali [130].

Subunitatea catalitică alfa a fosfatidilinositol 4,5-bisfosfat 3-kinazei, denumită (7K71- baza de date PDB), este o componentă esențială în semnalizarea celulară și procesele enzimatice, încapsulând atribute structurale și funcționale cheie. Această proteină, în forma sa sălbatică fără mutații, constă din 843 de reziduuri de aminoacizi și cuprinde un total de 5886 de atomi. Este clasificată ca proteină de semnalizare și transferază, provenind din organismul *Homo sapiens* [84].

Cealaltă țintă biologică, mutația H1047R aparținând aceleiași familii de proteine, identificată în structura cristalină 8TS9, prezintă o structură modificată din punct de vedere funcțional. Această tulpină conține 1004 reziduuri de aminoacizi și un total de 16435 atomi. Similar cu PI3K $\alpha$ , această variantă provine din *Homo sapiens* și împărtășește aceeași familie și domeniu. Cu toate acestea, se deosebește de PI3K $\alpha$ , prin prezența unui lanț proteic unic, desemnat ca lanț A care subliniază structura sa distinctă [84].

Fișierele obținute din PDB, adesea, necesită corecții înainte de a fi utilizate în andocarea moleculară, corecții datorate lipsei atomilor sau prezenței moleculelor de apă, probleme ce pot afecta semnificativ acuratețea simulărilor de andocare. Procedura pentru pregătirea receptorilor pentru andocare a fost prezentată în capitolul 2. În etapa următoare, cei doi liganzi au fost pregătiți folosind instrumentele LigPrep împreună cu Epik din Maestro Suite, incluzând corecții, conversii și optimizări ale structurilor la pH  $7,0 \pm 2,0$ . O abordare bazată pe proiectarea structurală a medicamentelor a fost utilizată pentru a identifica situsurile de legare pe proteinele țintă, cu scopul

de a inhiba eficient progresia celulară. Aceste situri de legare au fost obținute din structurile cristaline folosind tehnici de corelare manuală prin software-ul PyMol [100–102, 131, 132].

A doua etapă a studiului a implicat o analiză de *cross-docking*. În această fază, am testat dacă cele două structuri ale proteinei PI3K $\alpha$  ar putea acomoda cu acuratețe liganzi non-nativi, cum ar fi resokaempferol și tectochrysin, care ar putea servi drept inhibitori potențiali pentru aceleași variante ale proteinei. Utilizând structurile cristaline ca referință, am avut ca scop să determinăm dacă situsurile de legare ale structurilor proteice selectate ar putea facilita andocarea acestor liganzi. Au fost utilizate aceleași coordonate ale cutiei grid folosite pentru *self-docking*, iar structurile celor doi liganzi au fost pregătite identic conform cu procedurile anterioare [84].

Cele două structuri moleculare ale proteinei PI3K $\alpha$  și inhibitorii lor nativi și noi potențiali inhibitori au fost supuse unui screening virtual prin *re-docking* și *cross-docking* utilizând trei programe computaționale: AutoDock, Vina și Glide. O analiză comparativă a *re-dockingului*, care a inclus indici ai energiei de legare pentru variantele receptorului PI3K $\alpha$ , este prezentată în Tabelele 3.17 până la 3.19. Această analiză a oferit informații critice despre dinamica interacțiunii și eficacitatea inhibitorilor în diferite configurații ale receptorului.

Analiza comparativă (tabelul 3.17) subliniază nu doar diferențele în eficacitatea fiecărui ligand, ci și interacțiunile distincte în cadrul mediilor proteice. Începând cu VYP, analiza relevă faptul că acest ligand prezintă o afinitate puternică pentru proteina de tip sălbatic, așa cum este indicat de energia liberă de legătură de -8,44 kcal/mol. Acest lucru sugerează o formă foarte stabilă a complexului.

Resokaempferol prezintă un caz interesant în evaluarea sa ca inhibitor al ambelor variante de proteină. Acesta arată o afinitate mai mare pentru mutație (-9.22 kcal/mol) decât pentru tipul sălbatic (-8.73 kcal/mol), împreună cu o constantă de inhibiție considerabil mai mică în mutație (175.41 nM), subliniind potența sa sporită și interacțiunile mai puternice cu mutația. Eficiența ligandului și energia intermoleculară sunt comparabile pentru cele două forme de proteină ceea ce sugerează o dinamică de interacțiune consistentă, în ciuda abaterilor structurale semnificative indicate de valorile ridicate ale RMSD-ului, în special la andocarea de mutație.

Tectochrysin, studiat pentru ambele forme de proteină, prezintă cele mai slabe energii de legare dintre liganzii analizați, dar oferă cea mai mică constantă de inhibiție pentru tipul sălbatic (18.60 nM), sugerând o potență excepțională în acest context. Parametrii energetici, cum ar fi energia intermoleculară, energia de rotație liberă și energia sistemului nelegat, rămân constante între variante, reflectând caracteristici stabile de legare, deși cu abateri structurale notabile, așa cum este indicat de măsurătorile RMSD.

**Tabelul 3.7.** Analiza comparativă a andocării moleculare folosind AutoDock : Valorile energiei de legătură pentru variantele receptorului [84].

| Ligand | Cea mai bună configurație de andocare      | Receptor      |        |
|--------|--|---------------|--------|
|        |  | PI3K $\alpha$ | H1047R |
| VYP    | Energie liberă de legătură (kcal/mol)      | -8,44         | -      |
|        | Constanta de inhibare, K <sub>i</sub> (nM) | 653,08        | -      |

| Ligand  | Cea mai bună configurație de andocare                                       | Receptor      |        |  |
|---|---|---------------|--------|--|
|   |   | PI3K $\alpha$ | H1047R |  |
| UE9   | Eficiența ligandului (energie de andocare) (kcal/mol)                       | -0,44         | -      |  |
|   | Energie Intermoleculară (kcal/mol)  | -9,33         | -      |  |
|   | Energie totală internă (kcal/mol)   | -0,77         | -      |  |
|   | Energie electrostatică (kcal/mol)   | 0,00          | -      |  |
|   | van der Waals + Legături de H + Energie+ penalizări de desolvare (kcal/mol) | -9,33         | -      |  |
|   | Energie liberă de torsiune (kcal/mol)                                       | 0,89          | -      |  |
|   | Energia sistemului nelegat (kcal/mol)                                       | -0,77         | -      |  |
|   | RMSD structura de referință (Å)   | 0,631         | -      |  |
|   | <hr/>   |               |        |  |
|   | Energie liberă de legătură (kcal/mol)                                       | -             | -8,34  |  |
|   | Constanta de inhibare, K <sub>i</sub> (nM)                                  | -             | 772,54 |  |
|   | Eficiența ligandului (energie de andocare) (kcal/mol)                       | -             | -0,26  |  |
|   | Energie Intermoleculară (kcal/mol)  | -             | -10,13 |  |
|   | Energie totală internă (kcal/mol)   | -             | -1,82  |  |
| Energie electrostatică (kcal/mol)   | -   | -0,15         |        |  |
| van der Waals + Legături de H + Energie+ penalizări de desolvare (kcal/mol) | -   | -9,97         |        |  |
| Energie liberă de torsiune (kcal/mol)                                       | -   | 1,79          |        |  |
| Energia sistemului nelegat (kcal/mol)                                       | -   | -1,82         |        |  |
| RMSD structura de referință (Å)   | -   | 12,96         |        |  |
| <hr/>   |   |               |        |  |
| Energie liberă de legătură (kcal/mol)                                       | -8,73   | -9,22         |        |  |
| Constanta de inhibare, K <sub>i</sub> (nM)                                  | 395,76  | 175,41        |        |  |
| Eficiența ligandului (energie de andocare) (kcal/mol)                       | -0,44   | -0,46         |        |  |
| Energie Intermoleculară (kcal/mol)  | -9,93   | -10,41        |        |  |
| Energie totală internă (kcal/mol)   | -1,11   | -1,09         |        |  |
| Energie electrostatică (kcal/mol)   | 0,00  | 0,00          |        |  |
| van der Waals + Legături de H + Energie+ penalizări de desolvare (kcal/mol) | -9,93   | -10,41        |        |  |
| Energie liberă de torsiune (kcal/mol)                                       | 1,19  | 1,19          |        |  |
| Resokaempferol  |   |               |        |  |
|   |   |               |        |  |
|   |   |               |        |  |
|   |   |               |        |  |
|   |   |               |        |  |
|   |   |               |        |  |
|   |   |               |        |  |



| Ligand       | Cea mai bună configurație de andocare                                       | Receptor      |        |
|--------------|---|---------------|--------|
|              |   | PI3K $\alpha$ | H1047R |
|              | Energia sistemului nelegat (kcal/mol)                                       | -1,11         | -1,09  |
|              | RMSD structura de referință (Å)   | 31,39         | 33,29  |
|              | Energie liberă de legătură (kcal/mol)                                       | -6,45         | -6,16  |
|              | Constanta de inhibare, K <sub>i</sub> (nM)                                  | 18,60         | 30,48  |
|              | Eficiența ligandului (energie de andocare) (kcal/mol)                       | -0,32         | -0,31  |
|              | Energie Intermoleculară (kcal/mol)  | -7,35         | -7,06  |
|              | Energie totală internă (kcal/mol)   | -1,03         | -1,03  |
| Tectochrysin | Energie electrostatică (kcal/mol)   | -0,1          | -0,06  |
|              | van der Waals + Legături de H + Energie+ penalizări de desolvare (kcal/mol) | -7,25         | -6,99  |
|              | Energie liberă de torsiune (kcal/mol)                                       | 0,89          | 0,89   |
|              | Energia sistemului nelegat (kcal/mol)                                       | -1,03         | -1,03  |
|              | RMSD structura de referință (Å)   | 32,38         | 34,39  |

Analiza comparativă a rezultatelor andocării moleculare prezentate în tabelul 3.18, obținute cu programul Vina [113,116], oferă detalii relevante despre valorile energiei de legătură. VYP demonstrează o afinitate puternică pentru receptorul de tip sălbatic, cu o energie de legare de -8,0 kcal/mol, sugerând o interacțiune robustă și stabilă. În contrast, UE9 arată o afinitate remarcabil de puternică pentru mutația H1047R, înregistrând o energie de -11,05 kcal/mol. Această valoare energetică considerabil mai mică indică o conformație de legare excepțional de stabilă, evidențiind potența și specificitatea îmbunătățite ale ligandului față de receptorul H1047R. Resokaempferol, evaluat în raport cu ambele tipuri de receptori, prezintă o legătură ușor mai puternică cu tipul normal de proteină (*wild type*) (-8,227 kcal/mol) comparativ cu mutația (-8,045 kcal/mol). Diferența mică în energia de legătură sugerează că resokaempferol menține o interacțiune consistentă cu receptorul PI3K $\alpha$ , indiferent de starea sa mutațională, oferind un profil terapeutic versatil care ar putea fi eficient într-o gamă mai largă de patologii legate de PI3K $\alpha$ . Tectochrysin manifestă o tendință similară, cu o interacțiune marginal mai puternică cu tipul normal de proteină (-8,254 kcal/mol) decât cu mutația (-7,844 kcal/mol). Valorile relativ apropiate ale energiilor de legătură între cele două forme indică faptul că tectochrysin, la fel ca resokaempferol, ar putea fi, de asemenea, potrivit pentru a viza atât formele normale, cât și mutațiile receptorului, deși cu o ușoară preferință pentru tipul normal.

**Tabelul 3.8.** Analiza comparativă a andocării moleculare realizată cu software Vina: energiile de legătură pentru variantele de receptori PI3K $\alpha$  [84].

| Cea mai bună configurație de andocare | Ligand         | Receptor      |        |
|---------------------------------------|----------------|---------------|--------|
|                                       |                | PI3K $\alpha$ | H1047R |
| Afinitate                             | VYP            | -8,0          | -      |
| (kcal/mol)                            | UE9            | -             | -11,05 |
|                                       | Resokaempferol | -8,23         | -8,05  |
|                                       | Tectochrysin   | -8,25         | -7,84  |

Informațiile centralizate în tabelul 3.19 au fost obținute în urma andocării moleculare realizate cu programul Glide [84,104]. Pentru legătura VYP – forma normală a proteinei PI3K $\alpha$ , parametrul, XP Glide Score, are valoarea -7,52, ceea ce indică o interacțiune moderat de puternică semnificând formarea unui complex ligand-receptor stabil. Valoarea parametrului, eficiența ligandului în Glide, pentru VYP, este de -0,396, subliniind în continuare eficacitatea acestuia în ceea ce privește energia pe atom greu, optimizându-i designul pentru o legătură puternică. Pe de altă parte, UE9 demonstrează o interacțiune semnificativă cu mutația H1047R, reflectată printr-un scor XP Glide de -10,02. Acest lucru sugerează o legare excepțional de puternică și stabilă, iar eficiența ligandului în Glide de -0,31 indică o utilizare relativ eficientă a structurii sale moleculare pentru legarea de receptorul H1047R.

Resokaempferol prezintă o legare robustă atât la forma normală a receptorului, cât și la mutație, cu un scor XP Glide de -9,63 pentru forma normală și -7,40 pentru mutație. Acest lucru indică o afinitate mai puternică pentru PI3K $\alpha$  – formă normală, completată de o eficiență mai mare a ligandului Glide, de -0,48 comparativ cu -0,37 pentru mutație. Aceste date sugerează că resokaempferol este un ligand versatil, capabil să vizeze eficient ambele variante ale receptorului, deși cu o preferință pentru forma normală. Tectochrysin a fost evaluat în mod similar pentru ambii receptori și a obținut un scor XP Glide de -8,54 pentru forma normală a proteinei iar pentru mutație de -6,47. Eficiența ligandului în Glide are valorile -0,43 pentru forma normală și -0,32 pentru mutație ceea ce sugerează o utilizare rezonabilă a structurii moleculare pentru o legare eficientă, deși prezintă o afinitate și o eficiență mai bună pentru forma normală a proteinei [84].

**Tabelul 3.9.** Analiză comparativă a andocării moleculare utilizând Glide: Valori pentru energiile de legătură pentru variantele proteinei PI3K $\alpha$  [84].

| Ligand         | Cea mai bună configurație de andocare | Receptor      |        |
|----------------|---------------------------------------|---------------|--------|
|                |                                       | PI3K $\alpha$ | H1047R |
| VYP            | Scor XP Glide                         | -7,52         | -      |
|                | Eficiența ligandului în Glide         | -0,39         | -      |
| UE9            | Scor XP Glide                         | -             | -10,02 |
|                | Eficiența ligandului în Glide         | -             | -0,31  |
| Resokaempferol | Scor XP Glide                         | -9,63         | -7,40  |

|              |                               |       |       |
|--------------|-------------------------------|-------|-------|
|              | Eficiența ligandului în Glide | -0,48 | -0,37 |
| Tectochrysin | Scor XP Glide                 | -8,54 | -6,47 |
|              | Eficiența ligandului în Glide | -0,43 | -0,32 |

Rezultatele andocării moleculare evidențiază diferențele de afinitate de legare manifestate de fiecare ligand pe diverse platforme computaționale, evaluându-le potențialul ca agenți terapeutici [84]:

➤ VYP prezintă cea mai mare afinitate de legare față de forma normală a receptorului atunci când este utilizat AutoDock 4, urmat îndeaproape de Vina, în timp ce cea mai puțin eficientă interacțiune a fost observată cu Glide.

➤ UE9 prezintă o afinitate remarcabilă pentru mutația H1047R, obținând cea mai puternică legare în programul Vina, cu scoruri de afinitate ridicate și în Glide și AutoDock 4. Acest lucru subliniază potențiala sa eficacitate împotriva unor mutații specifice ale receptorului;

➤ Resokaempferol prezintă afinitate pentru PI3K $\alpha$  – forma normală, obținând cel mai bun scor în Glide, urmat apoi de AutoDock 4. Totuși, interacțiunea lui cu PI3K $\alpha$  – forma normală a fost mai puțin favorabilă utilizând programul Vina. În ceea ce privește andocarea de mutația H1047R, valorile cele mai favorabile au fost obținute cu AutoDock 4, urmate apoi de Vina, însă, Glide a arătat o eficacitate scăzută a potențialului inhibitor.

➤ Tectochrysin a demonstrat o afinitate bună pentru PI3K $\alpha$  – forma normală prin utilizarea Glide, urmat de Vina, eficacitatea cea mai scăzută obținându-se cu AutoDock 4. Referitor la potențialul său de a inhiba mutația H1047R, cele mai bune rezultate au fost obținute cu Vina, urmate de Glide, iar cele mai slabe au fost oferite de AutoDock 4.

Variațiile indicatorilor potențialului de inhibare subliniază diferențele în modul în care aceste programe evaluează interacțiunile dintre ligand și receptor. Cu toate aceste variații, toate cele trei programe: AutoDock 4, AutoDock Vina și Glide indică rezultate bune *in re-docking* și *cross-docking*, subliniind potențialul celor doi liganzi (resokaempferol și tectochrysin) de a inhiba atât forma normală cât și mutația H1047R a proteinei asociate cu cancerul.

### 3.1.5 Validarea alinierii structurale și analiza MolProbit

Validarea alinierii structurale cu structura nativă este esențială în procesul de *re-docking in silico* al liganzilor nativi și al altor liganzi propuși, din mai multe motive fundamentale științifice și tehnice. Asigurarea acurateții modelării moleculare este esențială: prin alinierea structurii proteinei țintă cu configurația sa nativă, se garantează că modelul molecular utilizat în simulări este cât mai aproape de starea naturală, oferind astfel rezultate precise și relevante în simulările de andocare moleculară. Această validare contribuie, de asemenea, la păstrarea integrității situsului de legare, adică ne asigură că situsurile din proteina modelată corespund cu cele din structura nativă. O astfel de aliniere este esențială pentru andocarea corectă a liganzilor, reflectând interacțiunile moleculare care pot apărea *in vivo* [84].

Mai mult, validarea alinierii structurale îmbunătățește modalitatea de comparare a rezultatelor. Aceasta permite o comparație directă între rezultatele obținute pentru liganzii nativi și cei propuși, eliminând erorile sistematice care ar putea apărea din diferențele de conformație

dintre structurile modelate și cele native. În plus, acest proces ajută la identificarea și corectarea erorilor care ar fi putut fi introduse în timpul procesului de modelare, cum ar fi distorsiunile lanțurilor laterale, atribuirea incorectă a legăturilor de hidrogen sau prezența unor reziduuri neadekvate în situsul activ. Fiabilitatea metodologică este semnificativ îmbunătățită prin validarea alinierii structurale, oferind un standard de referință pentru evaluarea robusteții metodologiilor de *re-docking in silico*. Acest pas de validare asigură că metodele de simulare și modelare utilizate sunt atât robuste, cât și repetabile. În plus, garantează relevanța biologică a modelului; fără alinierea structurală, modelul ar putea să nu reflecte corespunzător contextul biologic al proteinei țintă. Asigurarea faptului că structura modelată este relevantă din punct de vedere biologic permite o evaluare mai realistă a potențialului terapeutic al liganzilor studiați [84].

Modelarea precisă a naturii dinamice a conformațiilor proteice ca răspuns la legarea ligandului reprezintă o provocare în domeniul andocării proteină-ligand. Pentru a determina fiabilitatea rezultatelor obținute din andocare, am aplicat metodologii de aliniere structurală și am analizat configurațiile rezultate din experimentele de auto-andocare (*re-docking*) și de andocare încrucișată (*cross-docking*). Aceste modele au fost suprapuse pe complexe native co-cristalizate, oferind un cadru solid pentru validarea integrității conformaționale a interacțiunilor prezise. Această abordare asigură faptul că simulările de andocare reprezintă fidel dinamica structurală observată în sistemele biologice.

În acest scop, am utilizat metoda de Aliniere Structurală Pereche (*Pairwise Structure Alignment*), folosind instrumentele online disponibile pe platforma RCSB PDB [133]. Alinierea structurală este o abordare computațională care urmărește să stabilească corespondența între reziduurile a două sau mai multe structuri macromoleculare prin suprapunerea optimă a formelor și conformațiilor lor tridimensionale. Această tehnică include opțiuni pentru alinierea structurală pereche, unde structurile sunt comparate în perechi pentru a determina similitudinile lor spațiale și conformaționale.

În urma aliniamentului structural pereche, valorile parametrilor care descriu similaritatea structurală au fost centralizate în tabelele 3.20 – 3.23. Rezultatele obținute din alinierea tuturor structurilor de referință sunt caracterizate cantitativ prin mai mulți parametri [84, 136]:

- *abaterea medie pătratică* (RMSD), exprimată în angstromi (Å), este calculată între perechile de atomi de carbon alfa din structurile suprapuse. O valoare mai mică a RMSD indică o mai bună aliniere structurală între perechile de structuri, fiind un indice frecvent raportat în comparațiile structurale. Totuși, RMSD este sensibilă la deviațiile din structura locală, iar reziduurile din buclele care nu sunt bine alinierte sunt, de obicei, excluse din calculul RMSD, care se efectuează doar folosind reziduurile care pot fi alinierte eficient;

- *scorul modelării cu șablon* (*TM-score*) este un parametru util pentru a evalua cât de bine se aliază structurile la nivel global și pentru a compara eficient structuri de dimensiuni diferite, evitând sensibilitatea la diferențele locale de structură care pot influența alte măsuri precum RMSD. Acest parametru variază între 0 și 1, unde 1 reprezintă alinierea perfectă, iar 0 – nicio potrivire între cele două structuri. Un scor TM sub 0,2 sugerează că proteinele nu sunt similare, iar valorile peste 0,5 indică, în general, că proteinele au aceeași structură de bază, adesea clasificate conform unor baze de date precum Scop sau Cath.

- *identitate* reprezintă procentul de reziduuri pereche în aliniament care sunt identice în secvență;

- *reziduurile alinierte* se referă la numărul de perechi de resturi (aminoacizi) care sunt structural echivalente în aliniament (numărul de aminoacizi care sunt comparați între structuri pentru a evalua similaritatea structurală și funcțională);

- *lungimea secvenței* reprezintă numărul total de resturi polimerice în secvența depusă pentru un anumit lanț;
- *reziduuri modelate* indică numărul de resturi cu coordonate care au fost utilizate pentru alinierea structurii, oferind informații despre extinderea modelului acoperit de aliniament.

**Tabelul 3.10.** Validarea comparativă a aliniamentului structural a structurii cristaline 7K71 cu rezultatele auto-andocării utilizând Glide, AutoDock 4 (AD4) și Vina pentru complexul proteina forma normală - PI3K $\alpha$  și inhibitorul nativ VYP [84].

| Aliniament structural<br>pereche | 7K71<br>RCSB PDB | Glide<br>Auto-andocare | AD 4<br>Auto-andocare | Vina<br>Auto-andocare |
|----------------------------------|------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Lanț                             | A                | A                      | A                     | A                     |
| RMSD                             | -                | 0,17                   | 0                     | 0                     |
| TM-score                         | -                | 1                      | 1                     | 1                     |
| Identitate                       | -                | 99%                    | 100%                  | 67%                   |
| Reziduuri aliniate               | -                | 843                    | 843                   | 843                   |
| Lungimea secvenței               | 946              | 843                    | 843                   | 843                   |
| Reziduuri modelate               | 843              | 843                    | 843                   | 843                   |

**Tabelul 3.11.** Validarea comparativă a aliniamentului structural a structurii cristaline 8TS9 cu rezultatele auto-andocării utilizând Glide, AutoDock 4 (AD4) și Vina pentru complexul mutația H1047R a proteinei PI3K $\alpha$  și inhibitorul nativ UE9 [84].

| Aliniament structural<br>pereche | 8TS9<br>RCSB PDB | Glide<br>Auto-andocare | AD 4<br>Auto-andocare | Vina<br>Auto-andocare |
|----------------------------------|------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Lanț                             | A                | A                      | A                     | A                     |
| RMSD                             | -                | 0.17                   | 0                     | 0                     |
| TM-score                         | -                | 1                      | 1                     | 1                     |
| Identitate                       | -                | 99%                    | 100%                  | 100%                  |
| Reziduuri aliniate               | -                | 1,004                  | 1,004                 | 1,004                 |
| Lungimea secvenței               | 1,060            | 1,004                  | 1,004                 | 1,004                 |
| Reziduuri modelate               | 1,004            | 1,004                  | 1,004                 | 1,004                 |

**Tabelul 3.12.** Validarea comparativă a aliniamentului structural a structurii cristaline 7K71 cu rezultatele andocare- încrucișată utilizând Glide, AutoDock 4 (AD4) și Vina pentru complexul proteina forma normală - PI3K $\alpha$  și posibilia liganzi resokaempferol și tectochrysin [84].

| Aliniament structural<br>pereche | 7K71<br>RCSB PDB | Glide<br>cross<br>Docking | AD 4<br>cross<br>Docking | Vina<br>cross<br>Docking |
|----------------------------------|------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Lanț                             | A                | A                         | A                        | A                        |
| RMSD                             | -                | 0,29                      | 0                        | 0                        |

|                    |     |     |      |     |
|--------------------|-----|-----|------|-----|
| TM-score           | -   | 1   | 1    | 1   |
| Identitate         | -   | 99% | 100% | 67% |
| Reziduuri aliniate | -   | 843 | 843  | 843 |
| Lungimea secvenței | 946 | 843 | 843  | 843 |
| Reziduuri modelate | 843 | 843 | 843  | 843 |

**Tabelul 3.13.** Validarea comparativă a aliniamentului structural a structurii cristaline 7K71 cu rezultatele andocare- încrucișată utilizând Glide, AutoDock 4 (AD4) și Vina pentru complexul mutația H1047R a proteinei PI3K $\alpha$  și i posibillii liganzi resokaempferol și tectochrysin [84].

| Aliniament structural pereche | 8TS9 RCSB PDB | Glide cross docking | AD 4 cross docking | Vina cross docking |
|-------------------------------|---------------|---------------------|--------------------|--------------------|
| Lanț                          | A             | A                   | A                  | A                  |
| RMSD                          | -             | 0.17                | 0                  | 0                  |
| TM-score                      | -             | 1                   | 1                  | 1                  |
| Identitate                    | -             | 99%                 | 100%               | 100%               |
| Reziduuri aliniate            | -             | 1,004               | 1,004              | 1,004              |
| Lungimea secvenței            | 1,060         | 1,004               | 1,004              | 1,004              |
| Reziduuri modelate            | 1,004         | 1,004               | 1,004              | 1,004              |

Toate aceste rezultate subliniază alinierea reușită și potrivirea identității între perechile obținute prin auto-andocare și andocare încrucișată (cross-docking) cu structurile lor native corespunzătoare. În funcție de programele de andocare utilizate, procentele de identitate între perechile aliniat au variat de la 67% la 100%. În plus, valorile RMSD au fost foarte favorabile (toate sub 2), indicând un grad ridicat de congruență structurală. De asemenea, scorurile TM au fost excepțional de ridicate, toate atingând valoarea maximă de 1, subliniind precizia și eficacitatea abordărilor de andocare în replicarea interacțiunilor asemănătoare cu cele native. În concluzie, validarea aliniamentului structural cu structura nativă este un pas esențial în procesul de *re-docking in silico*. Aceasta asigură acuratețea, comparabilitatea, fiabilitatea și relevanța biologică a simulărilor și evaluărilor efectuate. Acest lucru contribuie semnificativ la încrederea în rezultatele obținute și susține deciziile ulterioare în dezvoltarea de noi terapii medicamentoase [84].

MolProbity este o platformă destinată validării calității structurilor 3D, inclusiv proteine, acizi nucleici și complexe lor. Aceasta oferă o analiză cuprinzătoare a contactelor atomice pentru a identifica și rezolva eventualele coliziuni sterice în cadrul moleculelor. De asemenea, MolProbity furnizează diagnostice avansate privind unghiurile diedrale și poate calcula și reprezenta vizual legăturile de hidrogen și interacțiunile van der Waals la interfețele dintre componente [137].

Analiza a fost realizată evaluând mai mulți parametri importanți [137]:

- *Clashscore (Scor de ciocniri sterice)*: măsoară numărul de ciocniri sterice la fiecare 1000 de atomi în model, unde o ciocnire sterică este definită ca o situație în care atomii sunt mai aproape unul de altul decât este permis de razele lor van der Waals, indicând posibile probleme structurale;
- *Rotamerii nefavorabili*: sunt acele lanțuri laterale ale aminoacizilor care nu se conformează pozițiilor rotative energetice favorabile;
- *Rotamerii favorabili*: reprezintă acele conformații care se află într-o poziție favorabilă din punct de vedere energetic;
- *Valori neobișnuite Ramachandran*: sunt reziduuri ale căror unghiuri diedrale de bază ( $\phi$  și  $\psi$ ) se află în zone ale graficului Ramachandran care, în structuri de încredere, sunt rar ocupate;
- *Valori favorabile Ramachandran*: se referă la reziduuri care se încadrează în cele mai favorabile zone ale graficului Ramachandran;
- *Scorul Z al distribuției Ramachandran*: este o măsură statistică care reprezintă abaterea generală a setului de unghiuri diedrale  $\phi$ - $\psi$  de la cele găsite de obicei în structuri de înaltă calitate, oferind o evaluare normalizată a calității conformației scheletului principal;
- *Scorul MolProbity* este un parametru general de calitate derivat din analiza tuturor celorlalte măsuri, care rezumă calitatea modelului cu un singur număr, unde valorile mai mici indică o mai bună integritate structurală.
- *Deviațiile  $C\beta$  mai mari de 0,25 Å* indică locurile în care atomii de carbon beta se abat semnificativ de la pozițiile lor așteptate, ceea ce poate afecta stabilitatea structurală generală;
- *Legăturile incorecte (Bad bonds)*: sunt indicatori ai legăturilor chimice din proteină care se abat semnificativ de la valorile așteptate;
- *Unghiurile incorecte (Bad angles)*: sunt indicatori ai unghiurilor de legătură din proteină care se abat semnificativ de la valorile așteptate ceea ce duce adesea la deformări structurale;
- *CaBLAM outliers* este un indicator utilizat în special pentru validarea structurilor de rezoluție scăzută și reprezintă conformațiile necorespunzătoare în structura proteinei detectate prin metoda *C-alpha Based Low-resolution Annotation Method*;
- *CA Geometry outliers* implică abateri în geometria atomilor de carbon alfa, indicând posibile inexactități în modelarea proteinei.

Validarea rezultatelor obținute prin andocare, după evaluarea parametrilor a fost clasificată în trei niveluri: *bun*, *atenție* și *avertisment*. Aceste clasificări se bazează pe referințele standardizate furnizate în „*Key to Table Cutoffs*” disponibile pe platforma MolProbity. Această abordare structurată asigură că fiecare aspect al structurii moleculare este evaluat conform reperelor stabilite, permițând o interpretare clară și consistentă a calității structurale și a posibilelor zone de îngrijorare din modelele analizate. Rezultatele acestei analize complexe au fost prezentate în tabelele 3.24 – 3.29.

**Tabelul 3.14.** Analiza MolProbity a contactelor și geometriei tuturor atomilor pentru cel mai bun rezultat obținut prin auto- andocare între proteina PI3K $\alpha$  (forma normală) și inhibitorul nativ VYP

| Categorie           | Parametri                              | Valoare | Procent | Validare <sup>1</sup>                     |
|---------------------|--|---------|---------|---|
| Interacțiuni atomi  | Clashscore                             | 0       |         | Bun: 100% (N=1784, toate rezoluțiile)     |
| Geometria proteinei | <i>Rotamerii nefavorabili</i>          | 9       | 1,18%   | Atenție: 0,3% < nefavorabili $\leq$ 1,5%  |
|                     | <i>Rotamerii favorabili</i>            | 738     | 96,72%  | Atenție: 98% > Favorabili $\geq$ 95%      |
|                     | <i>Valori neobișnuite Ramachandran</i> | 2       | 0,25%   | Atenție: 0,05% < Defavorabili $\leq$ 0,5% |

| Categorie                  | Parametri                             | Valoare      | Procent | Validare <sup>1</sup>                  |
|----------------------------|---------------------------------------|--------------|---------|--|
|                            | Valori favorabile Ramachandran        | 760          | 96,32%  | Atenție: 98% > Favorabili ≥ 95%        |
|                            | Scorul Z al distribuției Ramachandran | -1,46 ± 0,27 |         | Bun: abs(Z-score) ≤ 2                  |
|                            | Scor MolProbit                        | 0,80         |         | Bun: 100% (N=27675, 0Å - 99Å)          |
|                            | Deviații Cβ > 0,25Å                   | 1            | 0,12%   | Atenție: 0 < nefavorabili < 5%         |
|                            | Legături incorecte                    | 0/6,928      | 0,00%   | Bun: Legături incorecte < 0,01%        |
|                            | Unghiuri incorecte                    | 66/9,335     | 0,71%   | Avertisment: Unghiuri incorecte ≥ 0,5% |
| Criteriu rezoluție scăzută | CaBLAM outliers                       | 6            | 0,7%    | Bun: nefavorabil ≤ 1%                  |
|                            | CA Geometry outliers                  | 5            | 0,62%   | Atenție: 0,5% < nefavorabili < 1%      |

<sup>1</sup> Key to table cutoffs: [http://molprobit.biochem.duke.edu/help/validation\\_options/summary\\_table\\_guide.html](http://molprobit.biochem.duke.edu/help/validation_options/summary_table_guide.html).

**Tabelul 3.15.** Analiza MolProbit a contactelor și geometriei tuturor atomilor pentru cel mai bun rezultat obținut prin auto- andocare între mutația H1047R, a proteinei PI3Ka și inhibitorul nativ UE9.

| Categorie                  | Parametri                             | Valoare      | Procent | Validare <sup>1</sup>                  |
|----------------------------|---------------------------------------|--------------|---------|--|
| Interacțiuni atomi         | Clashscore                            | 1,9          |         | Bun: 99% (N=1784, toate rezoluțiile)   |
| Geometria proteinei        | Rotamerii nefavorabili                | 13           | 1,43%   | Atenție: 0,3% < Nefavorabili ≤ 1,5%    |
|                            | Rotamerii favorabili                  | 858          | 94,49%  | Avertisment: Favorabili < 95%          |
|                            | Valori neobișnuite Ramachandran       | 1            | 0,10%   | Atenție: 0,05% < Nefavorabili ≤ 0,5%   |
|                            | Valori favorabile Ramachandran        | 932          | 97,29%  | Atenție: 98% > Favorabili ≥ 95%        |
|                            | Scorul Z al distribuției Ramachandran | -1,81 ± 0,25 |         | Bun: abs(Z-score) ≤ 2                  |
|                            | Scor MolProbit                        | 1,21         |         | Bun: 99% (N=27675, 0Å - 99Å)           |
|                            | Deviații Cβ > 0,25Å                   | 4            | 0,42%   | Atenție: 0 < Nefavorabili < 5%         |
|                            | Legături incorecte                    | 0/8,232      | 0,00%   | Bun: Legături incorecte < 0,01%        |
|                            | Unghiuri incorecte                    | 80/11,100    | 0,72%   | Avertisment: Unghiuri incorecte ≥ 0,5% |
| Criteriu rezoluție scăzută | CaBLAM outliers                       | 9            | 0,9%    | Bun: Nefavorabili ≤ 1%                 |
|                            | CA Geometry outliers                  | 4            | 0,41%   | Bun: Nefavorabili ≤ 0,5%               |

<sup>1</sup> Key to table cutoffs: [http://molprobit.biochem.duke.edu/help/validation\\_options/summary\\_table\\_guide.html](http://molprobit.biochem.duke.edu/help/validation_options/summary_table_guide.html).

**Tabelul 3.16.** Analiza MolProbit a contactelor și geometriei tuturor atomilor pentru cel mai bun rezultat obținut prin cross-docking între proteina PI3Ka (forma normală) și potențialul inhibitor resokaempferol

| Categorie           | Parametri                       | Valoare | Procent | Validare <sup>1</sup>                             |
|---------------------|---------------------------------|---------|---------|---|
| Interacțiuni atomi  | Clashscore                      | 2,33    |         | Bun: 99% (N=1784, toate rezoluțiile)              |
| Geometria proteinei | Rotamerii nefavorabili          | 7       | 0,92%   | Atenție: 0,3% < Nefavorabili ≤ 1,5%               |
|                     | Rotamerii favorabili            | 732     | 95,81%  | Atenție: 98% > Favorabili ≥ 95%                   |
|                     | Valori neobișnuite Ramachandran | 1       | 0,13%   | Atenție: nefavorabili > 0,5% și nr nefavorabili=1 |
|                     | Valori favorabile Ramachandran  | 761     | 96,09%  | Atenție: 98% > Favorabil ≥ 95%                    |



|                                       |                      |       |  |
|---------------------------------------|----------------------|-------|--|
| Scorul Z al distribuției Ramachandran | -1,91 ± 0,27         |       | Bun: abs(Z-score) ≤ 2                  |
| Scor MolProbit                        | 1,28                 |       | Bun: 99% (N=27675, 0Å - 99Å)           |
| Deviații Cβ > 0.25Å                   | 1                    | 0,12% | Atenție: 0 < Nefavorabil < 5%          |
| Legături incorecte                    | 0/6,928              | 0,00% | Bun: Legături incorecte < 0,01%        |
| Unghiuri incorecte                    | 67/9,339             | 0,72% | Avertisment: Unghiuri incorecte ≥ 0,5% |
| Criteriu rezoluție scăzută            | CaBLAM outliers      | 11    | 1,40% Bun: Nefavorabil ≤ 1%            |
|                                       | CA Geometry outliers | 4     | 0,50% Atenție: Nefavorabil ≤ 0,5%      |

<sup>1</sup> Key to table cutoffs: [http://molprobit.biochem.duke.edu/help/validation\\_options/summary\\_table\\_guide.html](http://molprobit.biochem.duke.edu/help/validation_options/summary_table_guide.html).

**Tabelul 3.17.** Analiza MolProbit a contactelor și geometriei tuturor atomilor pentru cel mai bun rezultat obținut prin cross-docking între mutația H1047R și potențialul inhibitor resokaempferol

| Categorie                  | Parametri                             | Valoare      | Procent | Validare <sup>1</sup>                            |
|----------------------------|---------------------------------------|--------------|---------|--|
| Interacțiuni atomi         | Clashscore                            | 1,84         |         | Bun: 99% (N=1784, toate rezoluțiile)             |
| Geometria proteinei        | <i>Rotamerii nefavorabili</i>         | 13           | 1,43%   | Atenție: 0,3% < Nefavorabili ≤ 1,5%              |
|                            | <i>Rotamerii favorabili</i>           | 858          | 94,49%  | Avertisment: Favorabil < 95%                     |
|                            | Valori neobișnuite Ramachandran       | 1            | 0,10%   | Atenție: Nefavorabil > 0,5% și nr nefavorabili=1 |
|                            | Valori favorabile Ramachandran        | 932          | 97,29%  | Atenție: 98% > Favorabil ≥ 95%                   |
|                            | Scorul Z al distribuției Ramachandran | -1,81 ± 0,25 |         | Bun: abs(Z-score) ≤ 2                            |
|                            | Scor MolProbit                        | 1,20         |         | Bun: 99% (N=27675, 0Å - 99Å)                     |
|                            | Deviații Cβ > 0.25Å                   | 4            | 0,42%   | Atenție: 0 < Nefavorabil < 5%                    |
|                            | Legături incorecte                    | 0/8,232      | 0,00%   | Bun: Legături incorecte < 0,01%                  |
|                            | Unghiuri incorecte                    | 80/11,100    | 0,72%   | Avertisment: Unghiuri incorecte ≥ 0,5%           |
| Criteriu rezoluție scăzută | CaBLAM outliers                       | 9            | 0,9%    | Bun: Nefavorabil ≤ 1%                            |
|                            | CA Geometry outliers                  | 4            | 0,41%   | Bun: Nefavorabil ≤ 0,5%                          |

<sup>1</sup> Key to table cutoffs: [http://molprobit.biochem.duke.edu/help/validation\\_options/summary\\_table\\_guide.html](http://molprobit.biochem.duke.edu/help/validation_options/summary_table_guide.html).

**Tabelul 3.18.** Analiza MolProbit a contactelor și geometriei tuturor atomilor pentru cel mai bun rezultat obținut prin cross-docking între proteina PI3Kα (forma normală) și potențialul inhibitor tectochrysin

| Categorie           | Parametri                             | Valoare      | Procent | Validare <sup>1</sup>                             |
|---------------------|---------------------------------------|--------------|---------|---|
| Interacțiuni atomi  | Clashscore                            | 2,33         |         | Bun: 99% (N=1784, toate rezoluțiile)              |
| Geometria proteinei | <i>Rotamerii nefavorabili</i>         | 7            | 0,92%   | Atenție: 0,3% < Nefavorabili ≤ 1,5%               |
|                     | <i>Rotamerii favorabili</i>           | 732          | 95,81%  | Avertisment: Favorabil < 95%                      |
|                     | Valori neobișnuite Ramachandran       | 1            | 0,13%   | Atenție: nefavorabili > 0,5% și nr nefavorabili=1 |
|                     | Valori favorabile Ramachandran        | 761          | 96,09%  | Atenție: 98% > Favorabil ≥ 95%                    |
|                     | Scorul Z al distribuției Ramachandran | -1,91 ± 0,27 |         | Bun: abs(Z-score) ≤ 2                             |
|                     | Scor MolProbit                        | 1,28         |         | Bun: 99% (N=27675, 0Å - 99Å)                      |

|                            |                            |          |       |   |
|----------------------------|----------------------------|----------|-------|---|
|                            | Deviații C $\beta$ > 0.25Å | 1        | 0,12% | Atenție: 0 < Nefavorabil < 5%               |
|                            | Legături incorecte         | 0/6,928  | 0,00% | Bun: Legături incorecte < 0,01%             |
|                            | Unghiuri incorecte         | 67/9,339 | 0,72% | Avertisment: Unghiuri incorecte $\geq$ 0,5% |
| Criteriu rezoluție scăzută | CaBLAM outliers            | 11       | 1,40% | Bun: Nefavorabil $\leq$ 1%                  |
|                            | CA Geometry outliers       | 4        | 0,50% | Bun: Nefavorabil $\leq$ 0,5%                |

<sup>1</sup> Key to table cutoffs: [http://molprobit.biochem.duke.edu/help/validation\\_options/summary\\_table\\_guide.html](http://molprobit.biochem.duke.edu/help/validation_options/summary_table_guide.html).

**Tabelul 3.19.** Analiza MolProbit a contactelor și geometriei tuturor atomilor pentru cel mai bun rezultat obținut prin cross-docking între mutația H1047R și potențialul inhibitor tectochrysin

| Categorie            | Parametri                             | Valoare          | Procent | Validare <sup>1</sup>                            |
|----------------------|---------------------------------------|------------------|---------|--|
| Interacțiuni atomi   | Clashscore                            | 1,9              |         | Bun: 99% (N=1784, toate rezoluțiile)             |
| Geometria proteinei  | Rotamerii nefavorabili                | 13               | 1,43%   | Atenție: 0,3% < Nefavorabili $\leq$ 1,5%         |
|                      | Rotamerii favorabili                  | 858              | 94,49%  | Avertisment: Favorabil < 95%                     |
|                      | Valori neobișnuite Ramachandran       | 1                | 0,10%   | Atenție: Nefavorabil > 0,5% și nr nefavorabili=1 |
|                      | Valori favorabile Ramachandran        | 932              | 97,29%  | Atenție: 98% > Favorabil $\geq$ 95%              |
|                      | Scorul Z al distribuției Ramachandran | -1,81 $\pm$ 0,25 |         | Bun: abs(Z-score) $\leq$ 2                       |
|                      | Scor MolProbit                        | 1,21             |         | Bun: 99% (N=27675, 0Å - 99Å)                     |
|                      | Deviații C $\beta$ > 0.25Å            | 4                | 0,42%   | Atenție: 0 < Nefavorabil < 5%                    |
|                      | Legături incorecte                    | 0/8,232          | 0,00%   | Bun: Legături incorecte < 0,01%                  |
|                      | Unghiuri incorecte                    | 80/11,100        | 0,72%   | Avertisment: Unghiuri incorecte $\geq$ 0,5%      |
|                      | Criteriu rezoluție scăzută            | CaBLAM outliers  | 9       | 0,9%   |
| CA Geometry outliers |                                       | 4                | 0,41%   | Bun: Nefavorabil $\leq$ 0,5%                     |

<sup>1</sup> Key to table cutoffs: [http://molprobit.biochem.duke.edu/help/validation\\_options/summary\\_table\\_guide.html](http://molprobit.biochem.duke.edu/help/validation_options/summary_table_guide.html).

Analiza celor mai bune perechi moleculare obținute folosind platforma MolProbit relevă că majoritatea parametrilor au valori în intervalele optime, subliniind integritatea structurală și acuratețea compușilor modelați. Scorul MolProbit, care reflectă calitatea generală a modelului, a fost bun. Cu toate acestea, au fost observate discrepanțe minore în poziționarea unor atomi de carbon beta, sugerând zone care ar putea necesita perfecționări suplimentare. În ceea ce privește integritatea legăturilor și unghiurilor, absența legăturilor necorespunzătoare indică o conectivitate covalentă perfectă. Totuși, o mică proporție a unghiurilor au fost marcate ca fiind anormale, necesitând o inspectare mai atentă a configurațiilor unghiurilor în anumite zone ale structurii proteice pentru a asigura corectitudinea structurală. În general, analiza validează stabilitatea modelelor structurale, cu majoritatea parametrilor arătând o conformitate excelentă față de standardele așteptate. Puținele zone marcate pentru atenție oferă informații valoroase pentru optimizare, având scopul de a îmbunătăți precizia simulărilor noastre moleculare.

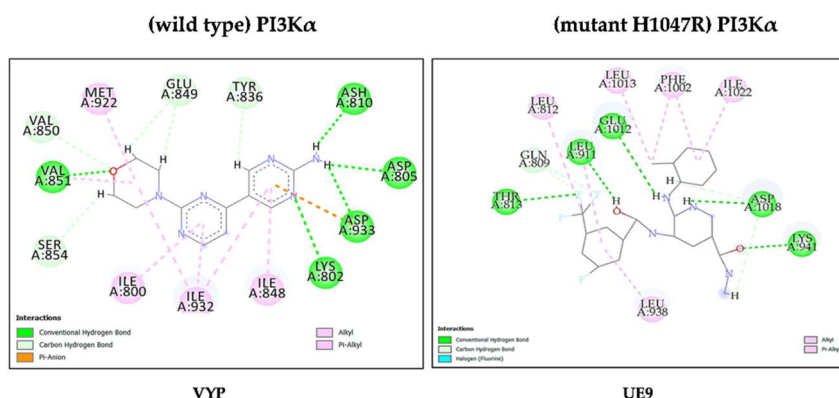
### 3.1.6 Analiza interacțiunilor moleculare

Programele Discovery Studio și PyMOL au fost utilizate pentru vizualizarea și analizarea interacțiunilor dintre inhibitorii nativi respectiv potențialii liganzi și cele două variante ale proteinei PI3K $\alpha$  (forma normală și mutația sa) [84,132,138]. Aceste instrumente au facilitat examinarea detaliată a adnotațiilor bidimensionale, tridimensionale și de suprafață, oferind o perspectivă complexă asupra modului în care aceste molecule interacționează la nivel molecular. Această abordare nu doar că a aprofundat înțelegerea noastră privind legarea ligandului, dar a și

evidențiat punctele cheie de interacțiune și caracteristicile structurale esențiale din cadrul complexelor proteice.

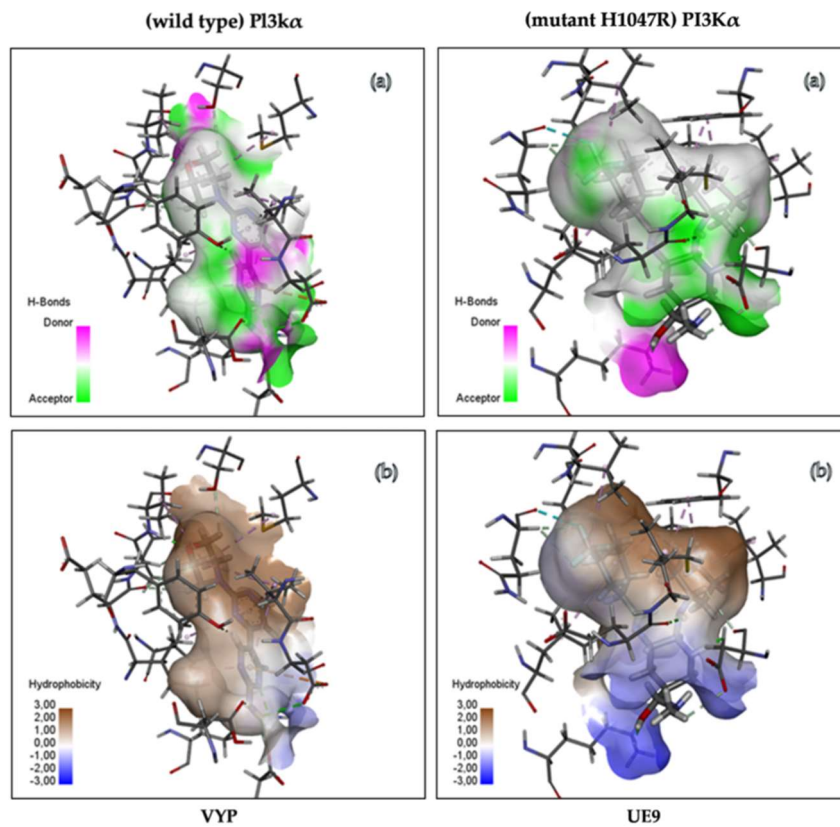
În prezentul studiu de andocare moleculară, liganzii andocați la situsurile active de inhibiție ale proteinelor receptor prezintă o varietate de interacțiuni complexe. Aceste interacțiuni includ legături de hidrogen convenționale, legături de hidrogen carbonice, legături acceptor-acceptor nefavorabile, legături pi-pi stivuite, o legătură pi-pi în formă de T, legături alchil, legături pi-alchil, interacțiuni pi-sulf, legături de halogen (fluor) și interacțiuni pi-anion. Fiecare tip de interacțiune joacă un rol esențial în procesul de andocare moleculară și poate influența fie pozitiv, fie negativ, activitatea inhibitorie a liganzilor [84].

Reprezentările grafice ale interacțiunilor dintre proteina PI3K $\alpha$  (forma normală și mutația) și inhibitorii nativi se regăsesc în figura 3.11.



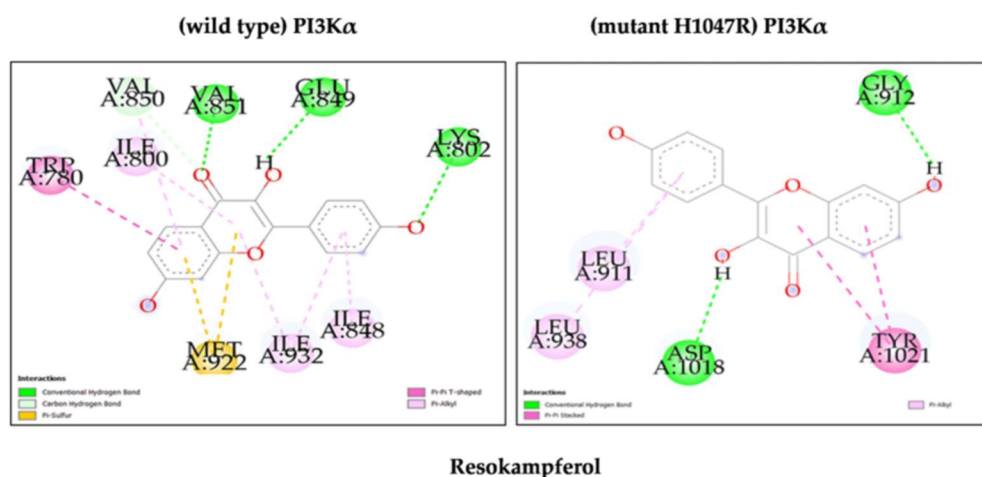
**Figura 3.7.** Diagrama 2D a interacțiunilor dintre inhibitorii nativi și proteina PI3K $\alpha$ : VYP cu PI3K $\alpha$  (forma normală) și UE9 cu PI3K $\alpha$  (mutația H1047R) [84].

Reprezentarea tridimensională a legăturilor de hidrogen (acceptor-donor) și ale suprafețelor hidrofobe, cu valori variind de la -3 la 3, au fost create pentru a ajuta la vizualizarea acestor interacțiuni moleculare. Acestea oferă o reprezentare detaliată a distribuției spațiale și a intensității interacțiunilor, evidențiind zonele critice din cadrul locului de legare (vezi figura 3.12).



**Figura 3.8.** Reprezentarea 3D a interacțiunilor dintre inhibitorii nativi și proteina PI3K $\alpha$ : VYP cu PI3K $\alpha$  (forma normală) și UE9 cu PI3K $\alpha$  (mutația H1047R), subliniind (a) legăturile de hidrogen și (b) suprafețele hidrofobe [84].

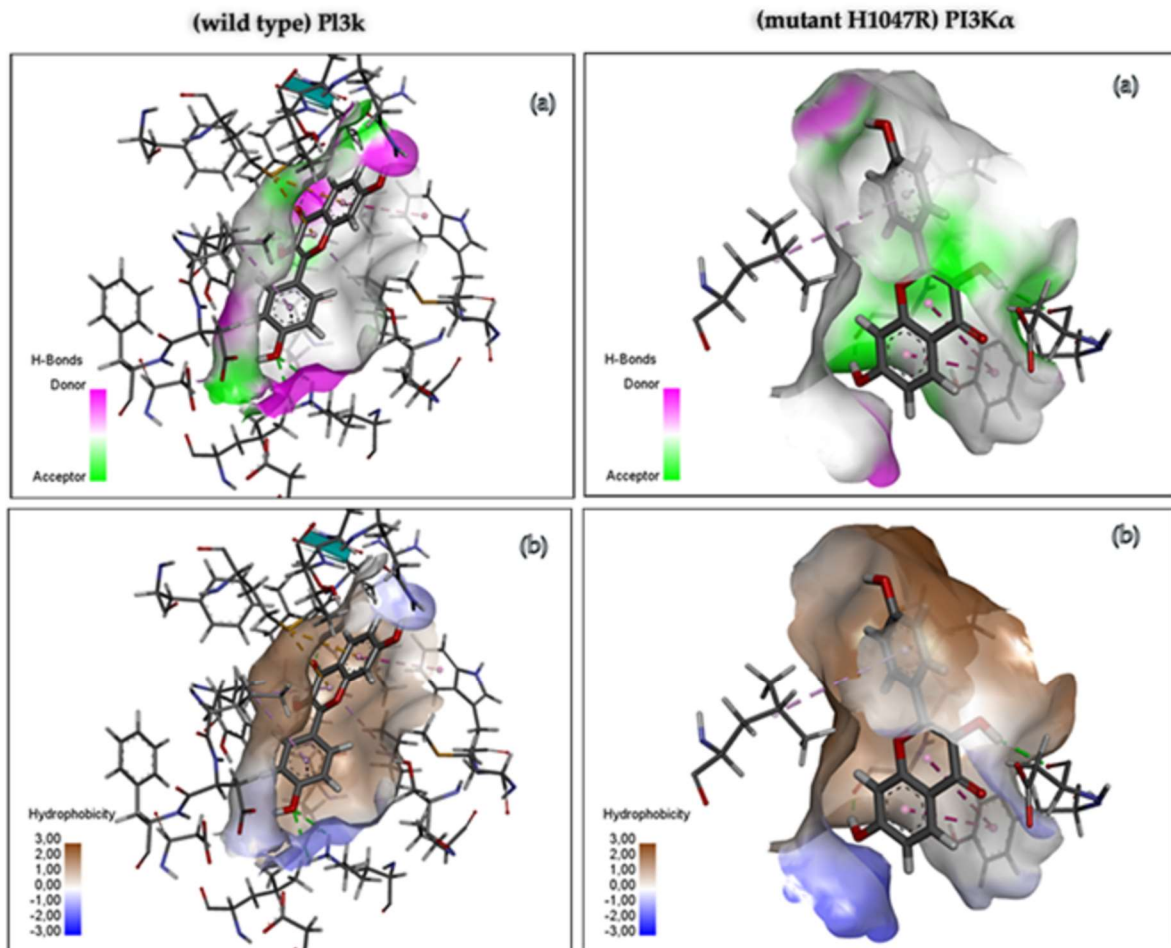
În interacțiunea dintre resokaempferol și proteina PI3K $\alpha$  – forma normală (vezi figura 3.13), ligandul prezintă o varietate de interacțiuni de legare la situsurile active de inhibiție. Aceste interacțiuni includ trei legături de hidrogen convenționale cu reziduurile VAL 851, GLU 849 și LYS 802, împreună cu o legătură carbon-hidrogen ce implică reziduul VAL 850. De asemenea, se observă o legătură pi-sulfur cu reziduul MET 922, definită ca un tip de interacțiune în care norul de electroni  $\pi$  al unui inel aromatic interacționează cu atomul de sulf al unui grup tiol, sporind stabilitatea și afinitatea de legare a ligandului. În plus, se întâlnește o interacțiune pi-pi în formă de T cu reziduul TRP 780, caracterizată prin orientarea perpendiculară a două inele aromatice, facilitând interacțiuni aromatice puternice. De asemenea, sunt prezente cinci legături pi-alchil, două dintre ele fiind cu reziduul ILE 800, două cu reziduul ILE 932 și una cu reziduul ILE 848, contribuind la interacțiunile hidrofobe care stabilizează ligandul în interiorul situsului de legare [84].



**Figura 3.9.** Diagrama 2D a interacțiunilor dintre potențialul inhibitor resokaempferol și proteina PI3Kα (forma normală) și mutația H1047R [84].

În interacțiunea dintre resokaempferol și mutația H1047R a proteinei PI3Kα, ligandul formează câteva legături distincte la nivelul situsurilor active de inhibare. Acestea includ două legături convenționale de hidrogen cu aminoacizii ASP 1018 și GLY 912, care sunt esențiale pentru stabilitatea legării ligandului la situsul activ al proteinei. În plus, ligandul formează două legături pi-pi suprapuse cu reziduul TYR 1021, definite ca interacțiuni în care două inele aromatice sunt paralele între ele, sporind interacțiunile aromatice esențiale pentru afinitatea de legare a ligandului. De asemenea, două legături pi-alchil cu reziduurile LEU 911 și LEU 938 contribuie la interacțiunile hidrofobe, consolidând și mai mult poziția ligandului (vezi figura 3.13). Reprezentarea tridimensională asociată care ilustrează legăturile de hidrogen și suprafețele de hidrofobitate este redată de figura 3.14 [84].

În interacțiunea moleculară dintre tectochrysin și proteina PI3Kα (forma normală), ligandul prezintă o gamă complexă de interacțiuni de legare la situsurile active (vezi figurile 3.15 și 3.16). Acestea includ trei legături de hidrogen convenționale cu aminoacidul VAL 851, care îmbunătățesc stabilitatea ligandului în interiorul situsului de legare. În plus, există o legătură carbon-hidrogen cu aminoacidul VAL 850, contribuind la conformația generală a legării. Ligandul formează, de asemenea, două legături pi-sulfur cu aminoacidul MET 922, care sunt interacțiuni ce au loc între electronii  $\pi$  ai unui inel aromatic și un atom de sulf. Acest tip de legătură este semnificativ în recunoașterea moleculară și poate influența afinitatea și specificitatea legării moleculelor, în special în sisteme biologice [84].



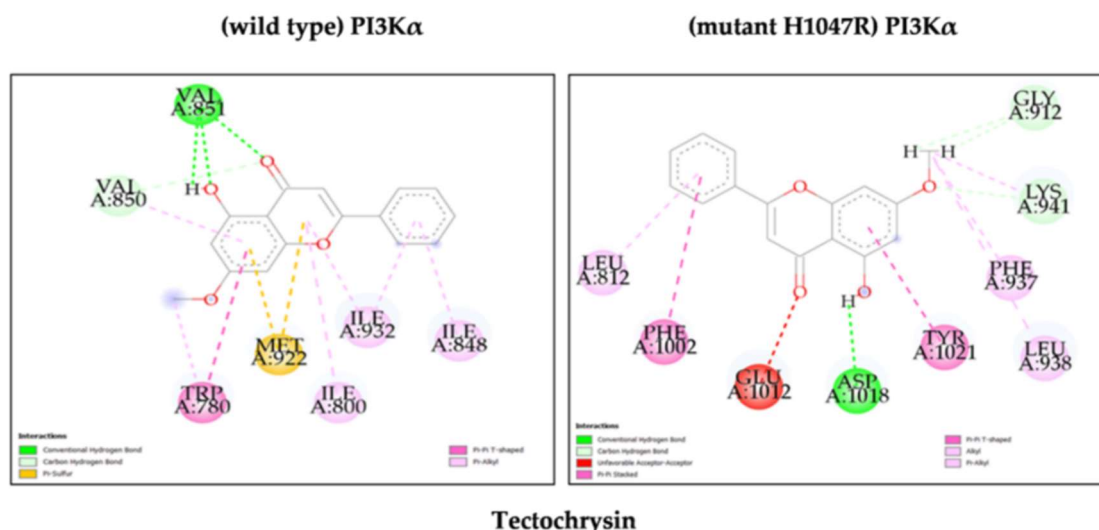
### Resokampferol

**Figura 3.10.** Reprezentarea 3D a interacțiunilor dintre potențialul inhibitori, resokaempferol și proteina PI3K $\alpha$  (forma normală), respectiv mutația H1047R, subliniind (a) legăturile de hidrogen și (b) suprafețele hidrofobe [84].

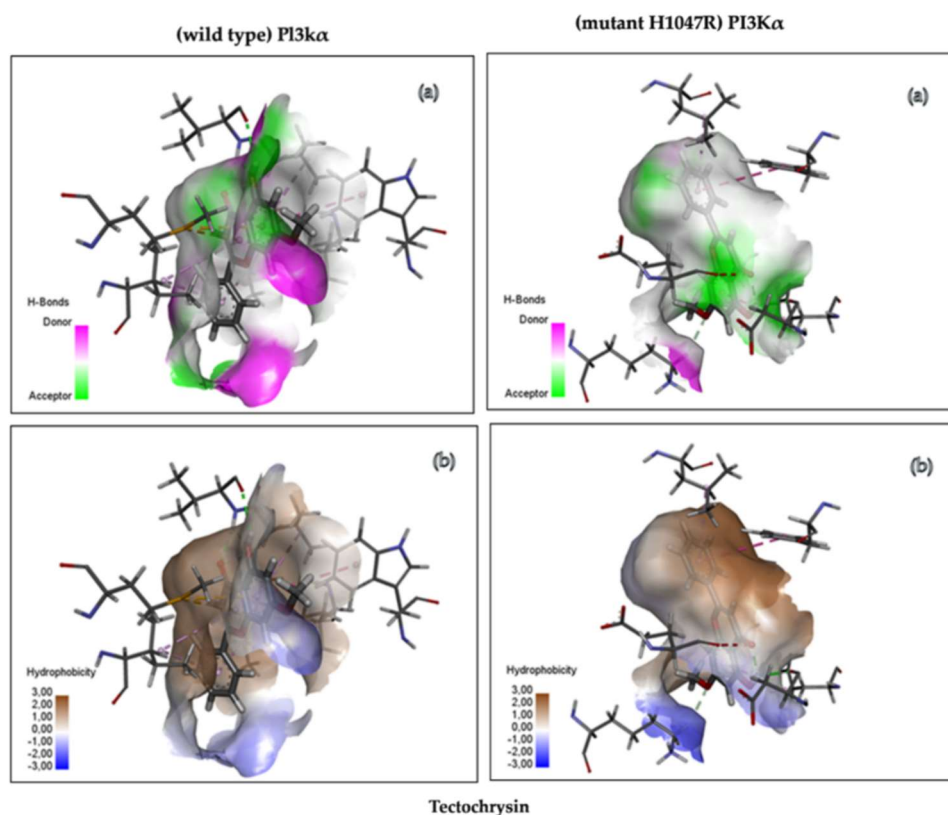
Există, de asemenea, o legătură pi-pi în formă de „T” cu aminoacidul TRP 780, un tip de interacțiuni ne-covalentă ce apare între electronii  $\pi$  ai două inele aromatice, unde un inel este poziționat perpendicular pe celălalt, formând o formă de „T”. Această orientare permite interacțiuni între norii de electroni ai inelelor, contribuind la stabilitatea și specificitatea generală a complexului molecular. În plus, sunt prezente șase legături pi-alchil, dintre care două implică aminoacidul ILE 932 și câte una cu fiecare dintre aminoacizii ILE 800, ILE 848, TRP 780 și VAL 850, stabilizând suplimentar ligandul prin interacțiuni hidrofobe [84].

În interacțiunea dintre tectochrysin și mutația H1047R a proteinei PI3K $\alpha$ , ligandul se angajează în diverse interacțiuni de legare la situsurile de inhibiție active. Acestea includ o legătură de hidrogen convențională cu reziduul ASP 1018, esențială pentru stabilizarea ligandului în interiorul locului de interacțiune. În plus, sunt formate trei legături carbon-hidrogen, două cu aminoacidul GLY 912 și una cu LYS 941, contribuind la integritatea structurală a complexului ligand-receptor. De asemenea, ligandul formează o legătură nefavorabilă acceptor-acceptor cu aminoacidul GLU 1012, care necesită o analiză atentă din cauza potențialului său de a destabiliza interacțiunea. În plus, există o legătură pi-pi paralelă cu aminoacidul PHE 1002, care este o interacțiune ne-covalentă ce are loc între electronii  $\pi$  ai inelelor aromatice adiacente. Aceste interacțiuni sunt esențiale pentru stabilizarea structurilor tridimensionale ale moleculelor biologice, cum ar fi ADN-ul și proteinele, și joacă un rol semnificativ în procesele de recunoaștere

moleculară. De asemenea, se formează o legătură pi-pi în formă de „T” cu aminoacidul TYR 1021, care îmbunătățește interacțiunile aromatice esențiale pentru afinitatea ligandului. Profilul de legare este completat de patru legături alchil și pi-alchil cu aminoacizii LEU 812, LEU 938, PHE 937 și LYS 941, care intensifică interacțiunile hidrofobe ce contribuie la eficiența generală a legării (vezi figura 3.15). Figura 3.16 este o reprezentare tridimensională a legăturilor de hidrogen și suprafețelor hidrofobe [84].



**Figura 3.11.** Diagrama 2D a interacțiunilor dintre potențialul inhibitor tectochrysin și proteina PI3Kα (forma normală) și mutația H1047R [84].

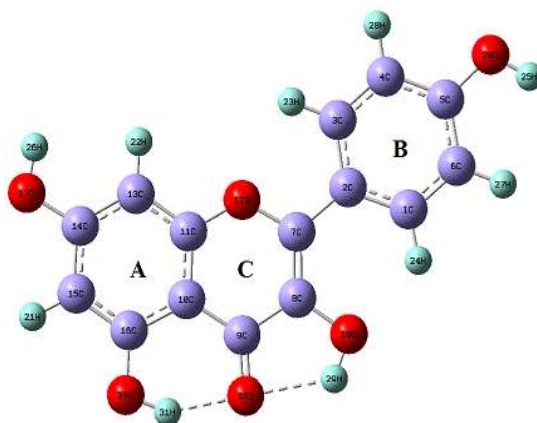


**Figura 3.12.** Reprezentarea 3D a interacțiunilor dintre potențialul inhibitori, tectochrysin și proteina PI3Kα (forma normală), respectiv mutația H1047R, subliniind (a) legăturile de hidrogen și (b) suprafețele hidrofobe [84].

### 3.2 Evaluarea potențialului chimic al kaempferolului folosind andocarea moleculară [139]

Flavonoidul *kaempferol* (3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one), a cărui descriere a fost realizată în capitolele 1 și 2, a fost supus unei cercetări în vederea analizării potențialului inhibitor asupra proteinei PI3K $\alpha$  (forma normală). Structura sa moleculară prezentată în figura 3.17, a fost optimizată cu ajutorul programului *Gaussian 09* [139,140].

Orientarea spațială a compusului are următoarele caracteristici: structura de bază croman și inelul B sunt plane; gruparea fenol a inelului B este legată la structura de bază croman și formează un unghi de torsiune  $\alpha$  (c19-C8-C7-C2) cu valoarea  $0,04^\circ$ ; se formează două legături de hidrogen intramoleculare între atomul de hidrogen H29 al grupării -OH (O19-H29) din poziția C3 și oxigenul O18 a grupării carbonil C=O (C9=O18) precum și între hidrogenul H31 a grupării -OH (O30-H31) din poziția C5 care aparțin nucleului benzopiran cu același atom de oxigen din gruparea carbonil a inelului piran C. Legătura intramoleculară formată între atomul de hidrogen H29 și cel de oxigen, O18 are o lungime de 1,99 Å, în timp ce legătura dintre H31 și O18 are lungimea de 1,77 Å [139].



**Figura 3.13.** Structura moleculară optimizată cu metoda B3LYP/6-311G(d,p) pentru 3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-on (*kaempferol*) [139].

Întrucât cristalină a compusului studiat nu a putut fi obținută, am comparat parametrii teoretici (lungimea legăturilor și unghiurile dintre legături) cu parametrii din structura XRD (structura de raze X) a analogului 5-fluoropyrimidine-2,4(1H,3H)-dione 3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4H-1-benzopyran-4-one [141]. Parametrii geometrici necesari calculării erorii medii pătratice (RMSE) au fost obținuți folosind „*Electronic Supplementary Publication*” de la „*Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC-897918)*”.

Eroarea medie pătratică s-a calculat folosind relația 24, unde cu N a fost notat numărul total al geometriilor,  $y_{th}$  reprezintă valorile teoretice obținute prin metoda DFT și  $y_e$  simbolizează parametrii geometrici din structura XRD [142].

$$RMSE = \sqrt{\sum_{i=1}^N \frac{(y_{th}^i - y_e^i)^2}{N}} \quad (1)$$

Valorile teoretice și experimentale ale parametrilor geometrici au fost înregistrate în tabelul 3.30. Pentru a valida metoda folosită pentru modelare, valorile teoretice ale lungimilor legăturilor



reprezentate grafic în figura 3.18 și cele ale unghiurilor de legătură din figura 3.19 au fost comparate cu valorile experimentale corespunzătoare obținute din analiza structurală cu raze X. Din analiza figurii 3.18 reiese că diferențele dintre valorile teoretice și cele experimentale sunt foarte mici, cea mai mare diferență (0.01133) înregistrându-se pentru legătura C8-C9 iar cea mai mică (-0.01118) pentru interacțiunea C15-O6. Valoarea erorii medii pătratice este de 0,00618 [139].

**Tabelul 3.20.** Centralizarea valorilor teoretice și a celor experimentale pentru kaempferol

| Legătura | Valori experimentale XRD | Valori teoretice B3LYP/6-311G(d,p) | Unghiul legăturii | Valori experimentale XRD | Valori teoretice B3LYP/6-311G(d,p) |
|----------|--------------------------|------------------------------------|-------------------|--------------------------|------------------------------------|
| C2-C1    | 1,4                      | 1,40665                            | C3-C2-C1          | 118                      | 117,8033                           |
| C3-C2    | 1,4                      | 1,40925                            | C2-C1-C6          | 121,4                    | 120,8331                           |
| C4-C3    | 1,39                     | 1,38368                            | C1-C2-C7          | 122,7                    | 122,0805                           |
| C5-C4    | 1,39                     | 1,39741                            | C3-C2-C7          | 119,3                    | 120,1163                           |
| C6-C5    | 1,39                     | 1,39643                            | C2-C3-C4          | 120,9                    | 121,4345                           |
| C6-C1    | 1,39                     | 1,38786                            | C3-C4-C5          | 120,1                    | 119,9914                           |
| C5-O5    | 1,37                     | 1,36103                            | C4-C5-C6          | 120,1                    | 119,4572                           |
| C2-C7    | 1,47                     | 1,46284                            | C1-C6-C5          | 119,5                    | 120,4806                           |
| C8-C7    | 1,37                     | 1,36706                            | C2-C7-C8          | 129                      | 128,5738                           |
| C8-C9    | 1,44                     | 1,45133                            | C7-C8-C9          | 120,9                    | 121,5685                           |
| C9-C10   | 1,43                     | 1,43295                            | C8-C9-C10         | 117                      | 116,8491                           |
| C10-C11  | 1,4                      | 1,40255                            | C9-C10-C11        | 119,5                    | 119,1801                           |
| C10-C15  | 1,42                     | 1,42539                            | C9-C10-C15        | 122,7                    | 122,014                            |
| C11-C12  | 1,39                     | 1,39044                            | C11-C10-C15       | 117,7                    | 118,8059                           |
| C15-C14  | 1,38                     | 1,38559                            | C10-C11-C12       | 122,8                    | 121,8649                           |
| C12-C13  | 1,39                     | 1,39655                            | C11-C12-C13       | 117,4                    | 117,9445                           |
| C14-C13  | 1,4                      | 1,40065                            | C12-C13-C14       | 122,3                    | 121,9957                           |
| C7-O1    | 1,37                     | 1,37618                            | C13-C14-C15       | 119                      | 119,559                            |
| C13-O2   | 1,36                     | 1,35767                            | C10-C15-C14       | 120,8                    | 119,83                             |
| C8-O4    | 1,36                     | 1,35535                            | C6-C5-O5          | 122                      | 122,9768                           |
| C9-O3    | 1,26                     | 1,25507                            | C4-C5-O5          | 117,9                    | 117,566                            |
| C11-O1   | 1,36                     | 1,35751                            | C2-C7-O1          | 111,1                    | 112,3772                           |
| C15-O6   | 1,35                     | 1,33882                            | C8-C7-O1          | 119,9                    | 119,0489                           |
|          |                          |                                    | C7-C8-O4          | 121,4                    | 123,8621                           |
|          |                          |                                    | C9-C8-O4          | 117,7                    | 114,5694                           |
|          |                          |                                    | C8-C9-O3          | 120,8                    | 118,5407                           |
|          |                          |                                    | C10-C9-O3         | 122,3                    | 124,6103                           |
|          |                          |                                    | C10-C11-O1        | 120,4                    | 120,6879                           |
|          |                          |                                    | C12-C13-O2        | 121,5                    | 121,6981                           |
|          |                          |                                    | C14-C13-O2        | 116,2                    | 116,3062                           |
|          |                          |                                    | C10-C15-O6        | 119,9                    | 120,2527                           |
|          |                          |                                    | C14-C15-O6        | 119,2                    | 119,9173                           |
|          |                          |                                    | C7-O1-C11         | 122,1                    | 122,6654                           |
|          |                          |                                    | O1-C11-C12        | 116,8                    | 117,4471                           |

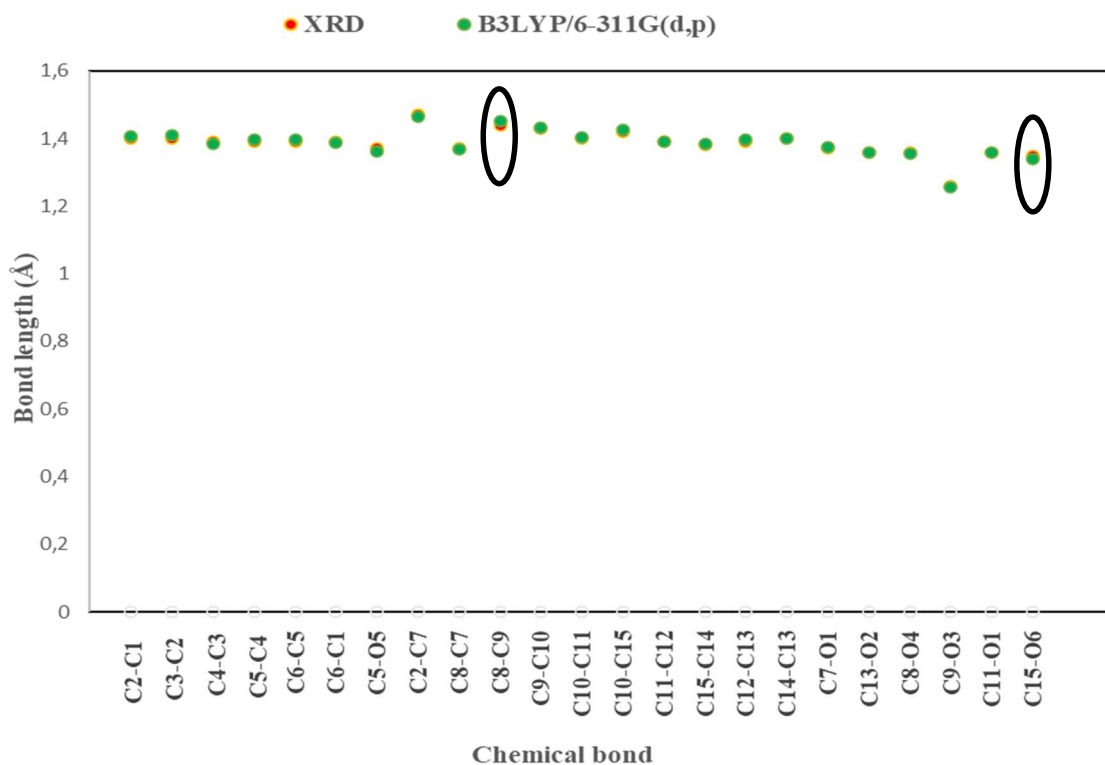


Figura 3.14. Valori teoretice și experimentale pentru lungimile legăturilor pentru kaempferol [139].

Rezultatele prezentate în figura 3.19 arată că diferențele dintre valorile teoretice și cele experimentale ale unghiurilor de legătură sunt mici, cu excepția a 4 cazuri: C7-C8-O4 ( $2,4^\circ$ ), C9-C8-O4 ( $3,13^\circ$ ), C8-C9-O3 ( $2,25^\circ$ ) și C10-C9-O3 ( $2,31^\circ$ ). Abaterea medie pătratică este acceptabilă, având o valoare de 1.05942 [139].

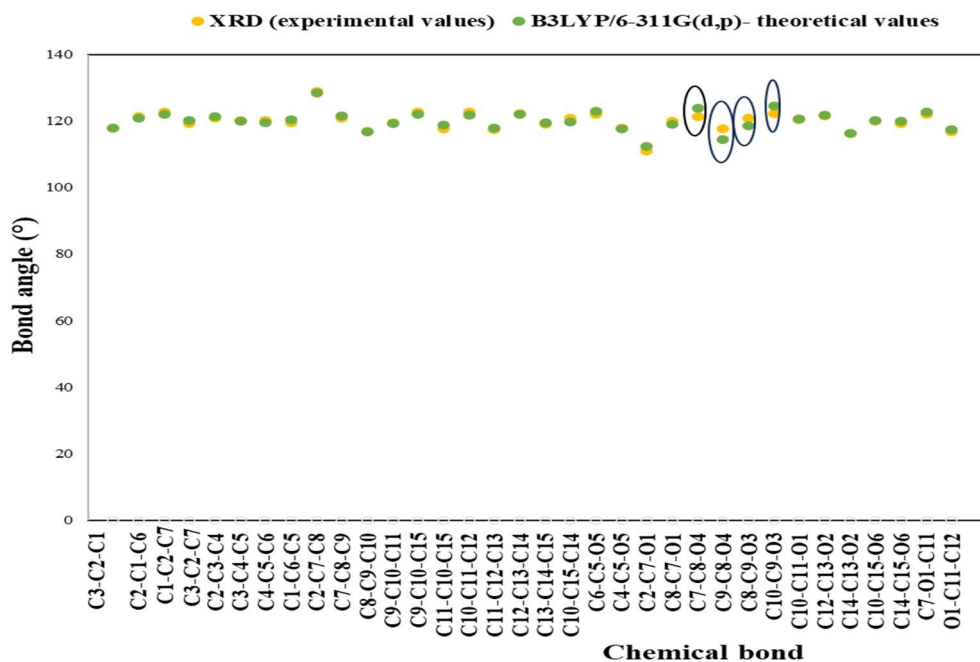


Figura 3.15. Valorile teoretice și experimentale ale unghiurilor de legătură pentru kaempferol [139]

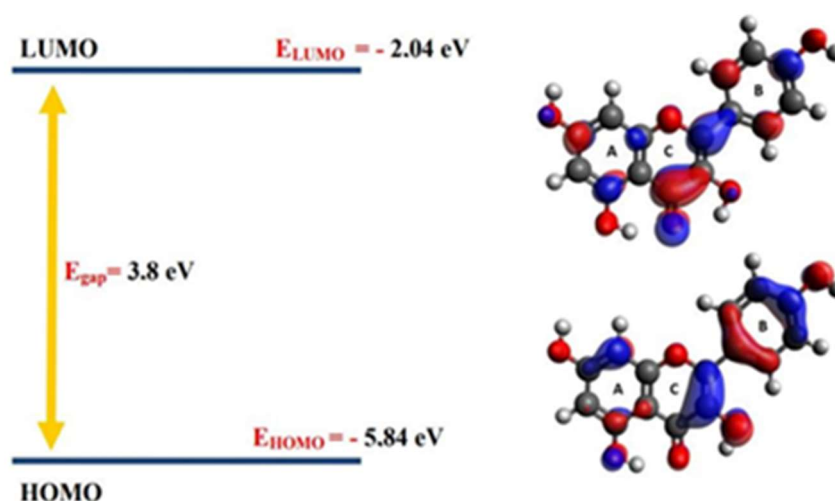
După efectuarea optimizării structurii moleculare a compusului kaempferol, programul *Gaussian 09* s-a dovedit un instrument valoros în calcularea parametrilor electronici (moment de

dipol (DM) și energiile orbitalilor de frontieră  $E_{\text{HOMO}}$  și  $E_{\text{LUMO}}$  generați într-un fișier cu extensia *.log*. Pornind de la valorile obținute, alți parametri electronici au fost calculați, precum potențialul de ionizare (IE), afinitatea electronică (EA), rigiditatea chimică ( $\eta$ ), flexibilitatea chimică ( $\sigma$ ), electronegativitatea ( $\chi$ ) și indicele de electrofilicitate ( $\omega$ ) [139,140,142]. Valorile obținute pentru parametrii electronici sunt centralizați în tabelul 3.31. Aceștia indică distribuția electronilor în moleculă și estimează reactivitatea chimică, evaluând capacitatea unei molecule de a ceda sau accepta electroni către orbitali moleculari de frontieră. Indicele de electrofilicitate,  $\omega$ , cu valoarea de 4,1 eV depășește pragul de 2,0 eV ceea ce sugerează că ligandul studiat are un puternic caracter electrofil [139].

**Tabelul 3.21.** Parametrii electronici calculați pentru kaempferol [139].

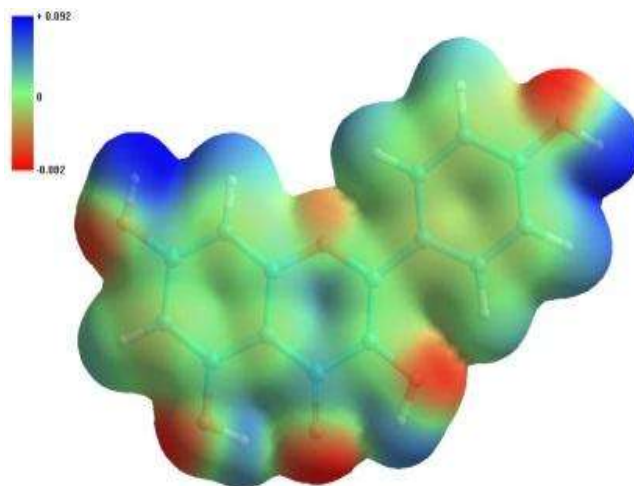
| Parametrii electronici       | Kaempferol |
|------------------------------|------------|
| $G^\circ$ (Hartree)          | -1029,06   |
| Momentul de dipol (debye)    | 4,246      |
| $E_{\text{LUMO}}$ (eV)       | -2,04      |
| $E_{\text{HOMO}}$ (eV)       | -5,84      |
| $E_{\text{gap}}$ (eV)        | 3,8        |
| $\eta$ (eV)                  | 1,9        |
| $\sigma$ (eV <sup>-1</sup> ) | 0,26       |
| $\chi$ (eV)                  | 3,94       |
| $\mu$ (eV)                   | -3,94      |
| $\omega$ (eV)                | 4,1        |
| IE (eV)                      | 5,84       |
| EA (eV)                      | 2,04       |

Orbitalul molecular cel mai înalt ocupat (HOMO) arată capacitatea unei molecule de a dona electroni, în timp ce orbitalul molecular cel mai scăzut neocupat (LUMO) arată capacitatea de a accepta electroni [143]. Pentru kaempferol, diferența dintre energiile  $E_{\text{HOMO}}$  și  $E_{\text{LUMO}}$  este caracterizată de parametrul  $E_{\text{gap}}$  cu valoarea 3,8 eV, indicând o bună reactivitate chimică și se regăsește reprezentată grafic în figura 3.20.



**Figura 3.16.** Distribuția de sarcină a orbitalilor de frontieră HOMO și LUMO pentru structura optimizată a kaempferolului [139].

Pentru generarea diagramei de potențial electrostatic molecular (MEP) a fost utilizat software Avogadro [144,145]. Reprezentarea tridimensională, ilustrează polaritatea relativă a kaempferolului și situsurile active potențialului electrostatic molecular din figura 3.21 predispușe la atacurile electrophilice respectiv nucleofilice. Regiunile cu potențial electrostatic negativ (albastru) sunt situsuri active pentru un posibil atac electrophilic și se regăsesc în jurul atomilor de oxigen care aparțin grupărilor hidroxil și carbonil precum și în jurul atomilor de oxigen din inelul C piran. Regiunile cu potențial electrostatic pozitiv (roșu) sunt localizate în jurul atomilor de hidrogen reprezintă situsuri active pentru un posibil atac nucleofilic [139].

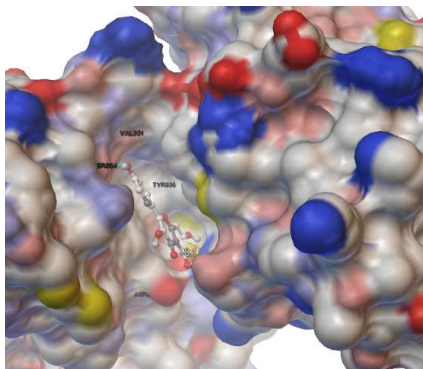


**Figura 3.17.** Harta MEP pentru kaempferol [139]

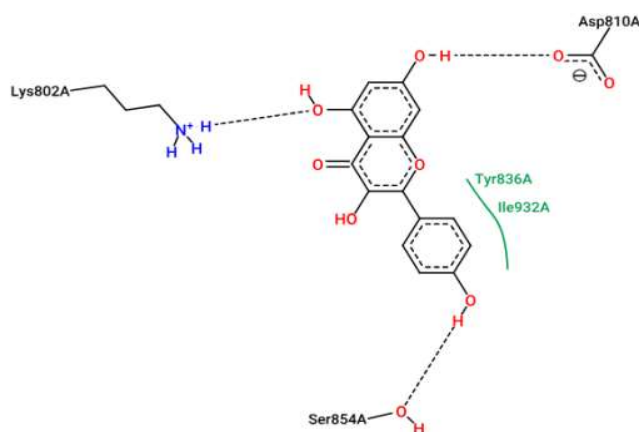
Andocarea moleculară a fost realizată pentru a stabili interacțiunile dintre potențialul inhibitor (kaempferol) și macromolecula reprezentată de proteina PI3K $\alpha$ . Cu ajutorul software *AutoDock Vina* s-a efectuat o andocare flexibilă în care ligandul efectuează mișcări translaționale, rotaționale și torsiuni intra-moleculare [113,114]. Această abordare permite identificarea celei mai avantajoase conformații în situsul activ al proteinei PI3K $\alpha$ , în timp ce receptorul a fost considerat fix [139].

Prepararea macromoleculei receptor și a ligandului a presupus pargurgerea unor etape cu ajutorul programului *Gaussian 09* și *AutoDock Tools*: generarea pentru proteină a unui fișier cu extensia .pdbqt; căutarea poziției optime pentru cutia grid, optimizarea structurii ligandului folosind metoda computațională DFT/B3LYP/6-311G (d,p); crearea pentru ligand a fișierului cu extensia .pdbqt; generarea fișierului *conf.txt* care conține toate informațiile necesare andocării, rularea programului *AutoDock Vina* și vizualizarea rezultatelor. Structura proteinei a fost preluată din baza de date online, „*Protein Data Bank*” [88,113,139,146,147].

Ca urmare a legării kaempferolului în situsurile active ale proteinei PI3K $\alpha$ , s-a format un complex stabil kinază-ligand cu o valoare a energiei de legătură de -8.1 kcal/mol (figura 3.22). Interacțiunile ligandului cu aminoacizii vecini din situsul activ al proteinei sunt reprezentate în figura 3.23. Se poate observa că ligandul prezintă legături polare (atom de hidrogen cu aminoacizii SER854A și ASP810A), nepolare (interacțiuni hidrofobe cu ILE932A și TRP780A) și pi-cation cu LYS802.



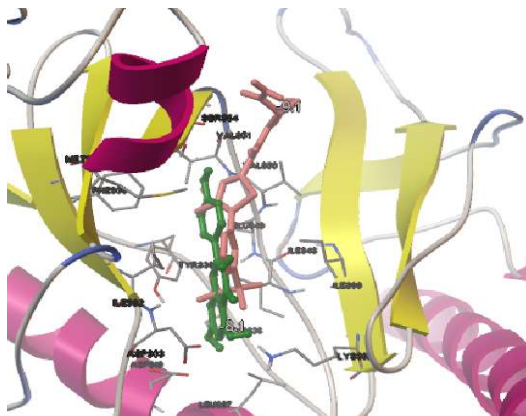
**Figura 3.18.** Reprezentarea în funcție de polaritate a compusului kaempferol andocat în situsul activ al proteinei PI3K $\alpha$ .



**Figura 3.19.** Reprezentarea interacțiunilor substanței kaempferol cu aminoacizii vecini [139].

Pentru a evalua potențialul de inhibare a kinazei PI3K $\alpha$  de către kaempferol, am ales (2S)-1-N-[4-metil-5-[2-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)piridin-4-il]-1,3-tiazol-2-il]pirrolidin-1,2-dicarboxamidă drept standard, cunoscut sub numele de alpelisib, care are un IC<sub>50</sub> = 5,0 ± 0,01 nM [148].

Reprezentarea andocării ligandului standard *alpelisib* și al potențialului ligand, kaempferol, în situsul activ al proteinei PI3K $\alpha$  este redată de figura 3.24. Din această figură, se poate observa că ligandul supus analizei și cel standard aproape se suprapun în situsul activ al kinazei [139].

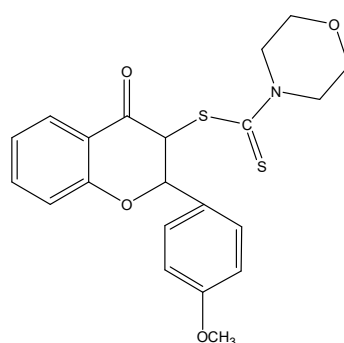


**Figura 3.20.** Andocarea substanței kaempferol și a alpelisibului în situsul activ al proteinei PI3K $\alpha$  [139].

Deoarece kaempferol are o energie de legătură (-8.1 kcal/mol) mai mare decât cea a ligandului standard (-9,1 kcal/mol) se poate afirma că ligandul studiat formează cu macromelcula proteică un complex mai puțin stabil [139]. Alpelisib este un medicament folosit în terapia anticancer, cu o activitate inhibitorie [139,149]. De aceea putem afirma că ligandul investigat poate fi considerat un potențial inhibitor al kinazei PI3K $\alpha$ , dar cu activitate medie.

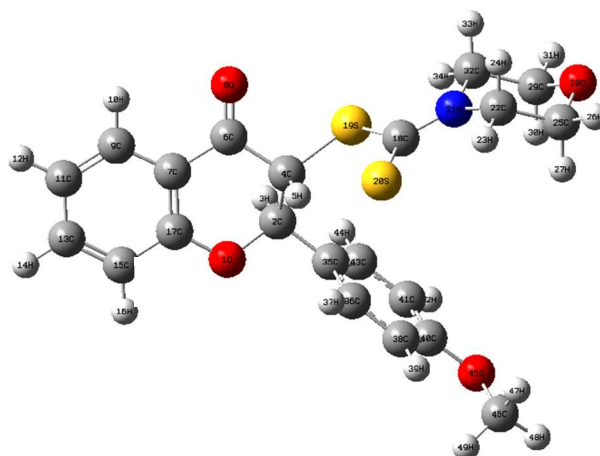
### 3.3 Studii experimentale și computaționale ale 3-(N-morpholinylcarbodithioate)-2-(4-methoxyphenyl)chroman-4-one flavanonă cu potențiale proprietăți terapeutice [59]

Flavanona sintetică, 3-(N-morpholinylcarbodithioate)-2-(4-methoxyphenyl)chroman-4-one (figura 3.25), a fost analizată din punct de vedere al potențialului chimic și al biodisponibilității orale pentru a demonstra puternicul caracter electofilic putând fi astfel utilizată în alte studii din domeniul designului de medicamente.

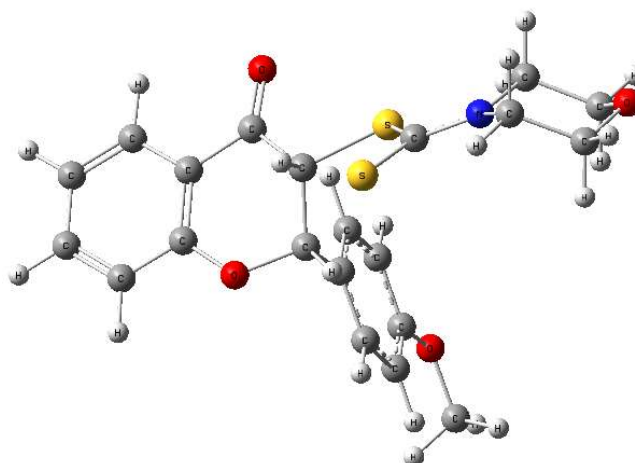


**Figura 3.21.** Structura moleculară a 3-(N-morpholinylcarbodithioate)-2-(4-methoxyphenyl)chroman-4-one [59].

Caracterizarea structurală și vibrațională a acestei flavanone sintetice a fost realizată prin efectuarea unor calcule mecanice cuantice în starea fundamentală, utilizând mai mulți funcționali hibridi (B3LYP, PBE1PBE, CAM-B3LYP și  $\omega$ B97X-D) în combinație cu același set de baze, și anume 6-311G(d,p) [59]. Flavanona investigată a fost obținută ca un amestec de diastereoizomeri *anti* (figura 3.26) și *sin* (figura 3.27), componenta majoritară fiind izomerul *anti* [59].

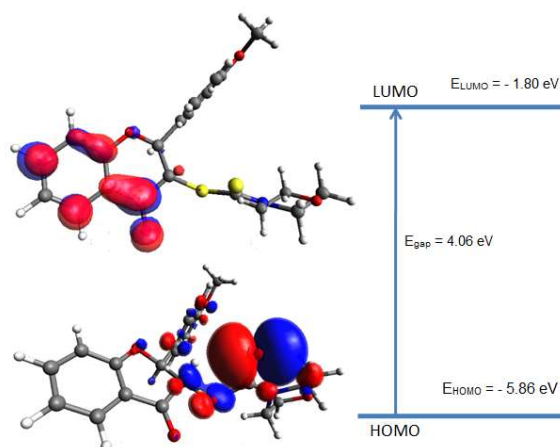


**Figura 3.22.** Structura optimizată și numerotarea atomilor *anti* izomerului 3-(N-morpholinylcarbodithioate)-2-(4-methoxyphenyl)chroman-4-one, folosind metoda B3LYP/6-311G(d,p) [59].



**Figura 3.23.** Structura optimizată și numerotarea atomilor *syn* izomerului 3-(*N*-morpholinylcarbodithioate)-2-(4-methoxyphenyl)chroman-4-one, folosind metoda B3LYP/6-311G(d,p) [59]

În urma testării celor patru funcționale hibride: B3LYP, PBE1PBE, CAM-B3LYP și  $\omega$ B97X-D în corelație cu 6-311G(d,p), am putut concluziona că parametrii geometrici obținuți cu B3LYP/6-311G(d,p) sunt în concordanță cu cei obținuți experimental din structura XRD. De asemenea numerele de undă din spectrul teoretic sunt corelate cu cele experimentale. A fost realizată o atribuire detaliată a PED pentru toate benzile de absorbție IR. Deplasările chimice teoretice pentru  $^{13}\text{C}$  și  $^1\text{H}$  (față de TMS) au fost comparate cu cele experimentale. Acestea au arătat o foarte bună concordanță în cazul metodelor WP04/6-311++G(d,p) și PBE1PBE/6-311++G(d,p) pentru  $^{13}\text{C}$  și în cazul metodei WP04/6-311++G(d,p) pentru  $^1\text{H}$ . De asemenea, au fost determinate valorile pentru o serie de descriptori moleculari pentru a caracteriza interacțiunile sterice, hidrofobe/hidrofile și electronice dintre un compus și receptorul său biologic. Valorile obținute pentru parametri au demonstrat că flavanona este stabilă și are o reactivitate chimică scăzută. Valoarea momentului de dipol (3,15 debye pentru *anti* izomer și 3,80 debye pentru *syn* izomer) se situează între 3 și 5 debye, ceea ce sugerează că flavanona are abilitatea de a interacționa cu nelegate cu un receptor. Indicele de electrofilicitate (3,61eV pentru *anti* izomer și 3,49 eV pentru *syn* izomer) subliniază caracterul puternic electrofil al celor doi izomeri. Distribuția sarcinii orbitalilor de frontieră HOMO și LUMO pentru *anti* izomer indică o separație datorată, cel mai probabil, prezenței unei singure legături între atomii de carbon (C2-C3) (figura 3.28) [59].



**Figura 3.24.** Distribuția de sarcină a orbitalilor de frontieră HOMO și LUMO pentru structura optimizată a *anti* isomer of 3-(*N*-morpholinylcarbodithioate)-2-(4-methoxyphenyl)chroman-4-one [59].

Biodisponibilitatea flavanonei a fost indicată de diagrama radar în care sunt reprezentați șase parametri fizico-chimici. Valorile acestora ( $XLogP3 = 3.68$ ,  $MW = 415.53$  g/mol,  $TPSA = 105.39$  Å<sup>2</sup>,  $\log S(ESOL) = -4.72$ ,  $\text{fraction Csp}^3 = 0.33$  and  $\text{RotB} = 5$ ) că flavanona are biodisponibilitate orală și proprietăți adecvate de tip *drug-likeness* pentru a fi un potențial medicament [59].

### 3.4 Metode de automatizare a detecției canabinoidelor [150]

Dependența poate căpăta mai multe forme legale (dependența de nicotină, alcool, cafeină, utilizarea excesivă a calculatorului, jocurilor pe diverse dispozitive electronice) sau ilegale (prin consum de droguri) și din nefericire tendințele adictive nu cuprind doar populația adultă ci și adolescenții. Organizații, precum *UNODC*, evidențiază faptul că piața drogurilor s-a transformat și s-a adaptat noilor restricții impuse de pandemia COVID-19, rețelele de traficanți dezvoltând nu doar noi metode de distribuție a tuturor tipurilor drogurilor ci și noi substanțe. Astfel devine necesar ca, la nivel mondial, lupta autorităților împotriva distribuției de droguri să presupună mai multe direcții, printre care și identificarea sau detecția substanțelor noi apărute pe piața ilicită.

Obiectivul acestei cercetări a fost dezvoltarea unor rețele neuronale convoluționale profunde (DCNN) în vederea detecției și identificării substanțelor de abuz cu accent pe canabinoidele sintetice. În acest studiu au fost utilizate două modele de inteligență artificială: *Autoencoder Convoluțional (CAE) pre-antrenat* și *Vision Transformer (ViT-B/32)*, testându-se algoritmi de optimizare pentru îmbunătățirea performanței modelului, subliniindu-se, astfel, avantajele metodelor inovatoare de transfer de învățare care combină tehnici nesupravegheate și supravegheate cu preprocesarea datelor spectroscopice [150,151].

Spectrele ATR-FTIR folosite în această cercetare au fost preluate din baza de date pyDETECT-FTIR, care conține date din biblioteci spectrale publice, și apoi validate independent prin metode analitice independente. Aceste spectre au fost convertite în imagini monocromatice (tip .bmp) pentru a antrena și rafina rețele neuronale convoluționale profunde (DCNN-uri). Două biblioteci spectrale principale au fost create: una non-forensic cu 11.000 de imagini pentru antrenarea CAE și una forensic cu 10.425 de imagini pentru antrenarea DCNN-urilor pe substanțe de abuz. Imaginile spectrale au fost împărțite în trei clase: clasa 1, care conține 125 imagini ale canabinoidelor sintetice de tipul JWH, clasa 2 conține imagini conține canabinoide clasice iar clasa 3 este formată din substanțe diverse de tipul psihedelice, piperazine, dissociative, empatogene, stimulente, sedative, medicamente eliberate pe bază de rețetă [150].

Evaluarea și optimizarea modelelor au presupus analiza unor funcții de pierdere precum *ross-entropy* și *focal loss*, dar și testarea unor tehnici de optimizare: *Adaptive Moment Estimation (ADAM)*, *Stochastic Gradient Descent (SGD)*, *Sign Stochastic Gradient Descent (Sign SGD)* și *Root Mean Square Propagation (RMS Prop)* [150]. Asigurarea cantitativă a arhitecturilor de inteligență artificială s-a făcut prin folosirea unui instrument al software-ului Wolfram Mathematica v.13.2, esențial în calcularea și vizualizarea indicilor de clasificare. Astfel au putut fi înregistrate informații referitoare la dinamica antrenamentului, de exemplu pierderi, performanță [150,152,153]. Rezultatele obținute prin dezvoltarea de DCNN, prezintă o importanță deosebită în identificarea, clasificarea, recunoașterea canabinoidelor sintetice având relevanță în domeniul criminalisticii.



#### Capitolul 4. Concluzii generale și direcții viitoare de cercetare și dezvoltare

Cercetarea realizată în cadrul acestei teze de doctorat a avut drept obiectiv principal identificarea substanțelor biodisponibile pentru a contribui la optimizarea și eficientizarea proceselor de producție. Astfel activitatea de cercetare a fost orientată în două direcții principale:

- utilizarea instrumentelor computaționale avansate de prelucrare a spectrelor IR și a descriptorilor moleculari a patru substanțe biodisponibile din clasa flavonoidelor în vederea optimizării tehnicilor de identificare a compușilor cu potențial terapeutic ridicat, eficientizând, astfel, procesul de proiectare a medicamentelor;

- identificarea și clasificarea substanțelor biodisponibile din clasa canabinoidelor sintetice de tipul JWH, prin dezvoltarea de rețele neuronale convoluționale profunde (DCNN).

Prima direcție de cercetare pentru identificarea substanțelor biodisponibile din clasa flavonoidelor a presupus:

- optimizarea structurilor moleculare preluate din baze de date publice prin compararea spectrelor modelelor teoretice cu spectrele experimentale. Comparând patru tehnici computaționale de optimizare a structurilor moleculare, am obținut cele mai bune concordanțe între parametrii geometrici teoretici și cei experimentali folosind funcționala hibridă B3LYP/6-311G(d,p);

- caracterizarea acestor substanțe prin crearea profilurilor fizico-chimice și determinarea descriptorilor moleculari care să le sublinieze caracterul biodisponibil, încadrându-le la substanțe ce pot fi utilizate ca medicamente. Rezultatele obținute pentru cele patru flavonoide (doi compuși naturali și doi compuși sintetici) susțin caracterul lor biodisponibil;

- identificarea lor ca posibili inhibitori ai proteinei PI3K $\alpha$ , utilizând andocarea moleculară. Compușii studiați, resokaempferol și tectochrysin, au obținut rezultate bune în urma andocării cu trei programe diferite (AutoDock, AutoDock Vina și Glide) pentru două proteine din familia kinazei PI3K $\alpha$  (forma normală și mutația H1047R). Originalitatea și importanța cercetării derivă din explorarea acestor substanțe ca potențiali inhibitori ai acestor două proteine, fapt ce poate contribui cu perspective esențiale în dezvoltarea unor noi terapii țintă pentru tratamentul cancerului. Posibilele interacțiuni ale kaempferolului cu receptorul kinaza-PI3K $\alpha$  au demonstrat potențialul său antioxidant (adică abilitatea de inhibare a kinazei PI3K $\alpha$  de către kaempferol, utilizând alpelisib ca standard cu IC<sub>50</sub> = 5.0±0.01 nM) și, astfel, potențialul său inhibitor în tratamentul cancerului.

A doua direcție de cercetare a urmărit:

- realizarea profilurilor fizico-chimice a cinci canabinoide sintetice și compararea lor cu THC, principalul compus activ al cannabisului, pentru a stabili caracterul biodisponibil al acestora. Rezultatele obținute arată biodisponibilitatea lor orală, dar și o tendință crescută de a se acumula în medii lipidice și mai puțin apoase;

- dezvoltarea de rețele neuronale pentru identificarea și caracterizarea canabinoidelor sintetice. Rezultatele obținute demonstrează că metodele inovatoare de învățare prin transfer coroborate cu pre-procesarea datelor spectroscopice oferă beneficii semnificative în detecția rapidă și eficientă a canabinoidelor sintetice ca substanțe interzise.

#### Direcții viitoare de cercetare și dezvoltare

Referitor la direcțiile viitoare de cercetare și dezvoltare, luăm în considerare următoarele:

- identificarea altor compuși din clasa flavonoidelor, deoarece reprezintă o resursă dietetică semnificativă pentru oameni, iar structurile lor moleculare diverse, funcționalitatea lor

unică, profilurile farmacologice bogate le-au transformat în ținte valoroase pentru designul de medicamente;

- utilizarea dinamicii moleculare pentru studii aprofundate ale potențialului inhibitor asupra proteinelor responsabile de apariția cancerului,
- evaluarea potențialului inhibitor al flavonoidelor asupra altor proteine, precum COX (ciclooxigenaza) implicată în procesele inflamatorii;
- studierea canabinoidelor ca potențiali agenți terapeutici în tratamentele anticancer;
- elaborarea de alte modele de clasificare care să permită includerea și altor categorii de canabinoide.

## Lista lucrărilor publicate și prezentate

### Lucrări publicate ISI

- **Lucrări in curs de indexare si / sau cotare ISI (Web of Science)**

1. **Paraschiv C.**, Gosav S., Burlacu C. M., Praisler M., Exploring the Inhibitory Efficacy of Resokaempferol and Tectochrysin on PI3K $\alpha$  Protein by Combining Spectroscopy, DFT, and Molecular Docking Against Wild-Type and H1047R Mutant Forms, *Inventions* 9 (2024) 96. DOI: 10.3390/inventions9050096 ISI Impact Factor: 2.1 (2023) <https://www.mdpi.com/2411-5134/9/5/96>

2. **Paraschiv, C.**, Gosav, S., Praisler, M., Chemical Potential Evaluation of Kaempferol Based on Molecular Modeling, *Advances in Digital Health and Medical Bioengineering. Proceedings of the 11th International Conference on E-Health and Bioengineering, EHB-2023*, November 9–10, 2023, Bucharest, Romania.

- **Lucrări indexate si / sau cotate ISI (Web of Science)**

3. Gosav, S., Praisler, M., Păduraru Cristea, N., Gosav, T., **Paraschiv, C.**, Experimental and computational studies of 3-(N-morpholinylcarbodithioate)-2-(4-methoxyphenyl)chroman-4-one, a flavanone with potential therapeutical properties, *Journal of Molecular Structure* 1295 Part 1 (2024) 136627, DOI: 10.1016/j.molstruc.2023.136627, **WOS:001084143900001**, ISI Impact Factor: **4.0** (2023) <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022286023017179>

#### LUCRARE CITATA IN

|   |   |
|---|---|
| 1 | Ali I., Mimouni F.Z., Belboukhari N., Sekkoum K., Locatelli M., Demir E., Yusuf K., Enantiomeric separation of flavanone on Chiralpak® IA column and determination of the chiral mechanism, <i>Biomedical Chromatography</i> , First published: 05 September 2024, DOI: 10.1002/bmc.6004 ISI Impact Factor: <b>1.8</b> (2023) <a href="https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bmc.6004">https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bmc.6004</a> |
| 2 | Zhang Y., Shang X., Zhang Y., Zheng C., Physiological Function of Plant Flavonoids and Its Application in Poultry Production, <i>Chinese Journal of Animal Nutrition</i> , 36-9 (2024) 5468-5478. DOI: 10.12418/CJAN2024.466<br>Lucrare indexata <b>Scopus</b>  |

4. Burlacu, C. M., Burlacu, A. C., Praisler, M., **Paraschiv C.**, Harnessing Deep Convolutional Neural Networks Detecting Synthetic Cannabinoids: A Hybrid Learning Strategy for Handling Class Imbalances in Limited Datasets, *Inventions* 8 (2023) 129. DOI: 10.3390/inventions8050129 **WOS:001089546600001** ISI Impact Factor: **2.1** (2023) <https://www.mdpi.com/2411-5134/8/5/129>

## LUCRARE CITATA IN

|   |   |
|---|---|
| 1 | Annaki I., Rahmoune M., Bourhaleb M., Overview of Data Augmentation Techniques in Time Series Analysis, <i>International Journal of Advanced Computer Science and Applications</i> , 15-1 (2024) 1201-1211. ISI Impact Factor: <b>0.7</b> (2023)<br><a href="https://thesai.org/Downloads/Volume15No1/Paper_118-Overview_of_Data_Augmentation_Techniques.pdf">https://thesai.org/Downloads/Volume15No1/Paper_118-Overview_of_Data_Augmentation_Techniques.pdf</a> |
|---|---|

## Lucrări publicate în reviste BDI

1. **Paraschiv (Nedelcu) C.**, Praisler M., Spectral Identification of Cannabinoids, *Annals of "Dunarea de Jos" University of Galati, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics*, Fascicle II, Year XV (XLVI) 2023, No. 1, pp. 5 - 10. DOI: 10.35219/ann-ugal-math-phys-mec.2023.1.02. ISSN 2067-2071

<https://www.gup.ugal.ro/ugaljournals/index.php/math/article/view/6233>

2. **Nedelcu (Paraschiv) C.**, M. Praisler, Cannabinoids: an exploratory review, *Annals of the "Dunarea de Jos" University of Galati, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics*, Fascicle II, Year XIV (XLV) 2022, No. 1, pp. 11–18. DOI: 10.35219/ann-ugal-math-phys-mec.2022.1.03.

<https://www.gup.ugal.ro/ugaljournals/index.php/math/article/view/5509>

## Lucrări în curs de publicare în reviste BDI

1. **Paraschiv, C.**, Gosav, S., Praisler, M., Characterization of flavonoids: an explorative review, *Annals of "Dunarea de Jos" University of Galati, Mathematics, Physics, Theoretical Mechanics*, Fascicle II, Year XVI (XLVII) 2024, No. 1, DOI: 10.35219/ann-ugal-math-phys-mec.2024

## Lucrări comunicate la conferințe internaționale

1. **Paraschiv, C.**, Gosav, S., Praisler, M., Chemical Potential Evaluation of Kaempferol Based on Molecular Modeling, *Advances in Digital Health and Medical Bioengineering, Proceedings of the 11th International Conference on E-Health and Bioengineering, EHB-2023*, November 9–10, 2023, Bucharest, Romania. <http://www.ehbconference.ro/>

2. Gosav S., **Paraschiv C.**, Praisler M., Evaluation the chemical potential of some flavones using the DFT theory and molecular docking, *International Conference and Workshop "Interdisciplinary applications of advanced analytical and control techniques in environment, health and materials science - INTERVENT"*, 19-20 Octombrie 2023, Galați

[https://www.researchgate.net/publication/375548506\\_Abstract\\_Book -](https://www.researchgate.net/publication/375548506_Abstract_Book_-_International_Conference_and_Workshop_Interdisciplinary_applications_of_advanced_analytical_and_control_techniques_in_environment_health_and_materials_science_-_INTERVENT_19-20_October)

[International Conference and Workshop Interdisciplinary applications of advanced analytical and control techniques in environment health and materials science - INTERVENT 19-20 October](https://www.researchgate.net/publication/375548506_Abstract_Book_-_International_Conference_and_Workshop_Interdisciplinary_applications_of_advanced_analytical_and_control_techniques_in_environment_health_and_materials_science_-_INTERVENT_19-20_October)

[https://www.researchgate.net/publication/373217117 Interdisciplinary applications of advanced analytical and control techniques in environment health and materials science - INTERVENT](https://www.researchgate.net/publication/373217117_Interdisciplinary_applications_of_advanced_analytical_and_control_techniques_in_environment_health_and_materials_science_-_INTERVENT)

## Lucrări comunicate la conferințe naționale

1. **Nedelcu (Paraschiv) C.**, Gosav S., Burlacu C.M., Praisler M., Assessing the chemical potential of certain flavones based on DFT theory and molecular docking, *Book of abstracts SCDS-UDJG 2024, 12th Edition*, 6 - 7 Iunie 2024, Galați

[https://cssd-udjg.ugal.ro/media/attachments/2024/05/31/book-of-abstract-2024-final\\_sdimi.pdf](https://cssd-udjg.ugal.ro/media/attachments/2024/05/31/book-of-abstract-2024-final_sdimi.pdf)

2. **Nedelcu (Paraschiv) C.**, Gosav S., Burlacu C.M., Praisler M., Characterization of flavonoids: an explorative review, *Book of abstracts SCDS-UDJG 2024, 12th Edition*, 6 - 7 Iunie 2024, Galați [https://cssd-udjg.ugal.ro/media/attachments/2024/05/31/book-of-abstract-2024-final\\_sdimi.pdf](https://cssd-udjg.ugal.ro/media/attachments/2024/05/31/book-of-abstract-2024-final_sdimi.pdf)
3. **Nedelcu (Paraschiv) C.**, Negoită C., Praisler M., KNN system screening for the main illicit drugs, *Book of abstracts SCDS-UDJG 2023, 11th Edition*, 8 - 9 Iunie 2023, Galați
4. **Nedelcu (Paraschiv) C.**, Praisler M., Spectral identification of cannabinoids – a review, *Book of abstracts SCDS-UDJG 2023, 11th Edition*, 8 - 9 Iunie 2023, Galați
5. **Nedelcu (Paraschiv) C.**, Praisler M., Cannabinoids: an exploratory review, *Book of abstracts SCDS-UDJG 2022, 10th Edition*, 9 - 10 Iunie 2022, Galați

### Premii obținute

1. Premiul II obținut în cadrul Conferinței Științifice organizată de Școlile Doctorale ale Universității „Dunărea de Jos” din Galați (SCDS-UDJG), **Nedelcu (Paraschiv) C.**, Gosav S., Burlacu C.M., Praisler M., Assessing the chemical potential of certain flavones based on DFT theory and molecular docking, *SCDS-UDJG 2024, 12th Edition*, 6 - 7 Iunie 2024, Galați

### Bibliografie

- [1] P. Bawiec, J. Sawicki, P. Łasińska-Pracuta, M. Czop, I. Sowa, K. Iłowiecka, W. Koch, In Vitro Evaluation of Bioavailability of Se from Daily Food Rations and Dietary Supplements, *Nutrients* 15 (2023) 1511.
- [2] N. Sharma, D. Saini, R.K. Kesharwani, P.C. Gupta, R.K. Keservani, *Advances in Flavonoids for Human Health and Prevention of Diseases*, 1st ed., Apple Academic Press, New York, 2023.
- [3] World Health Organization, *Cancer*, (n.d.). <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (accessed July 23, 2024).
- [4] OECD, *Profil de țară privind cancerul: România 2023*, Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, 2023. [https://www.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/profil-de-tara-privind-cancerul-romania-2023\\_20726aa6-ro](https://www.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/profil-de-tara-privind-cancerul-romania-2023_20726aa6-ro) (accessed July 23, 2024).
- [5] V. Ghicavîi, N. Bacinschi, Gh. Gușuilă, *Farmacologie*, Ediția a II a revizuită și completată, Tipografia Centrală, Chișinău, 2019.
- [6] A.N. Cristea, *Farmacologie generală*, Ediția a II-a, Editura Didactică și Pedagogică, București, 2018.
- [7] Food and Drug Administration, *Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system: guidance for industry*, Food Drug Adm. Cent. Drug Eval. Res. CDER (2015).
- [8] V. P. Chavda, *Biological Classification System (BCS); with a New Perspective*, MOJ Bioequivalence Bioavailab. 3 (2017).
- [9] BDDCS-Biopharmaceutical Drug Disposition Classification System, (n.d.). <https://www.solvobiotech.com/knowledge-center/bddcs>.
- [10] M.-A. Crocq, History of cannabis and the endocannabinoid system, *Dialogues Clin. Neurosci.* 22 (2020) 223–228.

- [11] F.A. Javid, R.M. Phillips, S. Afshinjavid, R. Verde, A. Ligresti, Cannabinoid pharmacology in cancer research: A new hope for cancer patients?, *Eur. J. Pharmacol.* 775 (2016) 1–14.
- [12] A. Pugazhendhi, N. Suganthy, T.P. Chau, A. Sharma, Y. Unpaprom, R. Ramaraj, I. Karuppusamy, K. Brindhadevi, Cannabinoids as anticancer and neuroprotective drugs: Structural insights and pharmacological interactions—A review, *Process Biochem.* 111 (2021) 9–31.
- [13] N. Mangal, S. Erridge, N. Habib, A. Sadanandam, V. Reebye, M.H. Sodergren, Cannabinoids in the landscape of cancer, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 147 (2021) 2507–2534.
- [14] C. (Paraschiv) Nedelcu, M. Praisler, Cannabinoids: an exploratory review, *Analele Univ. "Dunărea Jos" Din Galați Fasc. II Mat. Fiz. Mec. Teor.* 45 (2022) 11–18.
- [15] Endocannabinoids: What are they and what do they do?, (2021). <https://www.medicalnewstoday.com/articles/endocannabinoid> (accessed July 30, 2024).
- [16] U.N.O.O.D.A. Labor, world drug report 2021 (set of 5 booklets)., united nations, S.I., 2022.
- [17] F. Zapata Arráez, J.M. Matey Cabañas, G. Montalvo García, C. García Ruiz, Chemical classification of new psychoactive substances (NPS), *Microchem. J.* 163 (2021) p.105877.
- [18] A. Barbulescu, L. Barbes, C.-S. Dumitriu, Computer-Aided Classification of New Psychoactive Substances, *J. Chem.* 2021 (2021) 1–11.
- [19] C.M. Burlacu, A.C. Burlacu, M. Praisler, Physico-chemical analysis, systematic benchmarking, and toxicological aspects of the JWH aminoalkylindole class-derived synthetic JWH cannabinoids, *Ann. "Dunarea Jos" Univ. Galati Fascicle II Math. Phys. Theor. Mech.* 44 (2021) 34–45.
- [20] C. Lidia, M. Eugenia, P. Doina, Cercetarea fitochimică a substanțelor biologice active din strugurii *Vitis vinifera*, in: n.d. [https://ibn.idsi.md/vizualizare\\_articol/107906](https://ibn.idsi.md/vizualizare_articol/107906) (accessed July 30, 2024).
- [21] A.N. Panche, A.D. Diwan, S.R. Chandra, Flavonoids: an overview, *J. Nutr. Sci.* 5 (2016) e47.
- [22] N. Uludağ, G. Serdaroğlu, An improved synthesis, spectroscopic (FT-IR, NMR) study and DFT computational analysis (IR, NMR, UV–Vis, MEP diagrams, NBO, NLO, FMO) of the 1,5-methanoazocino[4,3-b]indole core structure, *J. Mol. Struct.* 1155 (2018) 548-560.
- [23] M.C. Dias, D.C.G.A. Pinto, A.M.S. Silva, Plant Flavonoids: Chemical Characteristics and Biological Activity, *Molecules* 26 (2021) 5377.
- [24] R. Shukla, V. Pandey, G.P. Vadnere, S. Lodhi, Role of Flavonoids in Management of Inflammatory Disorders, (2019) 293–322.
- [25] L. Calmuțchi, E. Melentiev, G. Climenti, Study Of Some Flavonoides In Research Activities Focused On Student, *Rev. Științifică* 10 (2017) 125–131.
- [26] T. Pinto, A. Vilela, Healthy Drinks with Lovely Colors: Phenolic Compounds as Constituents of Functional Beverages, *Beverages* 7 (2021) 12.
- [27] M. Guasch-Ferré, J. Merino, Q. Sun, M. Fitó, J. Salas-Salvadó, Dietary Polyphenols, Mediterranean Diet, Prediabetes, and Type 2 Diabetes: A Narrative Review of the Evidence, *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2017 (2017) 6723931.
- [28] F. Nazzaro, F. Fratianni, V. De Feo, A. Battistelli, A.G. Da Cruz, R. Coppola, Polyphenols, the new frontiers of prebiotics, *Adv. Food Nutr. Res.* 94 (2020) 35–89.
- [29] A.B. Das, V.V. Goud, C. Das, 9 - Phenolic Compounds as Functional Ingredients in Beverages, in: A.M. Grumezescu, A.M. Holban (Eds.), *Value-Added Ingred. Enrich. Beverages*, Academic Press, 2019: pp. 285–323.

- [30] J. Bae, N. Kim, Y. Shin, S.-Y. Kim, Y.-J. Kim, Activity of catechins and their applications, *Biomed. Dermatol.* 4 (2020) 8.
- [31] H. Speer, N. D’Cunha, N. Alexopoulos, A. Mckune, N. Naumovski, Anthocyanins and Human Health—A Focus on Oxidative Stress, Inflammation and Disease, *Antioxidants* 9 (2020) 366.
- [32] A.H. Abari, M. Tayebi, Bioconversion of Genistein to Orobol by *Bacillus subtilis* Spore Displayed Tyrosinase and Monitoring the Anticancer Effects of Orobol on MCF-7 Breast Cancer Cells, *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 24 (2019) 507–512.
- [33] H. Liu, Y. Tian, Y. Zhou, Y. Kan, T. Wu, W. Xiao, Y. Luo, Multi-modular engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for high-titre production of tyrosol and salidroside, *Microb. Biotechnol.* 14 (2021) 2605–2616.
- [34] Human Metabolome Database: Showing metabocard for 3,4’,7-Trihydroxyflavone (HMDB0034004), (n.d.). <https://hmdb.ca/metabolites/HMDB0034004> (accessed July 31, 2024).
- [35] PubChem, 3,7,4’-Trihydroxyflavone, (n.d.). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281611> (accessed July 31, 2024).
- [36] J. Zhang, J. Wu, X. Shi, D. Li, S. Yang, R. Zhang, B. Xia, G. Yang, A Propolis-Derived Small Molecule Tectochrysin Ameliorates Type 2 Diabetes in Mice by Activating Insulin Receptor  $\beta$ , *Mol. Nutr. Food Res.* 68 (2024) e2300283.
- [37] M. Boufadi, S. Keddari, F. Moulai-Hacene, S. Chaa, Chemical Composition, Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of *Salvia Officinalis* Extract from Algeria, *Pharmacogn. J.* 13 (2021) 506–515.
- [38] N. Kharazian, Flavonoid Constituents in Some Species of *Salvia* L. (Lamiaceae) in Iran, 25 (2014).
- [39] B. He, F. Xu, T. Yan, F. Xiao, B. Wu, Y. Wang, K. Bi, Y. Jia, Tectochrysin from *Alpinia Oxyphylla* Miq. alleviates A $\beta$ 1-42 induced learning and memory impairments in mice, *Eur. J. Pharmacol.* 842 (2019) 365–372.
- [40] PubChem, Tectochrysin, (n.d.). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281954> (accessed July 31, 2024).
- [41] M. Herrero, M. Plaza, A. Cifuentes, E. Ibáñez, Extraction techniques for the determination of phenolic compounds in food, *Compr. Sampl. Sample Prep.* 4 (2012) 159–180.
- [42] M. Imran, B. Salehi, J. Sharifi-Rad, T. Aslam Gondal, F. Saeed, A. Imran, M. Shahbaz, P.V. Tsouh Fokou, M. Umair Arshad, H. Khan, S.G. Guerreiro, N. Martins, L.M. Estevinho, Kaempferol: A Key Emphasis to Its Anticancer Potential, *Molecules* 24 (2019) 2277.
- [43] S. Parveen, I.U.H. Bhat, R. Bhat, Kaempferol and its derivatives: Biological activities and therapeutic potential, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 13 (2023) 411.
- [44] M.R. Khazdair, A. Anaeigoudari, G.A. Agbor, Anti-viral and anti-inflammatory effects of kaempferol and quercetin and COVID-2019: A scoping review, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 11 (2021) 327.
- [45] PubChem, Kaempferol, (n.d.). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280863> (accessed July 31, 2024).
- [46] M. Pourseyed Lazarjani, S. Torres, T. Hooker, C. Fowlie, O. Young, A. Seyfoddin, Methods for quantification of cannabinoids: a narrative review, *J. Cannabis Res.* 2 (2020) 35.
- [47] \*\*\*, Mai mult decât văd ochii: spectrul electromagnetic, *Sci. Sch.* (n.d.). <https://www.scienceinschool.org/ro/article/2011/em-3-ro/> (accessed August 1, 2024).
- [48] C. Mignone, R. Barnes, More than meets the eye: the electromagnetic spectrum, (n.d.).
- [49] \*\*\*, Spectrul Electromagnetic, ISA - Învățare Prin Sunet Si Atingere (n.d.). <https://www.idea-isa.ro/lesson/spectrul-electromagnetic/> (accessed August 1, 2024).

- [50] \*\*\*, The electromagnetic spectrum, (n.d.). [https://www.esa.int/Science\\_Exploration/Space\\_Science/Integral/The\\_electromagnetic\\_spectrum](https://www.esa.int/Science_Exploration/Space_Science/Integral/The_electromagnetic_spectrum) (accessed August 1, 2024).
- [51] \*\*\*, What Is Infrared Spectroscopy? Fundamentals & Applications, (n.d.). <https://www.excedr.com/blog/what-is-infrared-spectroscopy> (accessed August 1, 2024).
- [52] \*\*\*, Infrared: Interpretation, Chem. Libr. (2013). [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\\_Textbook\\_Maps/Supplemental\\_Modules\\_\(Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\)/Spectroscopy/Vibrational\\_Spectroscopy/Infrared\\_Spectroscopy/Infrared%3A\\_Interpretation](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Vibrational_Spectroscopy/Infrared_Spectroscopy/Infrared%3A_Interpretation) (accessed August 1, 2024).
- [53] \*\*\*, [https://www.academia.edu/17645916/UNIVERSITATEA\\_DE\\_STIINTE\\_AGRONOMICE\\_SI\\_MEDICINA\\_VETERINARA\\_BUCURESTI](https://www.academia.edu/17645916/UNIVERSITATEA_DE_STIINTE_AGRONOMICE_SI_MEDICINA_VETERINARA_BUCURESTI) (accessed August 1, 2024).
- [54] M. Dorobanțu, Analiza structurala organica prin metode spectrale. Curs 5, (n.d.). [https://chem.ubbcluj.ro/~darab/courses/Organic\\_Chemistry\\_I/Curs-5.pdf](https://chem.ubbcluj.ro/~darab/courses/Organic_Chemistry_I/Curs-5.pdf) (accessed August 2, 2024).
- [55] \*\*\*, Spectroscopia de vibrație (IR), (n.d.). [http://chim.upt.ro/\\_old/comunicate-cadre/84604spectro\\_IR1.pdf](http://chim.upt.ro/_old/comunicate-cadre/84604spectro_IR1.pdf) (accessed August 2, 2024).
- [56] M. Dorobanțu, Analiza structurala organica prin metode spectrale. Curs 4, (n.d.). [https://chem.ubbcluj.ro/~darab/courses/Organic\\_Chemistry\\_I/Curs-4.pdf](https://chem.ubbcluj.ro/~darab/courses/Organic_Chemistry_I/Curs-4.pdf) (accessed August 2, 2024).
- [57] C. Paraschiv, M. Praisler, Spectral identification of cannabinoids, *Analele Univ. "Dunărea Jos" Din Galați Fasc. II Mat. Fiz. Mec. Teor.* 46 (2023) 5–10.
- [58] \*\*\*, SpectraBase, (n.d.). <https://spectrabase.com/> (accessed August 2, 2024).
- [59] S. Gosav, M. Praisler, N.P. Cristea, T. Gosav, C. Paraschiv, Experimental and computational studies of 3-(N-morpholinylcarbodithioate)-2-(4-methoxyphenyl)chroman-4-one, a flavanone with potential therapeutical properties, *J. Mol. Struct. Part 1* 1295 (2023) 136627.
- [60] A. Mauri, M. Bertola, M. Alvascience, A New Software Suite for the QSAR Workflow Applied to the Blood–Brain Barrier Permeability, *Int. J. Mol. Sci* 23 (2022).
- [61] D. Lagorce, L. Bouslama, J. Becot, M.A. Miteva, B.O. Villoutreix, FAF-Drugs4: free ADMETox filtering computations for chemical biology and early stages drug discovery, *Bioinformatics* 33 (2017) 3658–3660.
- [62] \*\*\*, [https://chem.libretexts.org/Courses/Howard\\_University/General\\_Chemistry%3A\\_An\\_Atoms\\_First\\_Approach/Unit\\_1%3A\\_Atomic\\_Structure/Chapter\\_1%3A\\_Introduction/Chapter\\_1.7%3A\\_The\\_Mole\\_and\\_Molar\\_Mass](https://chem.libretexts.org/Courses/Howard_University/General_Chemistry%3A_An_Atoms_First_Approach/Unit_1%3A_Atomic_Structure/Chapter_1%3A_Introduction/Chapter_1.7%3A_The_Mole_and_Molar_Mass) (accessed August 3, 2024).
- [63] \*\*\*, Calculating Molecular Weight, (n.d.). [https://chemcollective.org/activities/tutorials/stoich/calculating\\_molecular\\_weight](https://chemcollective.org/activities/tutorials/stoich/calculating_molecular_weight) (accessed August 3, 2024).
- [64] \*\*\*, Definition of molecular weight - NCI Dictionary of Cancer Terms - NCI, (2011). <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/molecular-weight> (accessed August 3, 2024).
- [65] P.D. Leeson, Molecular inflation, attrition and the rule of five, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 101 (2016) 22–33.
- [66] \*\*\*, Molecular weight - MolModa Documentation, (n.d.). <https://durrantlab.pitt.edu/molmoda/docs/structures/molprop/weight/> (accessed August 3, 2024).

- [67] Edited by V. Poongavanam, V. Ramaswamy, Computational Drug Discovery. Methods and Applications, Wiley-VCH, 2024. <https://www.wiley.com/en-us/Computational+Drug+Discovery%3A+Methods+and+Applications%2C+2+Volumes-p-9783527840731>.
- [68] S. Kralj, M. Jukič, U. Bren, Comparative Analyses of Medicinal Chemistry and Cheminformatics Filters with Accessible Implementation in Konstanz Information Miner (KNIME), *Int. J. Mol. Sci* 23 (2022).
- [69] <sup>\*\*\*</sup>, van der Waals radius, Wikipedia (2024). [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Van\\_der\\_Waals\\_radius&oldid=1224084649](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Van_der_Waals_radius&oldid=1224084649) (accessed August 4, 2024).
- [70] T.M. Martin, User's Guide for T.E.S.T. (Toxicity Estimation Software Tool), (n.d.).
- [71] B. Chandrasekaran, S.N. Abed, O. Al-Attaqchi, K. Kuche, R.K. Tekade, Chapter 21 - Computer-Aided Prediction of Pharmacokinetic (ADMET) Properties, in: R.K. Tekade (Ed.), *Dos. Form Des. Parameters*, Academic Press, 2018: pp. 731–755.
- [72] V. Baerle, An Overview Of Bioavailability In Silico Prediction, *Biostudent* 3 (2) (2020) 157–164.
- [73] J. Plante, S. Werner, JPlogP: an improved logP predictor trained using predicted data, *J. Cheminformatics* 10 (2018) 61.
- [74] <sup>\*\*\*</sup>, logP - MolModa Documentation, (n.d.). <https://durrantlab.pitt.edu/molmoda/docs/structures/molprop/logp/> (accessed August 3, 2024).
- [75] A. Avdeef, E. Fuguet, A. Llinàs, C. Ràfols, E. Bosch, G. Völgyi, T. Verbić, E. Boldyreva, K. Takács-Novák, Equilibrium solubility measurement of ionizable drugs – consensus recommendations for improving data quality, *ADMET DMPK* 4 (2016) 117–178.
- [76] <sup>\*\*\*</sup>, Theory of aqueous solubility prediction | Chemaxon Docs, (n.d.). [https://docs.chemaxon.com/display/docs/calculators\\_theory-of-aqueous-solubility-prediction.md#src-1806933-theoryofaqueoussolubilityprediction-examplesofpredictedph-dependentlogscurves](https://docs.chemaxon.com/display/docs/calculators_theory-of-aqueous-solubility-prediction.md#src-1806933-theoryofaqueoussolubilityprediction-examplesofpredictedph-dependentlogscurves) (accessed August 20, 2024).
- [77] M.L. Landry, J.J. Crawford, LogD Contributions of Substituents Commonly Used in Medicinal Chemistry, *ACS Med. Chem. Lett.* 11 (2019) 72–76.
- [78] S. Bhal, Lipophilicity Descriptors: Understanding When to Use LogP & LogD, (n.d.).
- [79] <sup>\*\*\*</sup>, Polar surface area, Wikipedia (2024). [https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Polar\\_surface\\_area&oldid=1218207188](https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Polar_surface_area&oldid=1218207188) (accessed August 20, 2024).
- [80] O.B. Akawa, F.O. Okunlola, M.I. Alahmdi, N.E. Abo-Dya, P.A. Sidhom, M.A.A. Ibrahim, M.F. Shibl, S. Khan, M.E.S. Soliman, Multi-cavity molecular descriptor interconnections: Enhanced protocol for prediction of serum albumin drug binding, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 194 (2024) 9–19.
- [81] L. Fu, S. Shi, J. Yi, N. Wang, Y. He, Z. Wu, J. Peng, Y. Deng, W. Wang, C. Wu, A. Lyu, X. Zeng, W. Zhao, T. Hou, D. Cao, ADMETlab 3.0: an updated comprehensive online ADMET prediction platform enhanced with broader coverage, improved performance, API functionality and decision support, *Nucleic Acids Res.* 52 (2024) W422–W431.
- [82] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, iLOGP: A Simple, Robust, and Efficient Description of *n* - Octanol/Water Partition Coefficient for Drug Design Using the GB/SA Approach, *J. Chem. Inf. Model.* 54 (2014) 3284–3301.
- [83] A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules, *Sci. Rep.* 7 (2017) 42717.



- [84] C. Paraschiv, S. Gosav, C.M. Burlacu, M. Praisler, Exploring the Inhibitory Efficacy of Resokaempferol and Tec-tochrysin on PI3K $\alpha$  Protein by Combining DFT and Molecular Docking Against Wild-Type and H1047R Mutant Forms, *Inventions* 9 (2024) 96.
- [85] B. Kieron, The ABC of DFT, (n.d.). <https://dft.uci.edu/doc/g1.pdf> (accessed August 24, 2024).
- [86] S. Liu, ed., *Front Matter*, in: *Concept. Density Funct. Theory*, 1st ed., Wiley, 2022.
- [87] P. Hohenberg, W. Kohn, Inhomogeneous Electron Gas, *Phys. Rev.* 136 (1964) B864–B871.
- [88] \*\*\*, Density Functional (DFT) Methods | Gaussian.com, (n.d.). <https://gaussian.com/dft/> (accessed August 24, 2024).
- [89] F. Stanzione, I. Giangreco, J.C. Cole, Use of molecular docking computational tools in drug discovery, in: *Prog. Med. Chem.*, Elsevier, 2021: pp. 273–343.
- [90] S. Dastmalchi, M. Hamzeh-Mivehroud, B. Sokouti, eds., *Methods and Algorithms for Molecular Docking-Based Drug Design and Discovery*, IGI Global, 2016.
- [91] P. Castel, E. Toska, J.A. Engelman, M. Scaltriti, The present and future of PI3K inhibitors for cancer therapy, *Nat. Cancer* 2 (2021) 587–597.
- [92] X. Yang, X. Zhang, M. Huang, K. Song, X. Li, M. Huang, L. Meng, J. Zhang, New Insights into PI3K Inhibitor Design using X-ray Structures of PI3K $\alpha$  Complexed with a Potent Lead Compound, *Sci. Rep.* 7 (2017) 14572.
- [93] Y. He, M.M. Sun, G.G. Zhang, J. Yang, K.S. Chen, W.W. Xu, B. Li, Targeting PI3K/Akt signal transduction for cancer therapy, *Signal Transduct. Target. Ther.* 6 (2021) 425.
- [94] T.A. Zughaibi, M. Suhail, M. Tarique, S. Tabrez, Targeting PI3K/Akt/mTOR Pathway by Different Flavonoids: A Cancer Chemopreventive Approach, *Int. J. Mol. Sci.* 22 (2021) 12455.
- [95] F. Janku, J.J. Wheler, A. Naing, G.S. Falchook, D.S. Hong, V.M. Stepanek, S. Fu, S.A. Piha-Paul, J.J. Lee, R. Luthra, A.M. Tsimberidou, R. Kurzrock, PIK3CA Mutation H1047R Is Associated with Response to PI3K/AKT/mTOR Signaling Pathway Inhibitors in Early-Phase Clinical Trials, *Cancer Res.* 73 (2013) 276–284.
- [96] L. Nisa, P. Häfliger, M. Poliaková, R. Giger, P. Francica, D.M. Aebbersold, R.-P. Charles, Y. Zimmer, M. Medová, PIK3CA hotspot mutations differentially impact responses to MET targeting in MET-driven and non-driven preclinical cancer models, *Mol. Cancer* 16 (2017) 93. <https://doi.org/10.1186/s12943-017-0660-5>.
- [97] S. Guo, S. Loibl, G. von Minckwitz, S. Darb-Esfahani, B. Lederer, C. Denkert, PIK3CA H1047R Mutation Associated with a Lower Pathological Complete Response Rate in Triple-Negative Breast Cancer Patients Treated with Anthracycline-Taxane-Based Neoadjuvant Chemotherapy, *Cancer Res. Treat. Off. J. Korean Cancer Assoc.* 52 (2020) 689–696.
- [98] H. Cheng, S.T.M. Orr, S. Bailey, A. Brooun, P. Chen, J.G. Deal, Y.L. Deng, M.P. Edwards, G.M. Gallego, N. Grodsky, et al. Structure-Based Drug Design and Synthesis of PI3K $\alpha$ -Selective Inhibitor (PF-06843195), *J. Med. Chem.* 64 (2021) 644–661.
- [99] B.V. Bhaskar, A. Rammohan, T.M. Babu, G.Y. Zheng, W. Chen, W. Rajendra, G.V. Zyryanov, W. Gu, Molecular insight into isoform specific inhibition of PI3K- $\alpha$  and PKC- $\eta$  with dietary agents through an ensemble pharmacophore and docking studies, *Sci. Rep.* 11 (2021) 12150.
- [100] Schrödinger Release 2024-2: Epik, in: Schrödinger, LLC, New York, NY, 2024.
- [101] Schrödinger Release 2024-2: LigPrep, in: Schrödinger, LLC, New York, NY, 2024.

- [102] Schrödinger Release 2024-2: Maestro, in: Schrödinger, LLC, New York, NY, 2024.
- [103] Schrödinger Release 2024-2: Prime, in: Schrödinger, LLC, New York, NY, 2024.
- [104] Schrödinger Release 2024-2: Protein Preparation Wizard; Epik, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2024; Impact, Schrödinger, LLC, New York, NY; Prime, in: Schrödinger, LLC, New York, NY, 2024.
- [105] M.S. Edited by Coumar, Fundamentals, Techniques, Resources and Applications, 1st ed., Academic Press, Elsevier, 2021.
- [106] M. Mukhopadhyay, A Brief Survey On Bio Inspired Optimization Algorithms For Molecular Docking, *Int. J. Adv. Eng. Technol.* 7 (2014) 868–878.
- [107] K.K. Chaudhary, N. Mishra, A Review on Molecular Docking: Novel Tool for Drug Discovery, *JSM Chem* 4 (2016) 1029.
- [108] S. Tang, R. Chen, M. Lin, Q. Lin, Y. Zhu, J. Ding, H. Hu, M. Ling, J. Wu, Accelerating AutoDock Vina with GPUs, *Molecules* 27 (2022) 3041.
- [109] T. Chen, X. Shu, H. Zhou, F.A. Beckford, M. Misir, Algorithm selection for protein–ligand docking: strategies and analysis on ACE, *Sci. Rep.* 13 (2023) 8219.
- [110] AutoDock3.0.5\_UserGuide.pdf, (n.d.). [https://autodock.scripps.edu/wp-content/uploads/sites/56/2022/04/AutoDock3.0.5\\_UserGuide.pdf](https://autodock.scripps.edu/wp-content/uploads/sites/56/2022/04/AutoDock3.0.5_UserGuide.pdf) (accessed August 26, 2024).
- [111] G.M. Morris, D.S. Goodsell, R.S. Halliday, R. Huey, W.E. Hart, R.K. Belew, A.J. Olson, Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function, *J. Comput. Chem.* 19 (1998) 1639–1662.
- [112] Center of Computational Structural Biology, AutoDock Vina Documentation, (n.d.). <https://autodock-vina.readthedocs.io/en/latest/introduction.html> (accessed August 26, 2024).
- [113] O. Trott, A.J. Olson, AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, *J. Comput. Chem.* 31 (2010) 455–461.
- [114] \*\*\*, Manual, AutoDock Vina (n.d.). <https://vina.scripps.edu/manual/> (accessed August 26, 2024).
- [115] D. Santos-Martins, L. Solis-Vasquez, A.F. Tillack, M.F. Sanner, A. Koch, S. Forli, Accelerating AutoDock4 with GPUs and Gradient-Based Local Search, *J. Chem. Theory Comput.* 17 (2021) 1060–1073.
- [116] J. Eberhardt, D. Santos-Martins, A.F. Tillack, S. Forli, AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings, *J. Chem. Inf. Model.* (2021).
- [117] \*\*\*, Docking and scoring, Schrödinger (2021). <https://www.schrodinger.com/life-science/learn/white-papers/docking-and-scoring/> (accessed August 26, 2024).
- [118] R.A. Friesner, J.L. Banks, R.B. Murphy, T.A. Halgren, J.J. Klicic, D.T. Mainz, M.P. Repasky, E.H. Knoll, M. Shelley, J.K. Perry, D.E. Shaw, P. Francis, P.S. Shenkin, Glide: a new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy, *J. Med. Chem.* 47 (2004) 1739–1749.
- [119] R. Meli, G.M. Morris, P.C. Biggin, Scoring Functions for Protein-Ligand Binding Affinity Prediction Using Structure-based Deep Learning: A Review, *Front. Bioinforma.* 2 (2022) 885983.
- [120] Improved Molecular Docking of MAO-B Inhibitors with Glide, *Biointerface Res. Appl. Chem.* 13 (2022) 159.
- [121] D.S. Wishart, A. Guo, E. Oler, F. Wang, A. Anjum, H. Peters, R. Dizon, Z. Sayeeda, S. Tian, B.L. Lee, M. Berjanskii, R. Mah, M. Yamamoto, J. Jovel, C. Torres-Calzada, M. Hiebert-Giesbrecht, V.W. Lui, D. Varshavi, D. Varshavi, D. Allen, D. Arndt, N. Khetarpal, A.

- Sivakumaran, K. Harford, S. Sanford, K. Yee, X. Cao, Z. Budinski, J. Liigand, L. Zhang, J. Zheng, R. Mandal, N. Karu, M. Dambrova, H.B. Schiöth, R. Greiner, V. Gautam, HMDB 5.0: the Human Metabolome Database for 2022, *Nucleic Acids Res.* 50 (2021) D622–D631.
- [122] PCIDB, (n.d.). <https://www.genome.jp/db/pcidb> (accessed August 27, 2024).
- [123] Z. Wang, R. Song, W. Chen, J. Wang, P. Wang, Z. Zhang, X. Zhang, F. Wan, Vibrational Spectra and Molecular Vibrational Behaviors of Dibenzyl Disulfide, Dibenzyl Sulphide and Bibenzyl, *Int. J. Mol. Sci.* 23 (2022) 1958.
- [124] H. K.M., K. S. Madan, M. B.C., N. R., Vibrational analysis and physical property studies of 6-Methoxy-2-[(E)-phenyliminomethyl]-phenol in the THz, IR and UV–visible spectral regions, *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* 222 (2019) 117227.
- [125] M.H. Jamróz, Vibrational Energy Distribution Analysis (VEDA): Scopes and limitations, *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* 114 (2013) 220–230.
- [126] B. Sathya, M. Prasath, M. Selvapandiyan, K. Prabha, Vibrational Analysis (FT-IR and FT-Raman Spectra) and Molecular Docking Evaluation of MPTB in GABA Receptor, *J. Clust. Sci.* 30 (2019) 1025–1035.
- [127] N. Paduraru, S. Gosav, M. Praisler, Chemometric Characterization of Some Flavonoids Active Against HT-29 Human Cancer Cells, *E-Health Bioeng. Conf. EHB 2015* (2015).
- [128] A. Sykuła, A. Kowalska-Baron, K. Gałęcki, P. Błazińska, E. Łodyga-Chruścińska, Structural and Spectral Investigation of a Series of Flavanone Derivatives, *Molecules* 26 (2021) 1298.
- [129] H.M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T.N. Bhat, H. Weissig, I.N. Shindyalov, P.E. Bourne, The Protein Data Bank, *Nucleic Acids Res.* 28 (2000) 235–242.
- [130] Pubchem., (n.d.). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> (accessed May 15, 2024).
- [131] R.B. Murphy, M.P. Repasky, J.R. Greenwood, I. Tubert-Brohman, S. Steven Jerome, R. Annabhimoju, N.A. Boyles, C.D. Schmitz, R. Abel, R. Farid, R.A. Friesner, WScore: A flexible and accurate treatment of explicit water molecules in ligand–receptor docking, *Med. Chem* 59 (2016) 4364–4384.
- [132] The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.5.7, in: Schrödinger, LLC., n.d.
- [133] RCSB PDB - Pairwise Structure Alignment Tool, (n.d.). <https://www.rcsb.org/alignment> (accessed September 2, 2024).
- [134] Z. Li, L. Lukasz Jaroszewski, M. Iyer, M. Sedova, A. Godzik, FATCAT 2.0: towards a better understanding of the structural diversity of proteins, *Nucleic Acids Res.* 48 (2020) W60–W64.
- [135] J. Ma, S. Wang, Algorithms, Applications, and Challenges of Protein Structure Alignment, *Adv Protein Chem Struct Biol* 94 (2014) 121–175.
- [136] R.P.D. Bank, Pairwise Structure Alignment, (n.d.). <https://www.rcsb.org/docs/tools/pairwise-structure-alignment> (accessed September 2, 2024).
- [137] C.J. Williams, J.J. Headd, N.W. Moriarty, M.G. Prisant, L.L. Videau, L.N. Deis, V. Verma, D.A. Keedy, B.J. Hintze, V.B. Chen, S. Jain, S.M. Lewis, W.B. 3rd Arendall, J. Snoeyink, P.D. Adams, S.C. Lovell, J.S. Richardson, D.C. Richardson, MolProbity: More and better reference data for improved all-atom structure validation, *Protein Sci.* 27 (2018) 293–315.
- [138] BIOVIA, Dassault Systèmes, Discovery Studio, 24.1.0.23298, in: San Diego: Dassault Systèmes, 2024.
- [139] C. Paraschiv, S. Gosav, M. Praisler, Chemical Potential Evaluation of Kaempferol Based on Molecular Modeling, in: *Int. Conf. E-Health Bioeng. EHB 2023 11th Ed.*, 2023.
- [140] Gaussian 09 W Software, (2003).

- [141] Search results, (n.d.). <https://research.manchester.ac.uk/en/datasets/ccdc-1429470-experimental-crystal-structure-determination> (accessed July 27, 2023).
- [142] S. Gosav, N. Paduraru, D. Maftei, M.L. Birsa, M. Praisler, Quantum chemical study of a derivative of 3-substituted dithiocarbamic flavanone, *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* 172 (2017) 115–125.
- [143] S. Gosav, A. Ion, M. Praisler, DFT characterization of MDMA methylene homologue, a chemical compound with psychoactive properties, in: Sofia, Bulgaria, 2019: p. 170027.
- [144] \*\*\*, Avogadro: an open-source molecular builder and visualization tool, (n.d.). <http://avogadro.cc/>.
- [145] M.E. Hanwell, D.E. Curtis, D.C. Lonie, T. Vandermeersch, E. Zurek, G.R. Hutchison, Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform, *J. Cheminformatics* (2012).
- [146] R.P.D. Bank, RCSB PDB - 4JPS: Co-crystal Structures of the Lipid Kinase PI3K alpha with Pan and Isoform Selective Inhibitors, (n.d.). <https://www.rcsb.org/structure/4JPS> (accessed September 8, 2023).
- [147] J. Kapil, P. Shukla, A. Pathak, Review Article on Density Functional Theory, in: V.K. Jain, S. Rattan, A. Verma (Eds.), *Recent Trends Mater. Devices*, Springer, Singapore, 2020: pp. 211–220.
- [148] W. Qin, N. Du, L. Zhang, X. Wu, Y. Hu, X. Li, N. Shen, Y. Li, B. Yang, C. Xu, Genistein alleviates pressure overload-induced cardiac dysfunction and interstitial fibrosis in mice, *Br J Pharmacol* 172 (2015) 5559–5572.
- [149] M. Zhang, H. Jang, R. Nussinov, PI3K inhibitors: review and new strategies, *Chem. Sci.* 11 (2020) 5855–5865.
- [150] C.M. Burlacu, A.C. Burlacu, M. Praisler, C. Paraschiv, Harnessing Deep Convolutional Neural Networks Detecting Synthetic Cannabinoids: A Hybrid Learning Strategy for Handling Class Imbalances in Limited Datasets, *Inventions* 8 (2023) 129.
- [151] C.M. Burlacu, S. Gosav, B.A. Burlacu, M. Praisler, Convolutional Neural Network Detecting Synthetic Cannabinoids, in: *In Proceedings of the International Conference on e-Health and Bioengineering (EHB)*, Iasi, Romania, 2021.
- [152] D. Hellmann, *The Python 3 Standard Library by Example*, 2nd ed., Addison-Wesley Professional, Boston, NA, USA, 2017.
- [153] Wolfram Research, *I. Mathematica Version 13.3*, in: Wolfram Research, Inc., Champaign, IL, USA, 2023.