

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
фармацевтичний факультет
кафедра фармацевтичної хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: «Прогнозування механізму дії похідного піридазин-3-ону як
дофамінергічного агоніста та інгібітора моноамінооксидази»**

Виконала: здобувачка вищої освіти групи Фс18(4,10д)-01
спеціальності 226 Фармація, промислова фармація
освітньої програми Фармація

Олена МИШЛАКОВА

Керівник: доцент закладу вищої освіти кафедри
фармацевтичної хімії, д.фарм.н., доцент

Ганна СЕВЕРІНА

Рецензент: професор закладу вищої освіти кафедри
фармакогнозії, д.фарм.н., професор

Олег КОШОВИЙ

Харків – 2023 рік

АНОТАЦІЯ

У цій роботі проведено *in silico* дослідження афінності похідної 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону до дофамінових рецепторів та сайтів моноамінооксидази з метою визначення механізму дії цієї сполуки як потенційного антипаркінсонічного засобу. У роботі представлені вступ, три розділи, висновки, список використаної літератури зі 133 джерел та додатки. Зміст роботи охоплює 47 сторінок машинописного тексту, включає 2 таблиці та 35 рисунків.

Ключові слова: піридазин, молекулярний докінг, MAO-A/B, дофамін.

ANNOTATION

This paper presents an *in silico* study of the affinity of a 5-methoxy-2-(2-methylphenyl)pyridazin-3-one derivative for dopamine receptors and monoamine oxidase sites to determine the mechanism of action of this compound as a potential antiparkinsonian agent. The paper consists of an introduction, three chapters, conclusions, a list of 133 references, and appendices. The work covers 47 pages of typewritten text, includes 2 tables and 35 figures.

Key words: pyridazine, molecular docking, MAO-A/B, dopamine.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень

Вступ	5
РОЗДІЛ 1 ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ ПІРИДАЗИН-3-ОНУ (огляд літератури)	8
1.1 Загальна характеристика видів фармакологічної активності похідних піридазинону	8
1.2 Протизапальна та знеболювальна активність	9
1.3 Нейропротекторна активність	14
1.4 Антидіабетична активність	16
1.5 Різні активності	17
Висновки до розділу 1.1	24
РОЗДІЛ 2 IN SILICO ДОСЛІДЖЕННЯ АФІННОСТІ ПОХІДНОЇ ПІРИДАЗИН-4-ОНУ ДО МОНОАМІНООКСИДАЗИ	25
2.1 In silico дослідження інгібувальної активності похідної піридазин-4-ону до моноамінооксидази	27
2.1.1 Визначення афінності до моноамінооксидази типу Б	27
2.1.2 Визначення афінності до моноамінооксидази типу А	32
Висновки до розділу 2.1	35
РОЗДІЛ 3 IN SILICO ДОСЛІДЖЕННЯ АФІННОСТІ ПОХІДНОЇ ПІРИДАЗИН-4-ОНУ ДО ДОФАМІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ 4 ТИПУ	37
Експериментальна частина	40
Висновки до розділу 3.1	41
ВИСНОВКИ	42
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	43

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ФДЕ III – Фосфодіестераза III

ФДЕ3А - Фосфодіестераза 3А

ФДЕ4В - Фосфодіестераза 4В

НПЗП - Нестероїдні протизапальні препарати

(ЦОГ) - ЦОГ-1 і ЦОГ-2 – циклооксигеназа-1 , циклооксигеназа-2

IC50 - максимальна інгібуюча концентрація

LOX -Ліпоксигеназа

ED50 - Ефективна доза

ВІЛ - Вірус імунодефіциту людини

TNF - Фактор некрозу пухлин

IL-1 β - Інтерлейкін-1 бета

мкМ - Мікромоляр

мл - мілілітр

нМ - Наномолярний

мг - Міліграм

кг - Кілограм

САТ - середній артеріальний тиск

PGI2 - Простагландин I2

FPR - Формілпептидні рецептори

ВСТУП

Актуальність теми. Хвороба Паркінсона(ХП) - це серйозне неврологічне захворювання, яке впливає на рухову активність людини та її здатність до нормального функціонування. Ця хвороба виникає, коли певні клітини в мозку починають знижувати вироблення допаміну, хімічного передавача, який контролює рухові функції тіла. Причини розвитку хвороби Паркінсона не повністю зрозумілі, але відомо, що фактори ризику включають в себе вік, генетичну схильність, токсичні речовини в навколишньому середовищі та інші. Хвороба може розпочинатися в будь-якому віці, але найчастіше з'являється після 50 років. Симптоми хвороби Паркінсона можуть починатися поступово, тому багато людей не помічають їх на початку. Найбільш характерні симптоми включають тремор рук, ніг або щелепи, м'язову жорсткість, повільність рухів, нерівномірний похід, порушення координації та інші. Іноді хворі можуть відчувати депресію, проблеми зі сном, непевність в ходьбі та інші симптоми.

Лікування хвороби Паркінсона полягає в контролюванні симптомів та підтримці якості життя хворого. Лікарі можуть призначати ліки для збільшення рівня допаміну в мозку, а також інші ліки, що зменшують симптоми хвороби. Крім того, фізична терапія та різні види терапії можуть допомогти зменшити симптоми хвороби та зберегти функції руху. Незважаючи на те що на сьогодні вже застосовуються в клінічній практиці ряд лікарських засобів. Однак ефективності їх є недостатньою.

Актуальність пошуку нових ліків для лікування хвороби Паркінсона обумовлена тим, що наразі існуючі методи лікування не можуть повністювилікувати хворобу та її симптоми стають більш виразними з часом. Тому знайдення нових препаратів, які допоможуть повернути людям здатність до нормального функціонування та полегшать їх життя, є важливим завданням для науки та медицини.

Мета дослідження - визначення ступеня афінності нової похідної 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону до сайтів інгібіторів

моноамінооксидази типу А/Б та сайту агоністів дофамінових рецепторів типу D4 для прогнозування можливого механізму її дії як антипаркінсонічного агента.

Для досягнення мети необхідно було вирішити *завдання*:

1. провести літературний огляд щодо фармакологічних властивостей похідних піридазину та ролі моноамінооксидази та дофамінових рецепторів у розвитку нейродегенеративних розладів ;
2. на основі аналізу літературних даних взаємозв'язку між лігандом рецептором та фармакологічною відповіддю відібрати перспективні біомішені для *in silico* досліджень;
3. здійснити процедуру валідації методології докінгу для кожної обраної біомішені;
4. провести докінгові дослідження похідної 5-метоки-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону до сайту інгібітору моноамінооксидази а та Б;
5. провести докінгові дослідження похідної 5-метоки-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону до сайту дофамінового рецептору 4 підтипу;
6. сформулювати висновки щодо можливого механізму дії похідної 5-метоки-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону

Об'єкт дослідження – рецепторно-орієнтований гнучкий молекулярний докінг.

Предмет дослідження – докінгові дослідження, сайти інгібітора моноамінооксидази А та Б та дофамінового рецептору 4 типу, похідна 5-метоки-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону

Методи дослідження. Молекулярний докінг здійснювали за допомогою програм AutoDock Vina та AutoDockTools4. Біомішень використали макромолекули з Protein Data Bank. Конструювання структури – BIOVIADraw 2017R2. Оптимізація структури – Chem3D. Discovery Studio Visualizer 2021 – для візуалізації результатів

Практичне значення отриманих результатів. Валідовані методології молекулярного докінгу в активні сайти до сайту інгібітора моноамінооксидази А та Б та дофамінового рецептору 4 типу та визначені параметри для віртуального скринінгу можуть бути використані для подальшого прогнозування механізму дії нових біологічно активних речовин як потенційних антипаркінсонічних агентів та планування експериментальних досліджень.

Елементи наукових досліджень. Проведено докінгові дослідження для перспективної похідної 5-метоки-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону як антипаркінсонічного агента, запропоновано можливі механізми реалізації ефекту; обґрунтована здатність сполуки інгібувати NMDA-рецепторів як можливий механізм протипаркінсонічної дії.

Апробація результатів дослідження і публікації. Результати випускної кваліфікаційної роботи доповідалися на секційному засіданні кафедри фармацевтичної хімії в рамках XXIX Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (19-21 квітня 2023 р.). Тези доповіді опубліковані у збірнику конференції.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи. Кваліфікаційна робота складається із вступу, трьох розділів, загальних висновків, списку літератури. Робота викладена на сторінках, ілюстрована 2 таблицями, 33 рисунками. Список використаних літературних джерел містить 104 найменувань, з яких – 100 іноземних авторів.

РОЗДІЛ 1

ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ ПІРИДАЗИН-3-ОНУ (Огляд літератури)

1.1 Загальна характеристика видів фармакологічної активності похідних піридазинону

Хімія піридазинонів є цікавим напрямком досліджень вже протягом десятиліть. Синтез нових похідних піридазинонів та вивчення їх хімічної та біологічної поведінки набули особливого значення з біологічних, медичних та сільськогосподарських причин. Живим істотам важко утворювати N-N зв'язки, що обмежує природну поширеність сполук з такими зв'язками. Фармакологічна дія піридазинонів широко вивчена і добре відома своїми серцево-судинними ефектами [1-3]. Серед похідних піридазин-3-онів, були виявлені як інгібітори фосфодіестераза III (ФДЕ III) – зардаверин або імазодан для створення нових антиагрегантів або кардіотонічних засобів [4,5]. Огляд літератури показав, що заміщені піридазинони привертають значну увагу через значний потенціал як антидепресантів [6], антигіпертензивних [7], протисудомних [8], кардіотонічних [9], антибактеріальних [10], діуретиків [11], анти-ВІЛ [12] та протиракових засобів [13] (рис.1.1).

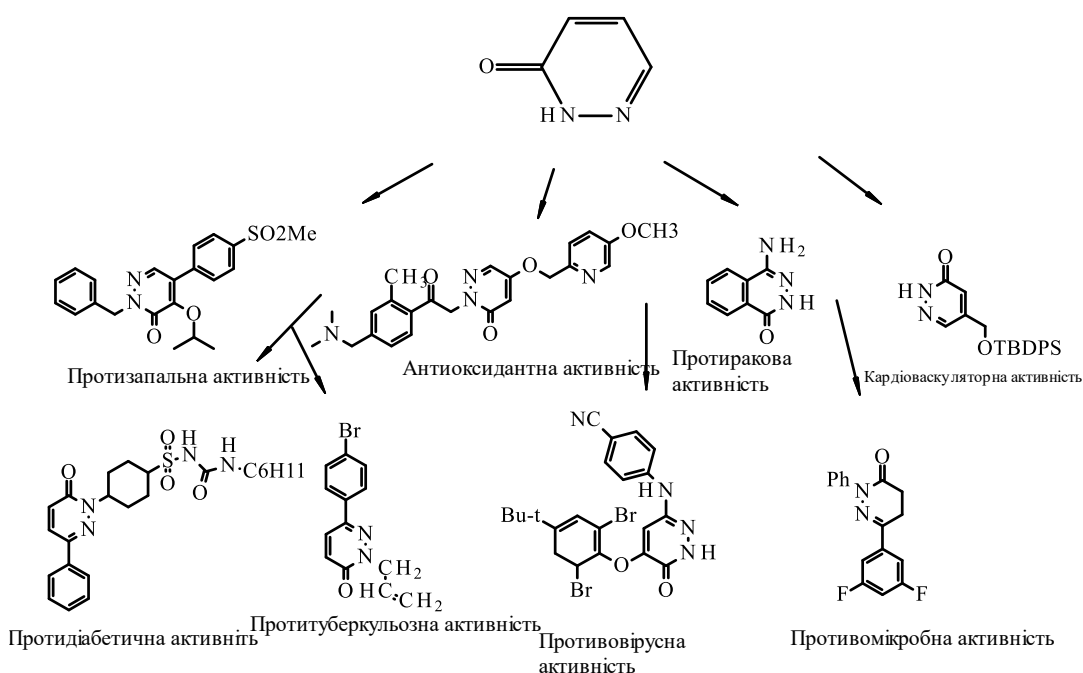


Рис.1.1 Види фармакологічної активності похідних піридазинону

Піридазинон викликає пряме розслаблення гладких м'язів артеріол шляхом зниження артеріального тону, не впливаючи на вегетативну нервову систему. Молекулярні механізми, що опосередковують цю дію, незрозумілі, але в підсумку можуть бути пов'язані з падінням внутрішньоклітинної концентрації кальцію. Хоча вазодилататори, такі як гідралазин, впливають на різноманітні зміни в клітинних сигнальних шляхах, точні молекулярні мішені, які пояснюють його здатність розширювати артерії, залишаються невизначеними.

Завдяки різноманітній фармакологічній активності похідних, які містять піридазинове кільце багато дослідників у всьому світі займаються розробкою фармакологічно активних препаратів на його основі. Нижче розглянуті останні досягнення та розробки, в цьому напрямку:

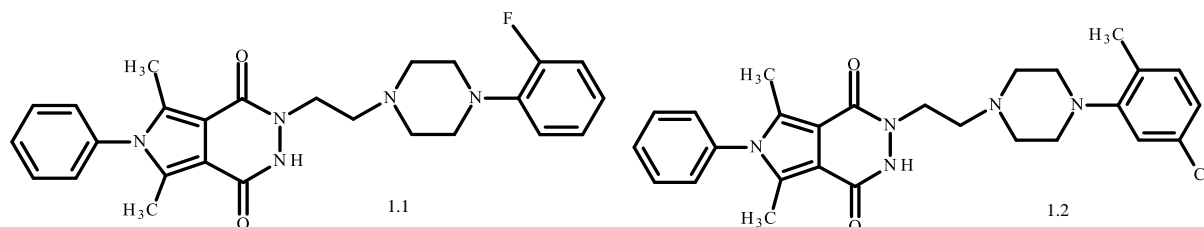
1.2 Протизапальна та знеболювальна активність

Контроль запалення набув великого значення для лікування численних захворювань, таких як астма, атеросклероз, остеоартрит, хвороба Крона, хвороба Альцгеймера, подагра, цукровий діабет, розсіяний склероз, ревматоїдний артрит, карцинома, псоріаз, вірусні та бактеріальні інфекції тощо. Для лікування запальних і больових станів спричинених цими захворюваннями використовують нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП). Існуючі ізоформи циклооксигенази (ЦОГ) - ЦОГ-1 і ЦОГ-2, погано розрізняються більшістю класичних НПЗП, тобто вони не мають селективності дії [14, 15]. На основі піридазинону хіміками-фармацевтами було синтезовано декілька речовин що виявляють анальгетичні та протизапальні властивості.

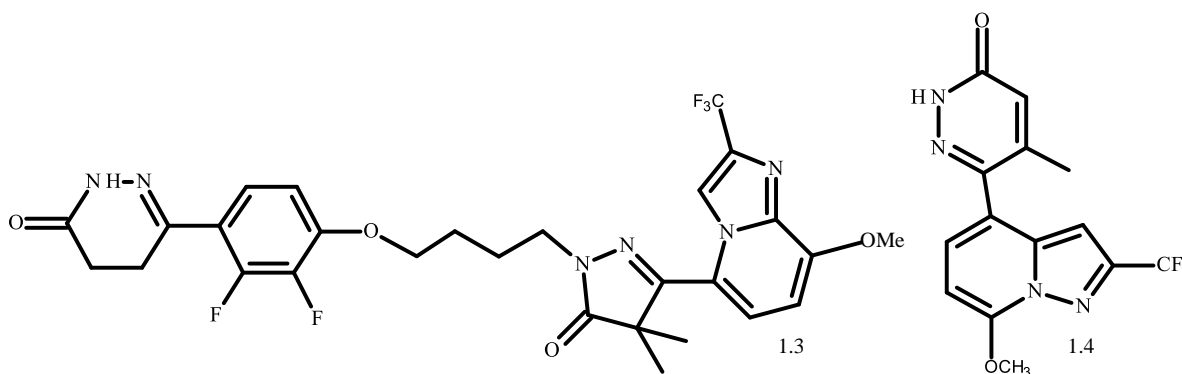
Серед кількох похідних піридазинону, синтезованих Могільським та ін.[16], сполуки **1.1** та **1.2** виявляли протизапальну активність та інгібувальну активність щодо цитокінів (TNF α , IL-1 β) у концентрації 100 мкМ/мл. Обидві сполуки значно зменшували утворення набряку.

Серед похідних піридазинону, розроблених Очіай та ін. [17], сполука **1.3** виявила найвищу протизапальну активність щодо фосфодіестерази 3А

(ФДЕ3А) та фосфодіестерази 4В (ФДЕ4В). Очіай та ін. також розробили іншу серію похідних піридазину, серед яких сполука **1.4** виявила значну протизапальну активність *in vivo* зі значенням IC_{50} 0,042 та 0,36 мкМ проти ФДЕ4В та ФДЕ3А відповідно [18].

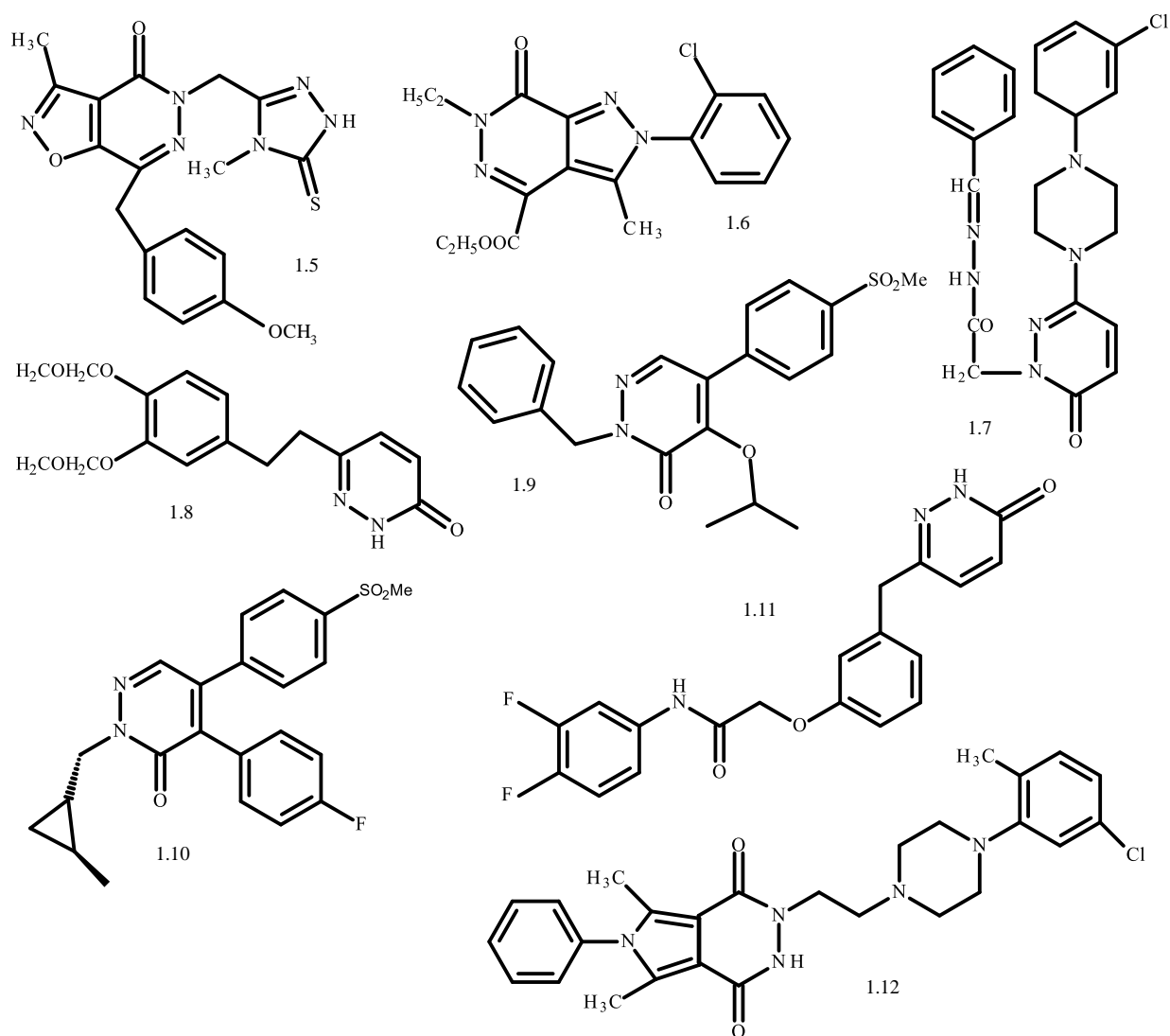


Сполуки які виявляли протизапальну активність та інгібувальну активність цитокінів



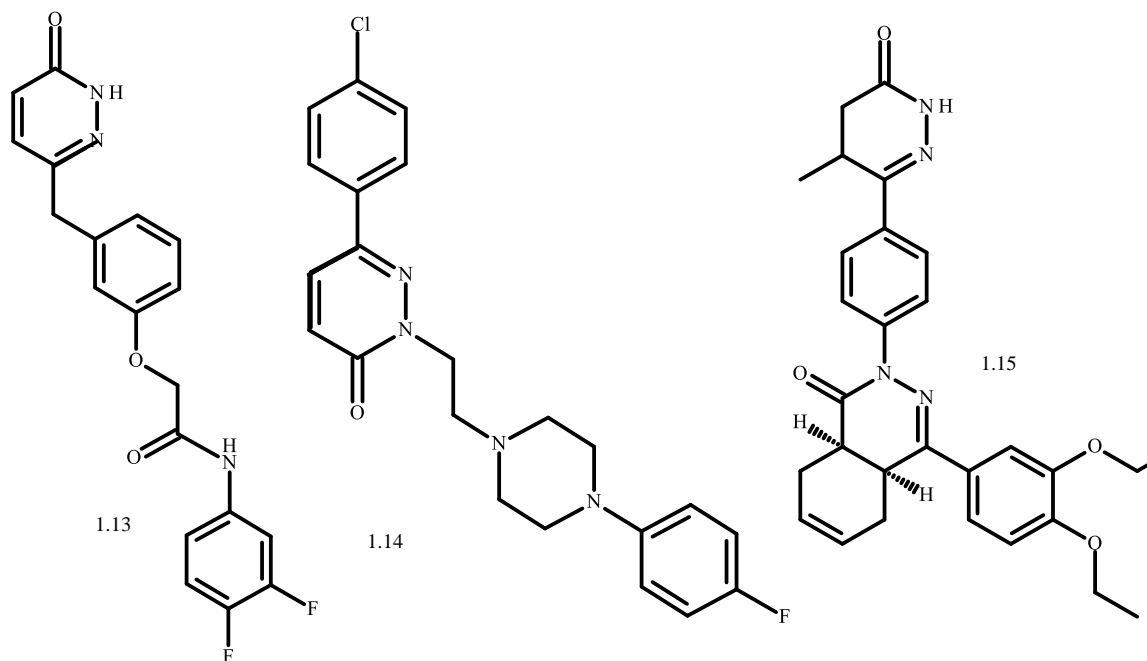
Аналоги піридазину, синтезовані Озадалі та ін., були оцінені на предмет протизапальної активності. Усі сполуки виявили потужну протизапальну активність *in vitro* щодо ЦОГ-1/ЦОГ-2, 5-LOX та *in vivo* у тесті набряку лап у щурів. Однак сполука **1.5** виявилася найбільш активною щодо інгібування ферментів ЦОГ-2 (IC_{50} = 2,1 мкМ) та 5-LOX (IC_{50} = 6,3 мкМ) [19]. Ряд похідних піразолів та піразоло [3,4-d]піридазину, синтезованих Б'ягіні та ін., було оцінено на предмет їхньої інгібуючої активності щодо ФДЕ4. В результаті оцінки було виявлено, що сполука **1.6** є найпотужнішою сполукою з IC_{50} 32 нМ [20]. Серед похідних піридазину, синтезованих Гокче та ін., сполука **1.7** виявилася потужним протизапальним агентом [21]. Аналоги піридазину були синтезовані та оцінені Абузід та ін. на предмет їхньої протизапальної активності з використанням моделі "карагенанового набряку

лапи щура", і сполука **1.8** продемонструвала найвищу протизапальну активність *in vivo* з ефективною дозою (ED50) 17 мкМ [22]. Серед піридазинонів, розроблених і синтезованих Лі та інші., сполуки **1.9** і **1.10** виявили найбільш активну протизапальну активність з ED50 менше 0,3 мг/кг і 1,1 мг/кг відповідно [23]. В іншій серії піридазинонів, розробленою Китайською громадою та ін., сполука **1.11** виявилася найактивнішим протизапальним агентом [24]. Малінка та ін. синтезували похідні піридазинону та визначили їхню анальгетичну активність. Сполука **1.12** виявила спорідненість до μ -опіїдних рецепторів, подібну до спорідненості трамадолу [25].

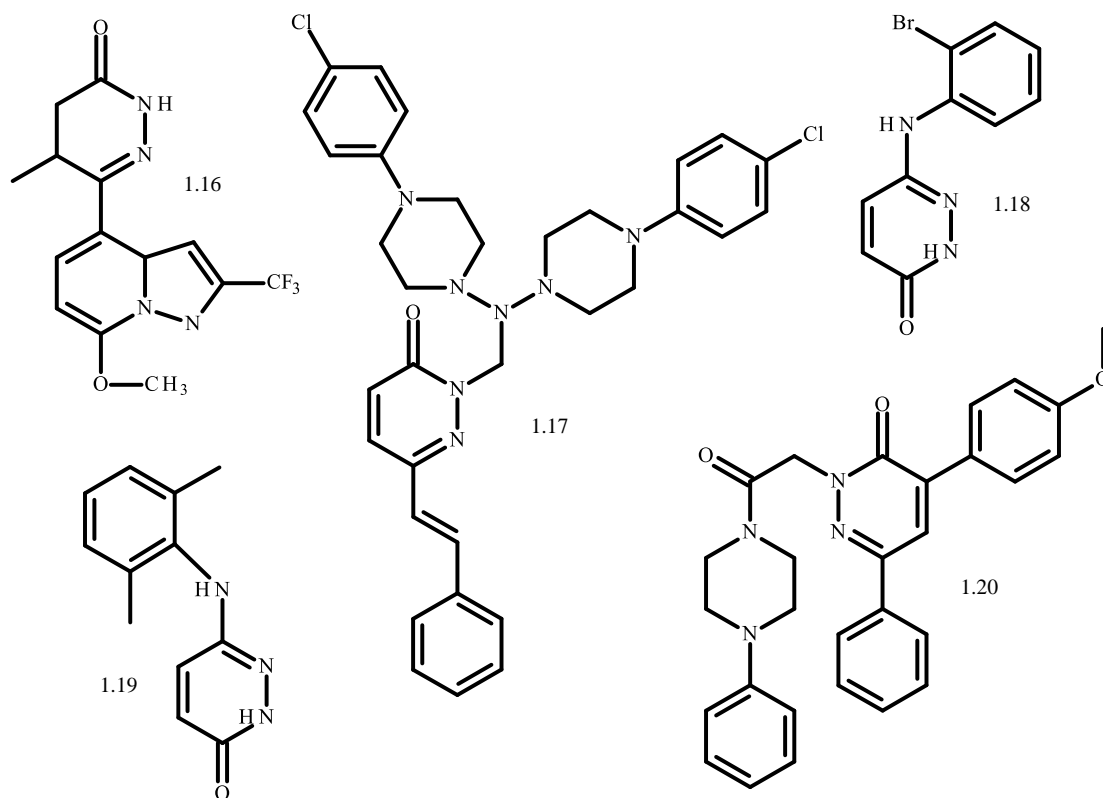


Чінтакунта та ін. синтезували 3-заміщені бензилпіридазинонові сполуки та оцінили їхню інгібіторну активність щодо циклооксигенази та

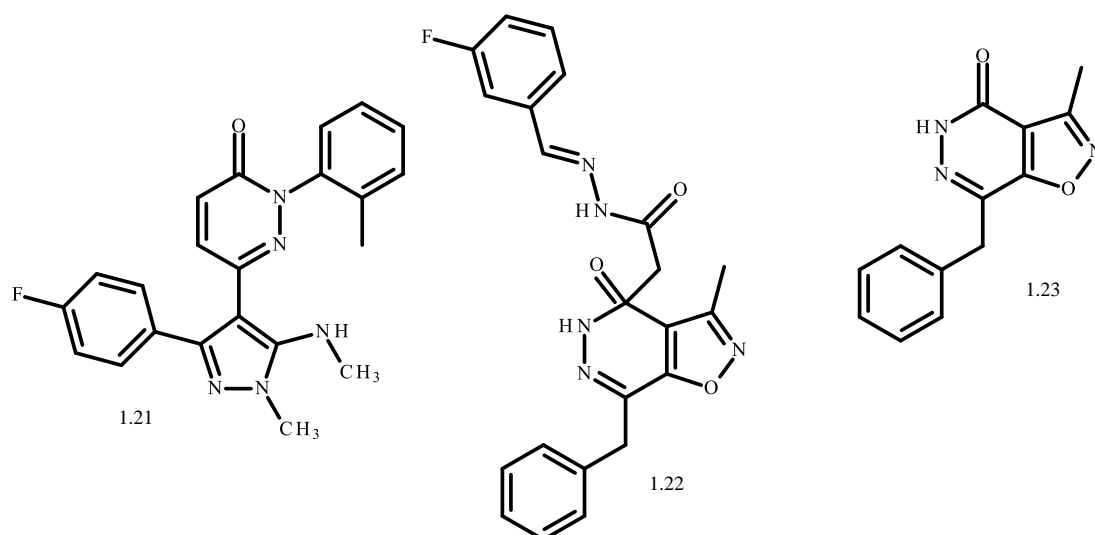
селективність до ЦОГ-2. Було виявлено, що сполука **1.13** є найбільш активною протизапальною речовиною [26]. Тірякі та ін. синтезували сполуки на основі піридазину та визначили їх анальгетичний та протизапальний потенціал. Найпотужнішою виявилася сполука **1.14** [27]. Похідні піридазину, синтезовані Мей та ін., були перевірені на протизапальну дію. Найактивнішою виявилася сполука **1.15** [28].



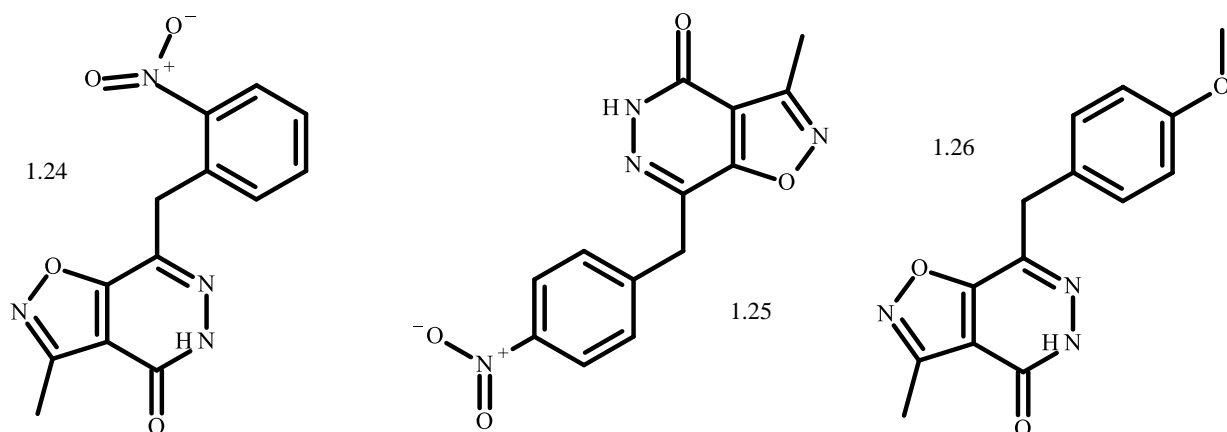
Очіай та ін. синтезували ряд похідних піридазину та оцінили їхню протизапальну активність. Було виявлено, що сполука **1.16** є перспективним протизапальним агентом [29]. Серед сполук, синтезованих Саїдом та ін., значну протизапальну активність виявила сполука **1.17** [30]. Абузід та ін. синтезували піридазинові сполуки та перевірили їх на потенційну протизапальну активність. Сполуки **1.18** та **1.19** виявилися найактивнішими сполуками цієї серії [31]. Серед молекул на основі піридазину, розроблених Шармою та ін., сполука **1.20** виявилася найактивнішим протизапальним агентом [32]. Ряд нових 6-[(6R) 2-(4-фторфеніл)-6-(гідроксиметил)-4,5,6,7-тетрагідропіразоло[1,5a]піримідин-3-іл]-2-(2-метилфеніл)піридазин-3(2H)] був розроблений та отриманий Асано та ін. Ці сполуки були протестовані на предмет їх потужного інгібування p38 MAP-кінази.



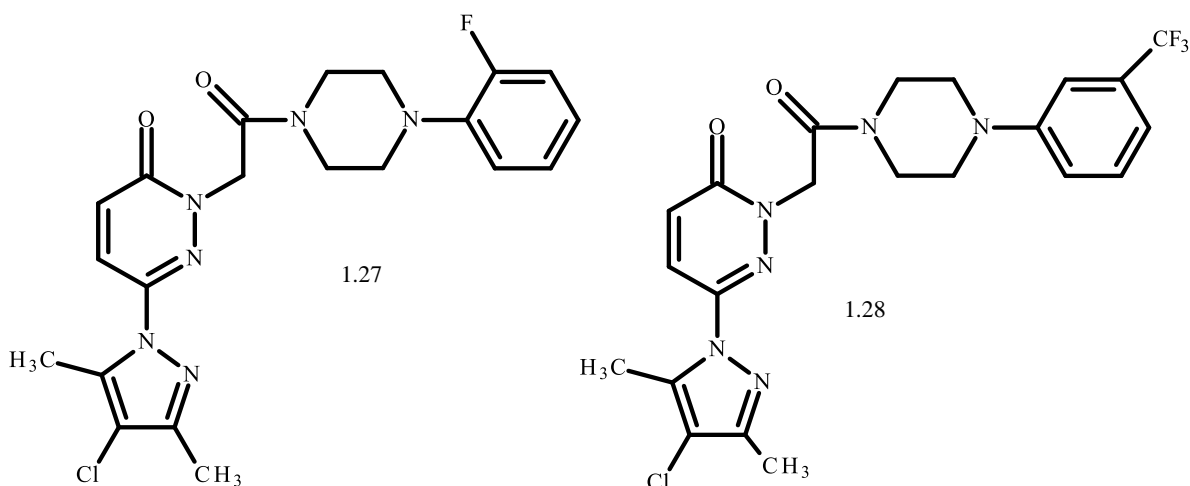
Сполука **1.21** була ідентифікована як потужний інгібітор продукції TNF α in vitro [33]. Тан та ін. розробили та синтезували ряд похідних піридазинону та протестували їх на інгібіторну активність щодо циклооксигенази.



Серед синтезованих молекул найактивнішою виявилася сполука **1.22**. [34]. Тан та ін. синтезували похідні піридазинону та оцінили їх знеболювальну активність. Було виявлено, що сполуки **1.23-1.26** проявляють максимальну знеболювальну активність [35].



Ряд [6-(3,5-диметил-4-хлорпіразол-1-іл)-3(2H)-піридазинон-2-іл]ацетамідів, розроблених Сукороглу та ін., було оцінено на протизапальну активність. Сполуки **1.27** та **1.28** показали значну протизапальну дію [36].

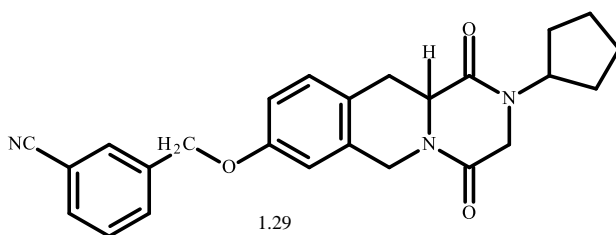


1.3 Нейропротекторна активність

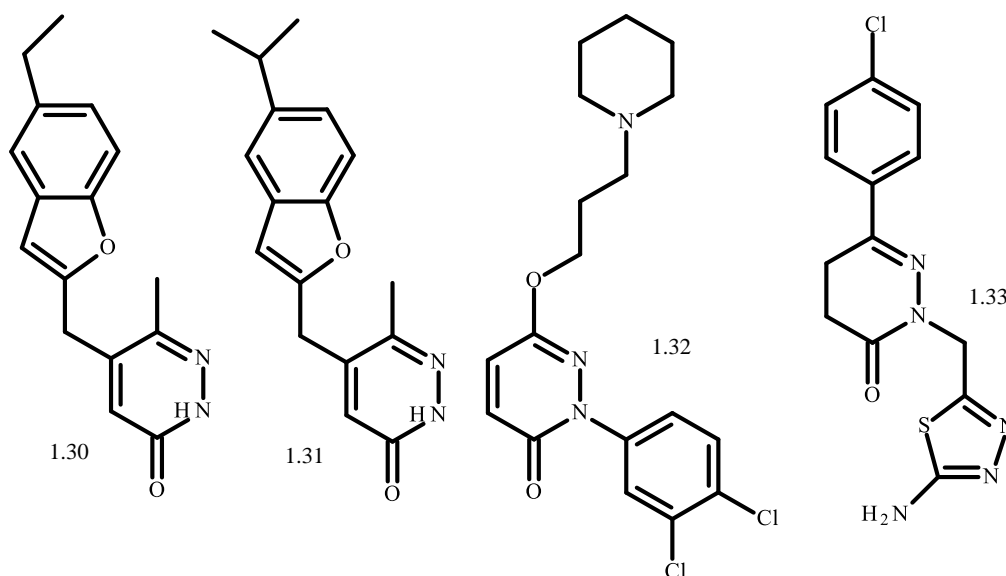
Ацетилхолінестераза - це фермент, який каталізує розщеплення ацетилхоліну, що функціонує як нейромедіатор. Хвороба Альцгеймера - це складне нейродегенеративне захворювання центральної нервової системи. За оцінками, майже 36 мільйонів людей у світі зараз страждають на хворобу Альцгеймера, і за таких темпів до 2030 року їхня кількість збільшиться приблизно до 66 мільйонів. Ацетилхолінестераза, серинова протеаза,

відповідає за гідроліз ацетилхоліну і відіграє фундаментальну роль у передачі імпульсів, припиняючи дію нейромедіатора ацетилхоліну на холінергічні синапси та нервово-м'язові з'єднання [37].

Дослідження, проведене Лін та ін., показало, що сполука **1.29**, яка містить піридазинон, виявляє значні нейрогенні ефекти [38] на нервові клітини-попередники людини.



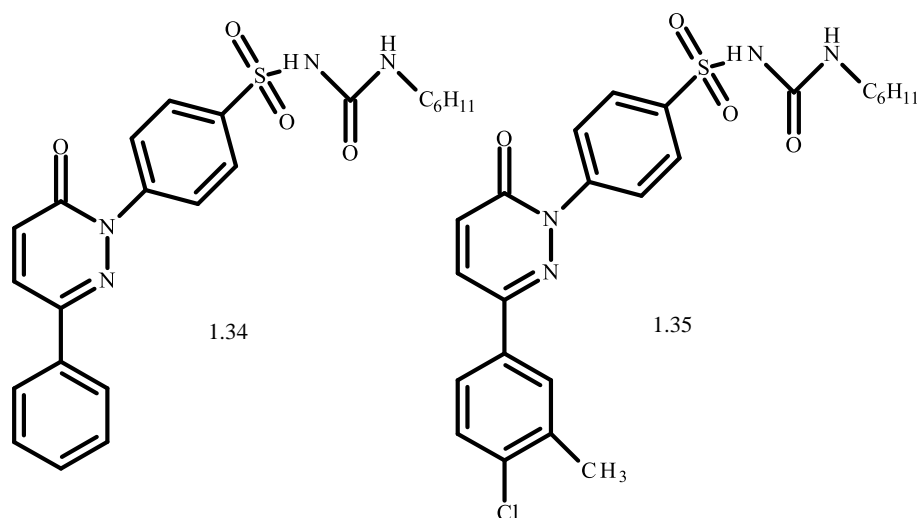
Бухарса та ін. синтезував сполуки на основі піридазинону та визначив їх антидепресивну активність. Найактивнішими виявилися сполуки **1.30** та **1.31** [39]. Цао та ін. синтезували сполуки на основі піридазинону та визначили їх нейропатичну больову активність. Було виявлено, що сполука **1.32** є новим кандидатом для лікування нейропатичного болю [40]. Серед різних похідних піридазинону, розроблених Шармою та ін., сполука **1.33**, порівняно зі стандартним препаратом фенітоїном, у дозі 50 мг/кг на моделі максимального електрошоку, показала тонізуючу дію на кінцівку і виявила перспективну протисудомну активність завдяки захисту від фази розтягування [41].



1.4 Антидіабетична активність

Глобальна поширеність діабету викликає серйозне занепокоєння, оскільки кількість хворих на діабет зростає з кожним роком [42]. Окрім багатьох пероральних препаратів, представлених на ринку, все ще існує нагальна потреба у призначенні відповідної терапії для подолання побічних ефектів наявних на сьогоднішній день. Сульфонілсечовини є найстарішими відомими препаратами, які все ще використовуються як потенційні пероральні антидіабетичні засоби. Сульфонілсечовини, такі як глібенкламід, глімепірид і гліклазид, індукують транскрипційну активність PPAR-γ більш конкурентно, ніж відомі агоністи PPAR-γ розиглітазон і піоглітазон [43-47].

Ратіш та ін. синтезували кілька похідних піридазину та оцінили їхню антидіабетичну активність. Сполуки **1.34** і **1.35** виявилися найпотужнішими антидіабетичними агентами, які гальмують підвищення рівня глюкози в крові більш ніж на 50% [48].

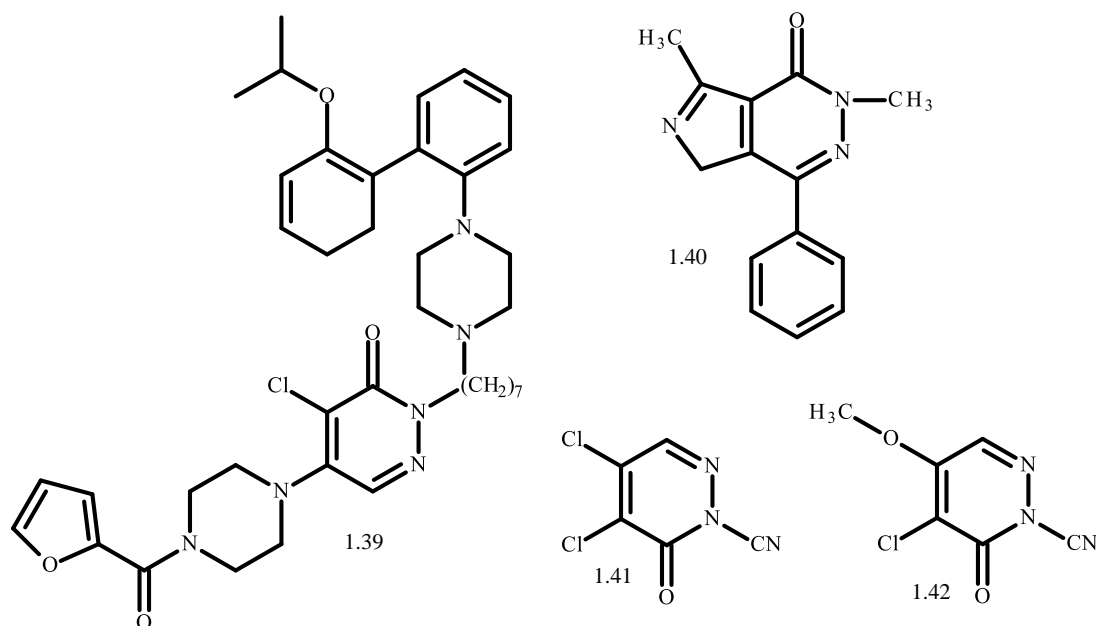


1.5 Різні активності

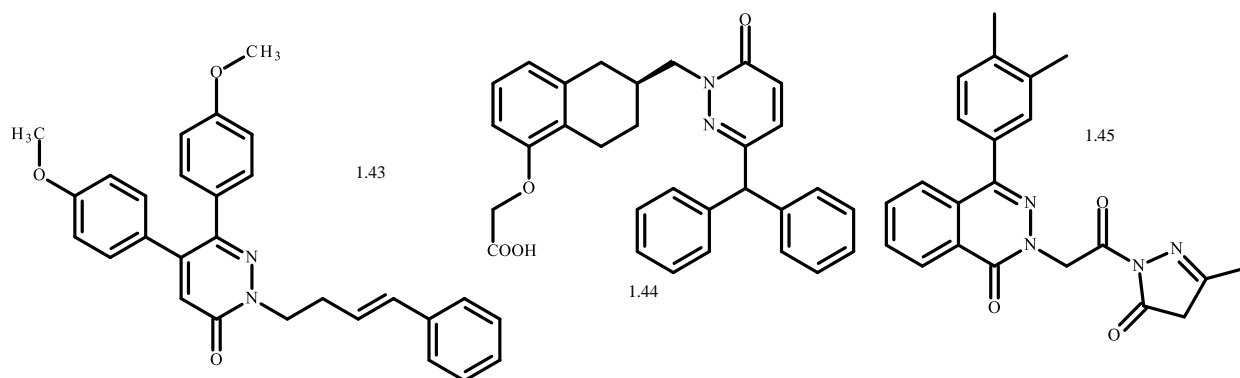
Крім того, багато вчених повідомляли про різні інші активності піридазинонів.

У серії аналогів піридазину, синтезованих Куродою та ін., сполуки **1.36-1.38** виявилися активними як антагоністи A1 [49]. Бетті та ін. розробили

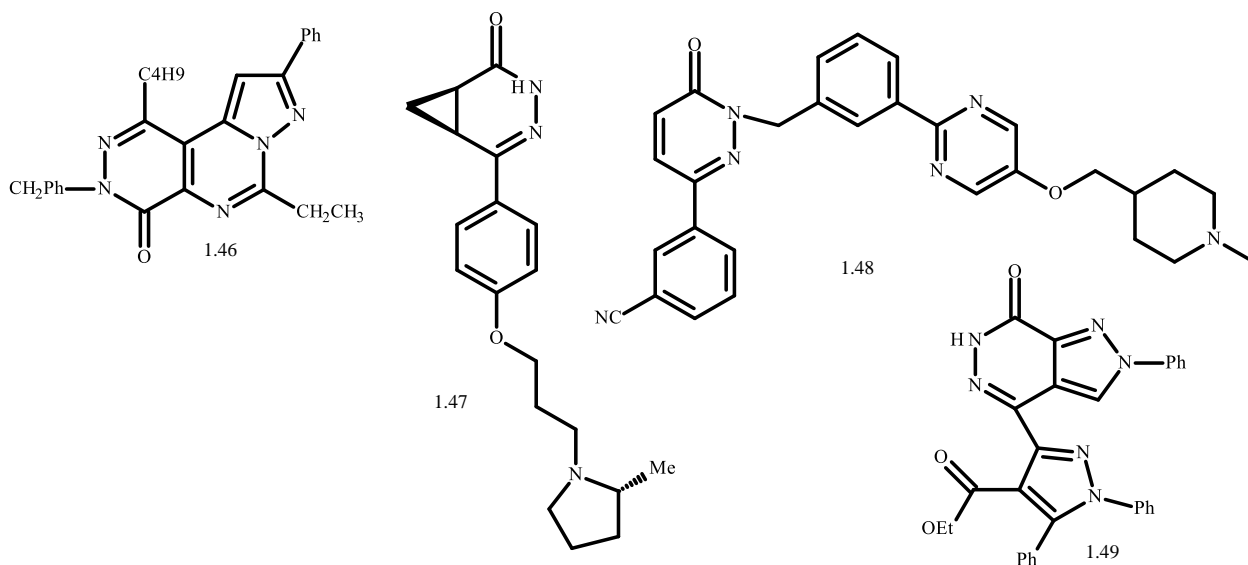
декілька похідних піридазину та перевірили їх на наявність антагоністів $\alpha 1$ -адренорецепторів. Сполука **1.39** виявила більш потужну активність, ніж празозин [50]. Похідні піридазину, розроблені П'яц та ін., були оцінені як інгібітори ФДЕ у *Leishmania mexicana*. Після оцінки було виявлено, що сполука **1.40** є найпотужнішою [51]. Кім та ін. розробили і синтезували ряд піридазинонових сполук та оцінили їхню ціанідну активність. Сполуки **1.41** і **1.42** виявилися найпотужнішими з цієї серії [52].



Мацуда та ін. розробили кілька похідних піридазину і перевірили їх на інгібіторний потенціал щодо інтерлейкіну-1 β , найпотужнішою виявилася сполука **1.43** [53]. Цубакі та ін. розробили похідні піридазину та перевірили їх на непростоїдну агоністичну активність щодо PGI₂. Найактивнішою виявилася сполука **1.44** [54]. У своєму огляді Вера та ін. згадали сполуку **1.45** - піридопіридазіноновий ізостер, який був синтезований В. Пакульською та мав анальгетичну активність [55].

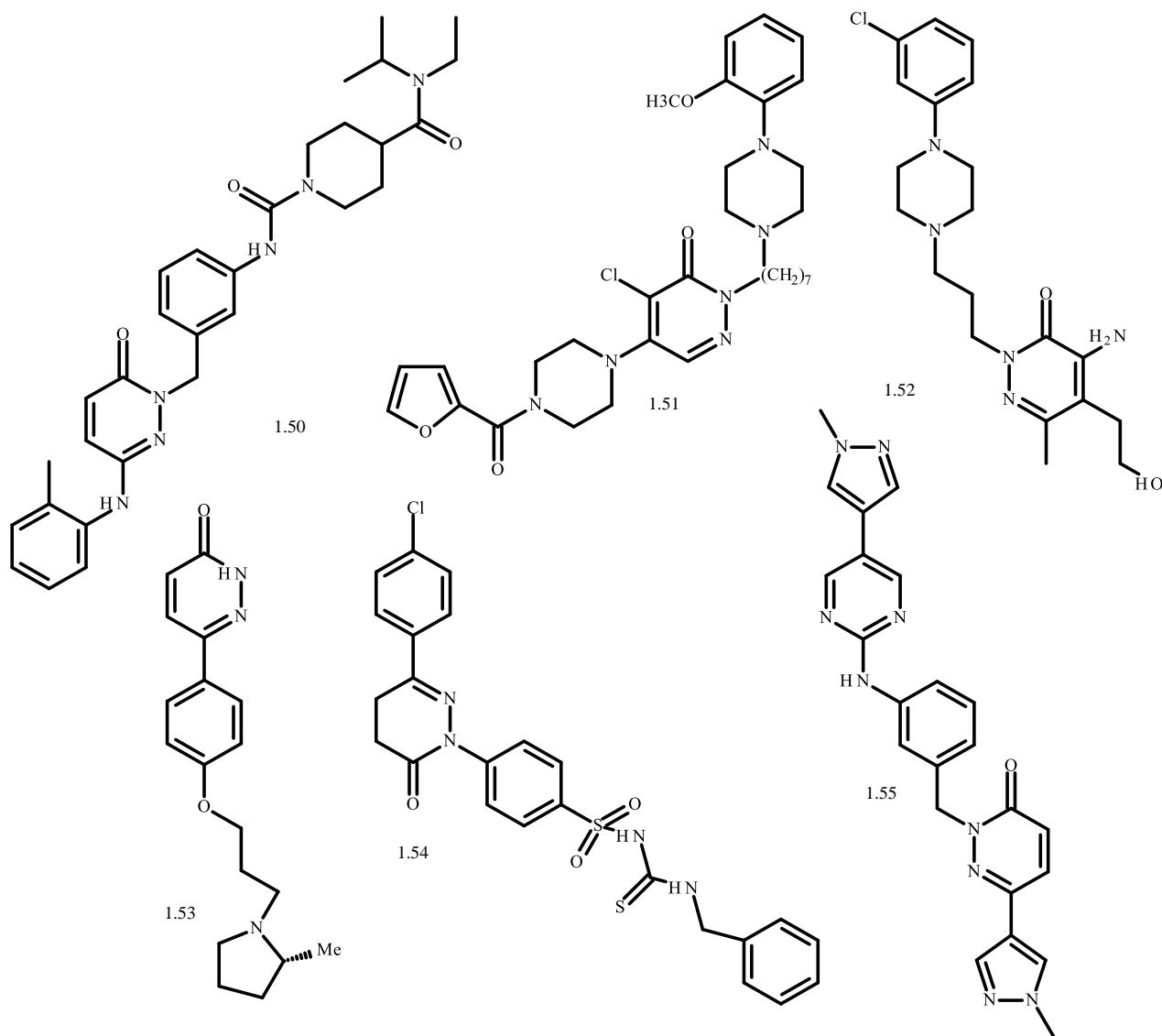


Гіованноні та ін. розробили нову серію піридазінонів як антагоністів рецепторів A1-аденозину людини, де сполука **1.46** виявилась найбільш активною[56]. Худкінс та інші протестували похідні 3,4-дигідропіридазінону як інверсні антагоністи рецепторів гістаміну-3 з потужною активністю пробудження, при цьому сполука **1.47** виявилась найефективнішою [57] Баладі та ін. згадують в оглядовій статті про EMD1214063 (сполука **1.48**), що має піридазинонове ядро, як про потужний та селективний інгібітор ц-MET [58]. Комплекси піразоло[3,4-d]піридазінону (сполука **1.49**), розроблені Гіованноні як потенційні інгібітори ФДЕ4, широко використовуються в лікуванні імунних захворювань [59].

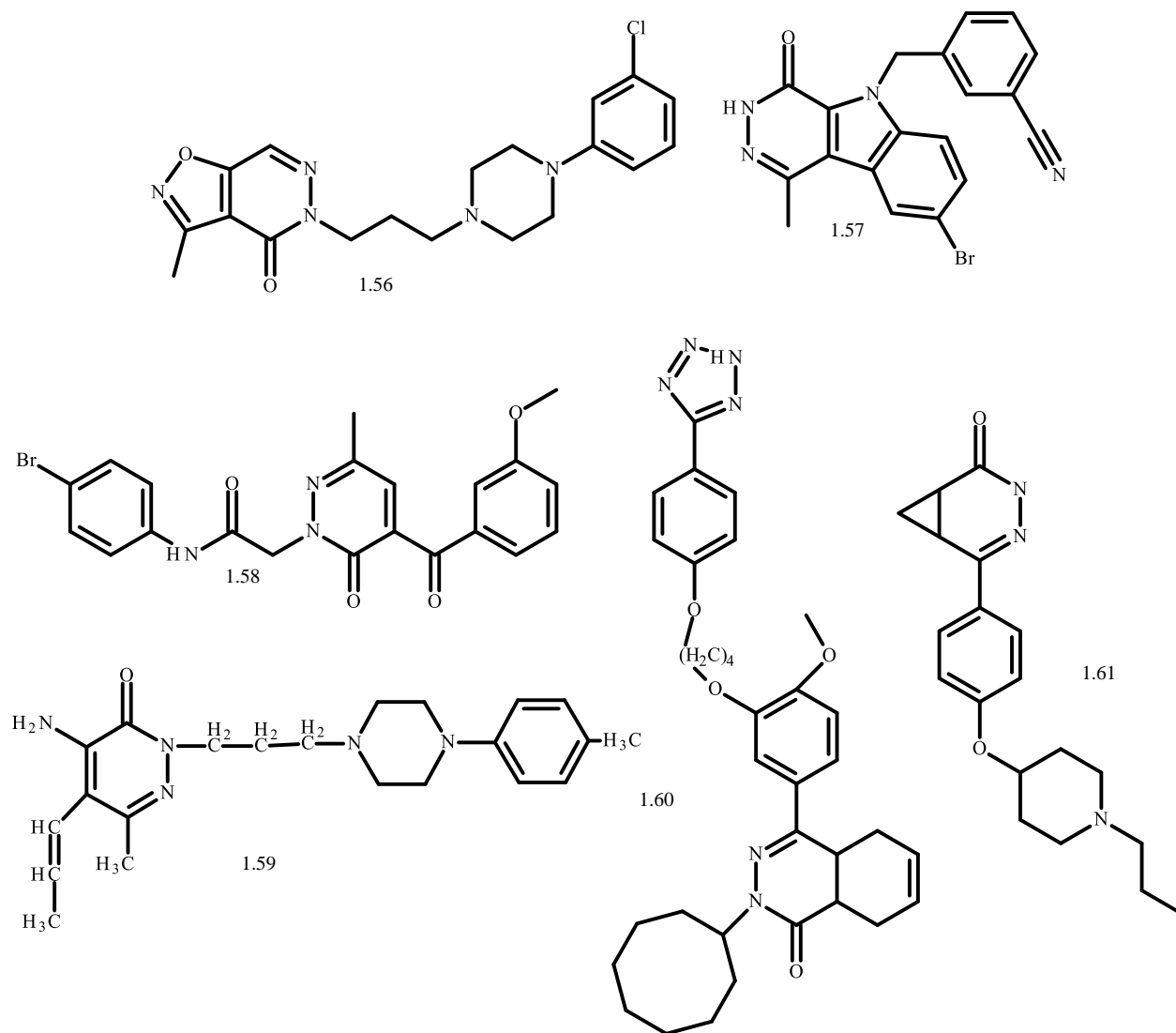


Кінг та ін. синтезували аналоги на основі піридазінону та оцінили їх активність як інгібіторів ацетилхолінестерази. Серед синтезованих сполук

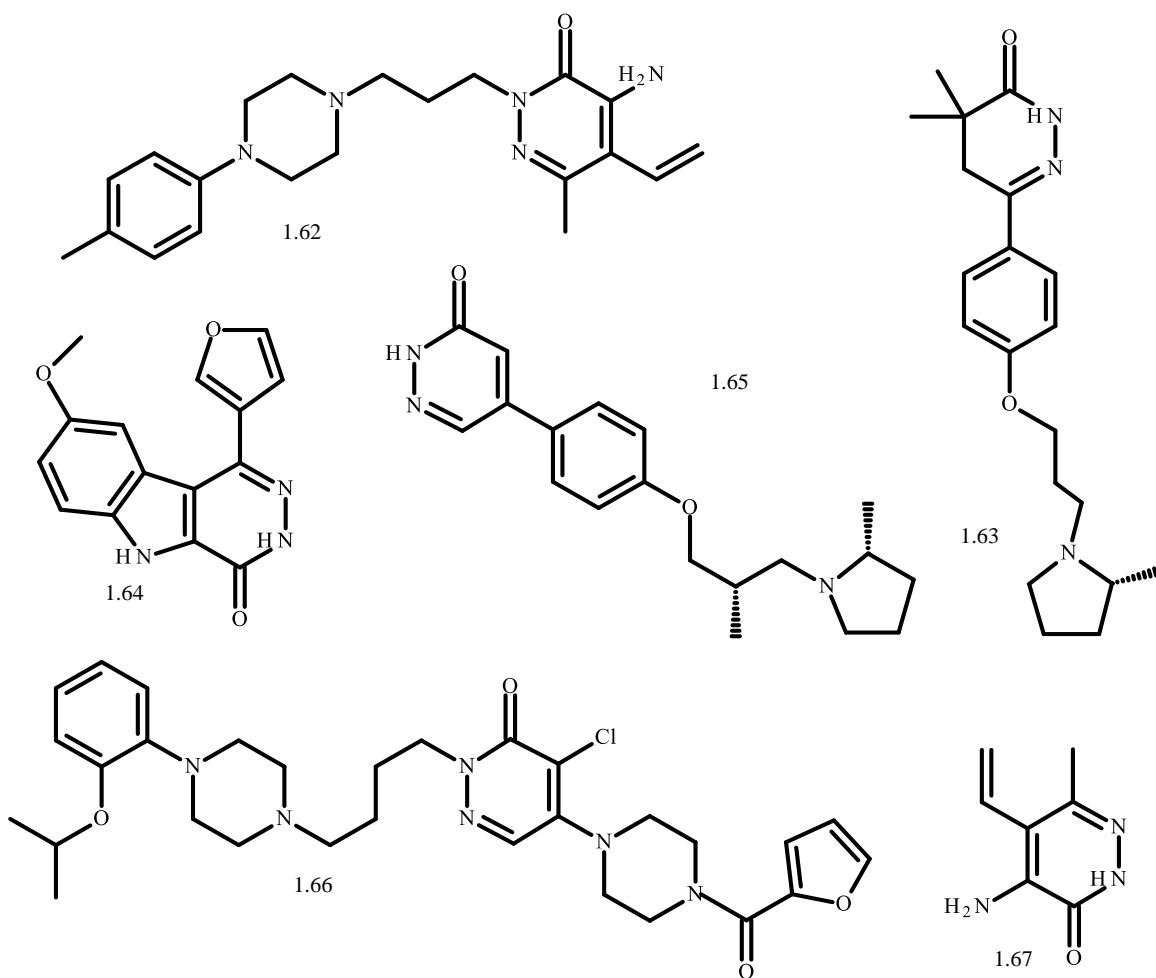
сполука **1.50** виявилася найбільш потужною [60]. Барбаро та ін. розробили нові похідні піридазин-3(2H)-ону та встановила, що сполука **1.51** демонструє перспективу з афінністю до $\alpha 1$ -адренорецепторів [61]. Джованні та ін. провели синтез кількох піридазинонів та їх похідних, і виявили, що сполука **1.52** є найбільш ефективною в антиноцицептивній активності [62]. Хадкінс та ін. синтезувала похідні піридазинону як інверсні агоністи гістамінових H₃-рецепторів, і сполука **1.53** демонструвала активність в індукції дипсогенії у щурів [63]. Башир та ін. провели синтез аналогів на основі піридазинону та встановила, що сполука **1.54** максимально знижує рівень глюкози в крові на 38,8% [64]. Лю та ін сконструювали ряд піридазинонів, серед яких сполука **1.55** є найбільш активною в інгібуванні c-Met тирозинкінази [65].



Чезарі та ін. розробили похідні піридазину з антиокіцептивною активністю, найпотужнішою з яких є сполука **1.56** [66]. Брюер та ін. синтезували нову серію 5-бензилованих 4-оксо-3,4-дигідро-5Н-піридазино[4,5-б]індолів, серед яких сполука **1.57** проявила міцну інгібіторну активність проти PI3K α [67]. Сполука **1.58** розроблена Джованні та ін. виявила хорошу агоністичну активність рецепторів формілпептидів (FPR) [68], а сполука **1.59**, розроблена Верджеллі та ін., є вражаючим антиокіцептивним засобом [69]. У серії похідних піридазину, синтезованих Веерман та ін., сполука **1.60** була найбільш активною щодо підтипів ФДЕ4 людини [70]. У іншому класі піридазину, розробленому Хадкінс та ін., сполука **1.61** була виявлена, як потужний функціональний антагоніст H3R *in vivo* [71].

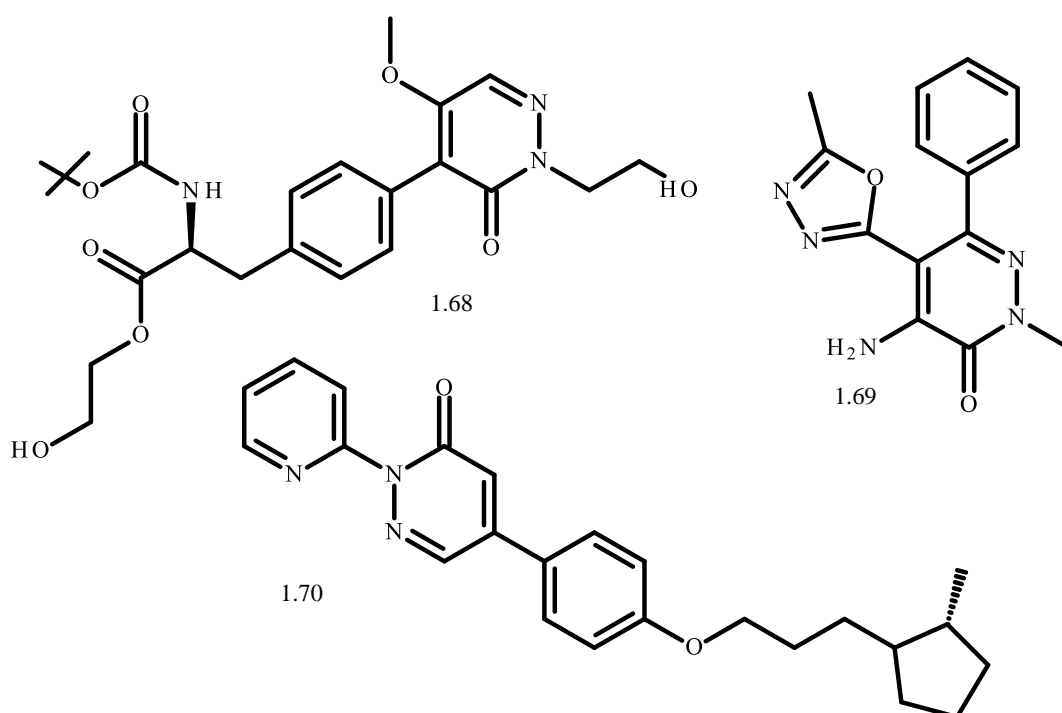


Біанкалані та ін. повідомили про речовину **1.62**, яка є найпотужнішим анальгетиком [72]. Хадкінс та ін. виявили, що речовина **1.63** є провідним кандидатом серед похідних піридазину, оскільки вона демонструє потужний *in vivo* антагонізм рецептора H3 у моделі дипсогенії щурів [73]. Брюель та ін. повідомили про речовину **1.64**, як перспективний інгібітор DYRK1 [74]. Бекнелл та ін., розробили декілька похідних піридазину як антагоністи рецептора H3, зокрема речовина **1.65** показала відмінну спорідненість до H3R, як у людини, так і в щура [75]. Речовина **1.66**, розроблена Бетті та ін., має значну спорідненість зв'язування до $\alpha 1$ -адренорецептора [76]. Серед сполук, синтезованих Вергеллі та ін., сполука **1.67** виявилася агоністом формілпептидних рецепторів [77].

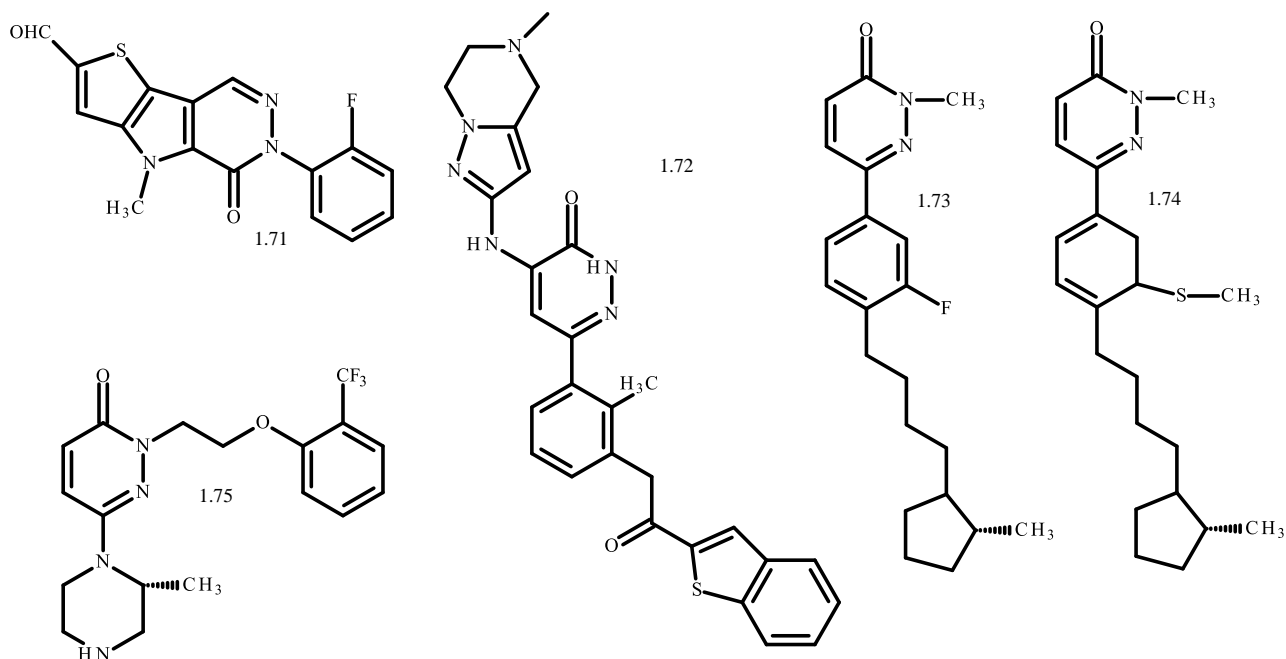


Дослідники Гонг та ін., створили ряд нових сполук, що містять піридазинон-фрагмент та N-ацильний фенілаланін, і дослідили їхні

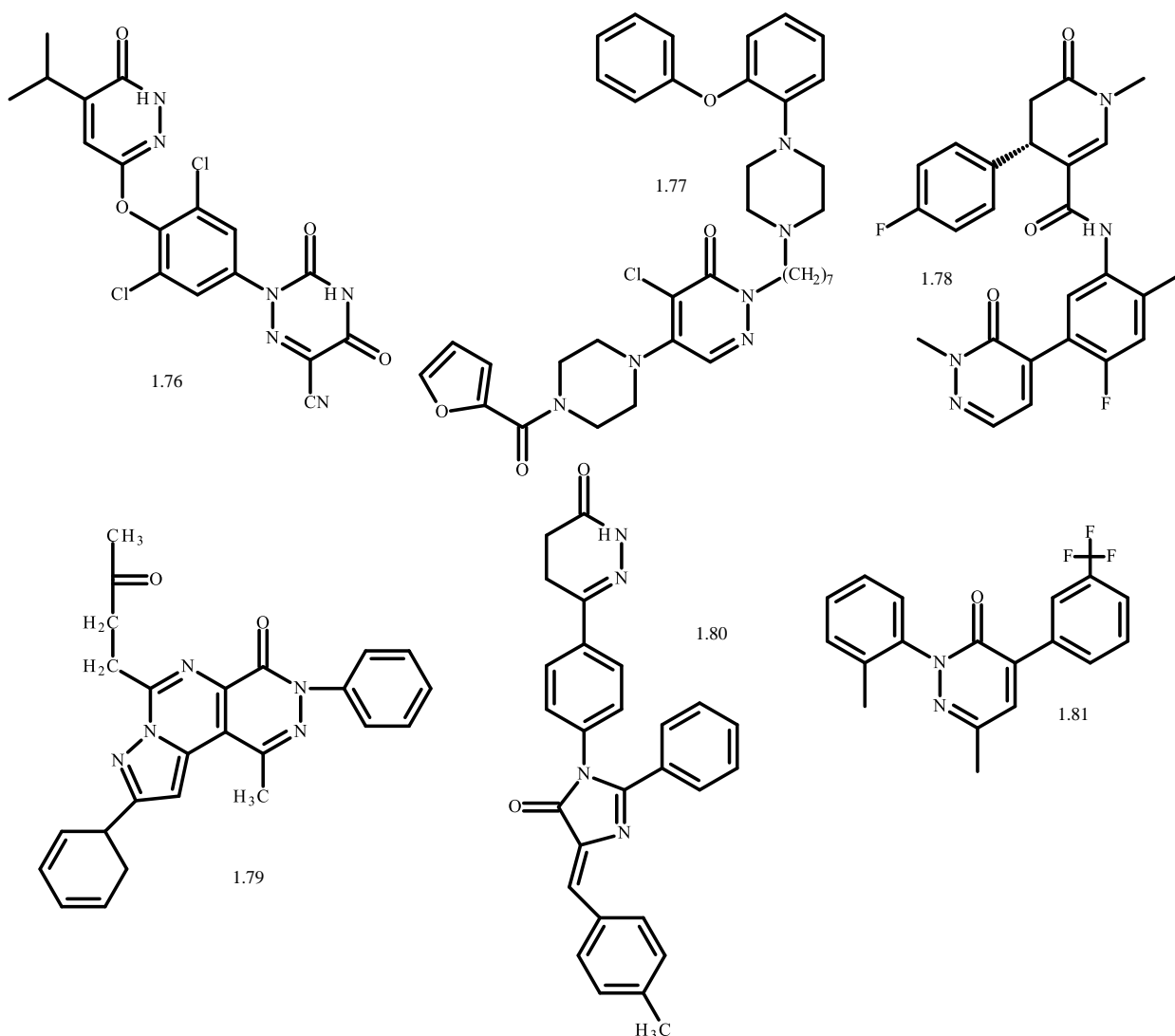
властивості, сполука **1.68**, показала ефективність в лікуванні DSS-коліту у мишей при пероральному введенні[78]. Giovannoni та інші синтезували та оцінили антиноцицептивну активність ряду 4-аміно-5-заміщених-3(2H)-дидазинонів. Після оцінки сполука **1.69** виявилася найпотужнішою [79]. Сполука **1.70**, розроблена Тао та ін, мала потужну H3R-антагоністичну активність [80].



Аналоги піридазину, синтезовані Jiang та ін., були протестовані на специфічну для пухлинних клітин M2 ізоформу піруваткінази. Сполука **1.71** виявилася найпотужнішою сполукою серії [81]. Серед нових похідних піридазину, розроблених Янг та ін., сполука **1.72** мала найвищу селективну активність, як інгібітор тирозинкінази Брутона[82]. Hudkins та ін. Повідомлялося, що сполуки **1.73** і **1.74** є селективними зворотними агоністами гістамінового H3-рецептора з потужною активністю збудження. [83]. Аналоги на основі піридазину, створені Allerton et al., були перевірені на активність як агоністи 5-HT_{2C}, при цьому сполука **1.75** була найбільш активною [84].



Келлі та ін. показали, що сполука **1.76** має помітну інгібуючу активність проти селективного агоніста β -рецептора тиреоїдних гормонів [85]. Бетті та ін. провели тестування ряду похідних піридазину на антагонізм $\alpha 1$ -адренорецептора, і сполука **1.77** виявилася більш афінітетною до цього рецептора, ніж празозин [86]. Лопес-Тапіа та ін. протестували нову серію аналогів піридазину на їх антагоністичну активність до P2X7-рецепторів, і виявили, що сполука **1.78** була більш ефективна [87]. Джіованноні та ін. розробили кілька аналогів піридазину та виявили, що сполука **1.79** є дуже потужною щодо фосфодіестерази-5 (ФДЕ5) [88]. Похідні піридазину, синтезовані Деміряком та ін., були проскриньковані на їх судинорозширювальну активність, і сполука **1.80** виявилася найбільш активною [89]. Серед похідних піридазону, розроблених Хан та ін., сполука **1.81** виявилася найпотужнішою гербіцидною активністю [90].



Висновки до розділу 1.1:

Отже, похідні піридазинону мають різноманітну фармакологічну активність, включаючи серцево-судинну, антиагрегантну, антидепресивну, антигіпертензивну, протисудомну, кардіотонічну, антибактеріальну, діуретичну, анти-ВІЛ та протиракову дії. Розробка фармакологічно активних препаратів на основі похідних піридазинону є актуальним напрямком досліджень, що може мати значний вплив на розвиток медицини та фармацевтики.

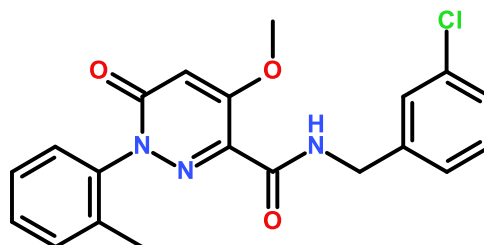
РОЗДІЛ 2

IN SILICO ДОСЛІДЖЕННЯ АФІННОСТІ ПОХІДНОЇ ПРИДАЗИН-4-ОНУ ДО МОНОАМІНООКСИДАЗИ

Нейродегенеративні захворювання (НЗ), такі як хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, хвороба Гантінгтона та бічний аміотрофічний склероз, є складними та багатofакторними розладами з неясним початком та безперервним прогресуванням, спричиненими генетичними, екологічними та ендегенними патогенними факторами [91]. Характерним симптомом НЗ є селективна дегенерація нейронів, що має різні молекулярні механізми та різні клінічні прояви. Однак деякі загальні шляхи, що призводять до загибелі нейронів, такі як неправильне згортання та агрегація білків, окислювальний стрес і утворення вільних радикалів, дисгomeостаз металів, мітохондріальна дисфункція та порушення фосфорилування, відбуваються при усіх цих розладах [92]. Незважаючи на постійний прогрес у розумінні біохімічних аспектів НД, сучасна терапевтична ефективність все ще обмежується паліативними та/або симптоматичними ефектами. Більше того, молекул, що взаємодіють з однією біологічною мішенню, виявляється недостатньо для повного запобігання, сповільнення, зупинки або зворотного розвитку НР. Тому останнім часом значну увагу привертають альтернативні підходи, такі як розробка лігандів, спрямованих на декілька бажаних мішеней, здатних впливати на різні ланки нейродегенеративного процесу з метою підвищення терапевтичної ефективності.

У контексті мультитаргетної дії, призначених для лікування НЗ, особливо бажаними видаються молекули, що мають як нейропротекторну, так і симптоматичну дію. Дофамінові рецептори D4 і моноаміноксидаза А/В використовуються як мішені для лікування нейродегенеративних розладів, однак останні дослідження показують, що вони забезпечують не тільки симптоматичне полегшення, але й можуть опосередковувати нейропротекторний ефект [93].

Об'єкт дослідження – похідна N-[(3-хлорофеніл)метил]-4-метокси-1-(2-метилфеніл)-6-оксо-піридазин-3-карбоксамід (I) – синтезовано під керівництвом доктора хімічних наук професора кафедри органічної хімії Харківського Національного університету імені В. Н. Каразіна Сергія Миколайовича Коваленка.



Для неї вже було визначено ефективність як антипаркінсонічного агента через модуляцію метаботропних рецепторів глутамату 4 підтипу та NMDA рецепторів глутамату. З метою означення інших можливих напрямків реалізації впливу на нейродегенеративний процес, зокрема як антипаркінсонічного агента, було досліджено афінність до антипаркінсонічних біотаргетів.

2.1 *In silico* дослідження інгібувальної активності похідної піридазин-4-ону до моноамінооксидази

Моноамінооксидаза (MAO) – мембранний флавіновмісний фермент, що здійснює катаболізм [моноамінів](#), зокрема дофаміну та серотоніну, за допомогою його [окисного дезамінування](#) [94]. Моноамінооксидаза має два підтипи – MAO-A та MAO-B, які відрізняються за специфічністю досубстрату та за амінокислотним складом білкових спіралей.

2.1.1 Визначення афінності до моноамінооксидази типу B

Моноамінооксидаза B (MAO-B) є ізоформою ферменту, що каталізує окислювальне дезамінування ендогенних і ксенобіотичних амінів і тим самим знижує рівень біогенних амінних нейромедіаторів у ЦНС [95]. Деякі

дослідження припускають, що підвищений рівень МАО-Б у мозку, який старіє, прискорює нейродегенеративні процеси, оскільки в результаті реакції, яку каталізує цей фермент, утворюються потенційно нейротоксичні речовини – допальдегід і перекис водню. Ці реакційноздатні сполуки можуть призвести до загибелі нейронів шляхом окислення нуклеїнових кислот або білків, спричиняючи окислювальне пошкодження з утворенням гідроксильних радикалів [96]. З огляду на вищезазначені причини, розробка нових високоселективних інгібіторів МАО-Б є важливим завданням, оскільки можуть потенційно проявляти модифікуючу активність при нейродегенерації. Селективні інгібітори МАО-Б, такі як селегілін та сафінамід (рис. 2.1), вже застосовуються в якості додаткової терапії при ХП з метою підвищення концентрації дофаміну в мозку [97].

З метою визначення можливого мультифакторного механізму дії сполука **I** було проведено її молекулярний докінг в активні сайти моноамінооксидази Б в порівнянні з нативними лігандами – селегіліном або сафінамідом (рис. 2.1). Це два відомих селективних інгібіторів моноамінооксидази Б, які підвищують концентрацію дофаміну в головному мозку і застосовуються як засоби для лікування хвороби Паркінсона.

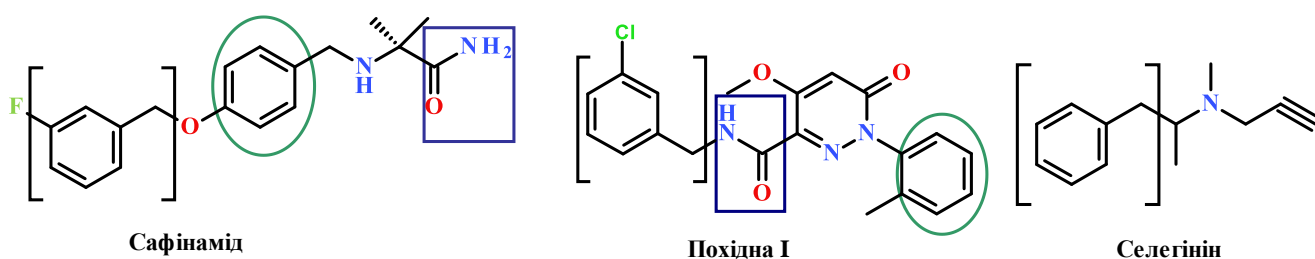


Рис. 2.1 Будова інгібіторів МАО-Б та похідної I

Кристалічна структура рекомбінантного білка людини МАО-Б в комплексі з сафінамідом і флавіном була встановлена в 2007 році (PDB ID 2v5z) [98]. МАО-Б людини є димер, у якому кожен мономер складається з глобулярного домену, прикріпленого до мембрани через С-кінцеву спіраль.

Згідно з літературними даними [95,98], активний сайт MAO - Б є дводольною порожниною: перша - вхідна порожнина, розташована під поверхнею білка і закрита позаклітинною петлею, друга - порожнина субстрату перед флавіном. Саме з розташуванням інгібіторів у двох частках пов'язують високу селективність дії інгібіторів MAO-Б, оскільки MAO-А немає цих порожнин [99]. Положення сафінамідів (рис. 2.2, жовта молекула) у кишені зв'язування наступне: фторзаміщене ароматичне кільце фіксується у вхідній порожнині кишені, а полярний метильований аміноформагідний фрагмент занурюється в гідрофобну порожнину і направлений до кофактора флавінаденідинуклеотиду. При цьому точно визначено, що інгібітор сафінамідів не утворює будь-якого ковалентного аддукту з кофактором флавіном.

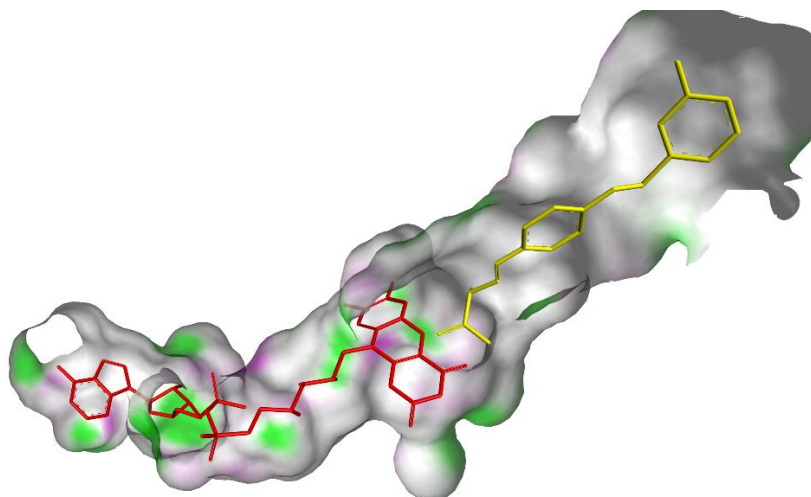
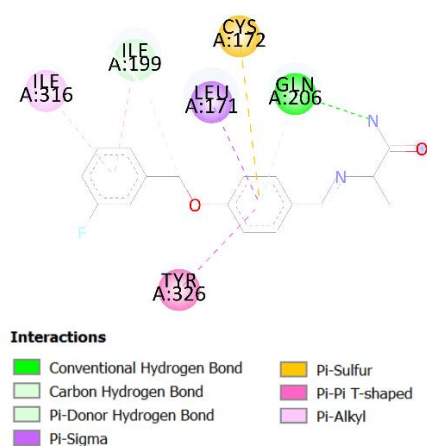
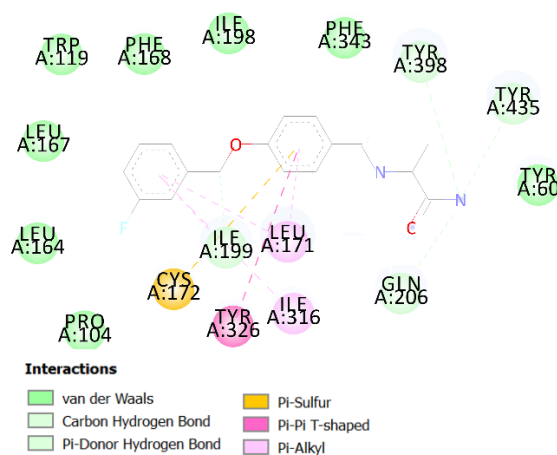


Рис. 2.2. Розташування сафінамідів (жовта молекула) в активному сайті MAO-Б з кофактором - флавінаденідинуклеотид (червона молекула)

Встановлено наступні взаємодії в активному сайті білка (рис. 2.3 а): гідрофобні 3-фторфенільного кільця сафінамідів з CH_3 групами двох залишків ізолейцину (Ile 316,199), оксофенільного фрагменту з метильною групою лейцину (Leu 171) та меркптогрупою цистеїну (Cys 172); кінцевий амідний фрагмент утворює водневий зв'язок з карбонільною групою глутаміну (Gln 206).



а



б

Рис. 2.3 2D візуалізація взаємодії нативного сафінамідру з амінокислотами активного сайту MAO-B: а) експериментально визначена [Binda]; б) референс-взаємодія.

Валідацію методики докінгу здійснювали процедурою ре-докінгу нативного референс препарату – сафінамідру в активний сайт MAO-B. Як видно на схематичному зображенні рис. 2.3 а та б, конформація сафінамідру при референс взаємодії фактично ідентична його нативному розташуванню і вступає у всі характерні взаємодії. Винятком є дві додаткові водневі зв'язки, які прогнозуються між кінцевою амідною групою та залишками тирозину Tyr 343, 435). Енергія зв'язування сафінамідру становила -9.5 ккал/моль.

Скорингова функція похідної I при докінгу в сайт зв'язування сафінамідру виявилася на рівні препарату порівняння -9.5 ккал/моль (табл. 2.1). Аналізуючи результати докінгу (рис. 2.4), слід зазначити, що похідна I значно глибше, ніж сафінамід, заходить у порожнину гідрофобної кишені.

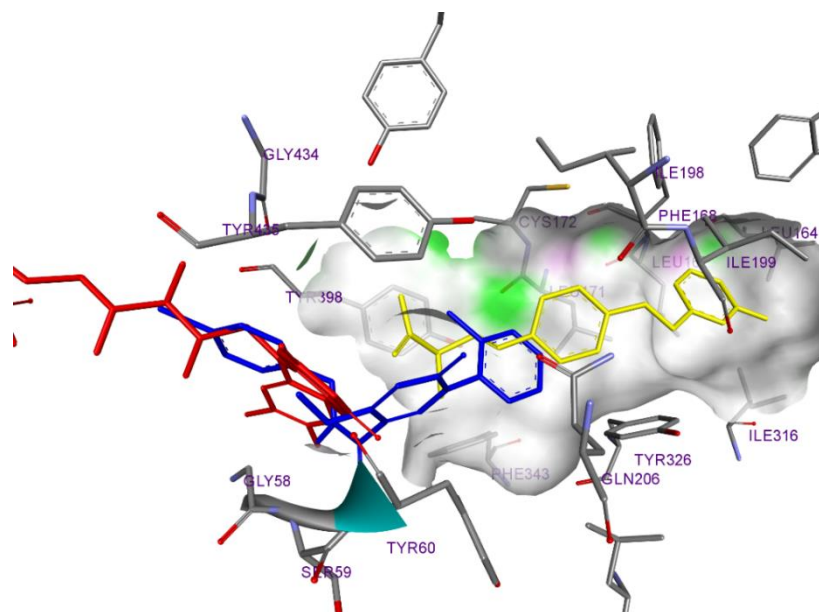


Рис. 2.4 3D візуалізація спільного розташування похідної **I** (синя молекула), сафінамід (жовта молекула), флавінаденіндинуклеотиду (червона молекула) в активному сайті MAO-Б.

Таблиця 2.1

Результати молекулярного докінгу похідної **I в активні сайти моноамінооксидази**

Біомішень	Скоринг ва функція ккал/моль	Гідрофобні взаємодії	Водневі зв'язки	Інші взаємодії	Нативний ліганд
MAO-Б	-9.5	Tyr398(2), Tyr60, Phe343, Gly57, GLY58, Arg42, Tyr435, Leu171*, Arg42	Ser59(2), Tyr60, Lys296(2)	Cys397* Pi-Sulfur	-9.5 (сафінамід)
MAO-A	-8.5	Tyr407*, Phe352*, Arg51(2), Tyr444*	Ala68 (2), Tyr69*(2) Tyr407*	Cys406	-8.7 (гармін)

* позначено амінокислоти експериментально визначених активних сайтів

⁰ у дужках вказано кількість зв'язків із залишком амінокислоти

Однак лише піридазиновий та 2-метилфенільний фрагмент розташовується на ділянці зв'язування, характерній і для сафінамід (порожнина перед флавіном). Вхідний простір, в якій фіксується нативний інгібітор гідрофобними зв'язками, залишається не задіяною (Ile316, 199, Tyr326), хоча очікувана була фіксація 2-хлорбензильного фрагмента похідної **I** на цьому місці у зв'язку зі структурною подібністю з 3-фторбензильним фрагментом. Крім того, прогнозується стекінг-взаємодія між ароматичним

кільцем похідної **I** та бензоптеридиновим фрагментом флавінаденіндинуклеотидом, тоді як нативний сафінамід не тільки не вступає у взаємодію з ФАД, але й не стикується з ділянкою його зв'язування.

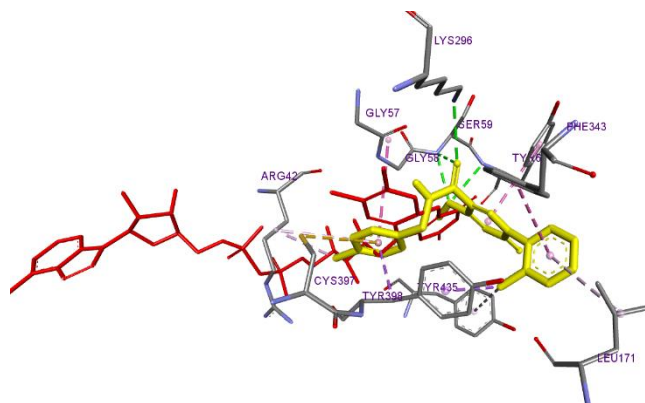


Рис. 2.5 3D взаємодія похідної **I** з амінокислотами активного сайту MAO-Б.

Конформація похідної **I** утворюється за рахунок наступних взаємодій (табл. 2.1, рис. 2.5): метильна група вступає в гідрофобну взаємодію з фенільними радикалами двох молекул тирозину (Тур 398, 435), фенільне кільце з метиленовою групою лейцину (Leu 171), піридазиновий цикл з 4-гідроксифенільний радикалом тирозину (Тур 60), три зв'язки прогнозується для 3-хлорфенільного фрагмента похідної **I** з CH_2 групами гліцину (Gly 57), аргініну (Arg 42) і тирозину (Тур 465), а також зв'язок з атомом сірки цистеїну (Cys 397). Гідрофільні зв'язки між карбонільною групою карбоксамідного фрагмента та аміною компонентом лізину (Lys 296) та серину (Ser 59), метоксигрупою піридазинового циклу похідної **I** з серином (Ser 59) та тирозином (Тур 60). Таким чином, лише лейцин (Leu 171) вступає у взаємодію з сафінамідом і з похідною **I**.

Відповідно до отриманих даних, незважаючи на високий показник афінності похідної **I** до активного сайту, інгібуюча здатність до моноамінооксидази-Б є малоймовірною.

2.1.2 Визначення афінності до моноамінооксидази типу А

Амінокислотна послідовність ензимів MAO-A та Б на 70% ідентичні, хоча кожен фермент має унікальну специфічність щодо субстратів та інгібіторів: MAO-A окислює серотонін, тоді як MAO-B - ні; MAO-A селективно інгібується клоргіліном, тоді як MAOB сильно інгібується депренілом. Крім того, при окислювальному дезамінуванні утворюється шкідливий перекис водню, який може додатково генерувати вільні радикали. Тому важливо оцінити здатність досліджуваного ліганда впливати і на ізоформу MAO-A.

Кристалічна структура ензиму MAO-A людини в комплексі зі специфічним інгібітором алкалоїдом гарміном була виділена в 2019 році (PDB ID 2Z5X) [100]. Структура білка представлена N-термінальним та ліганд-зв'язуючим доменом, а також повною спіраллю С-кінцевого домену (спіраль, яка пов'язує MAO-A з мембраною) (рис. 2.6 а).

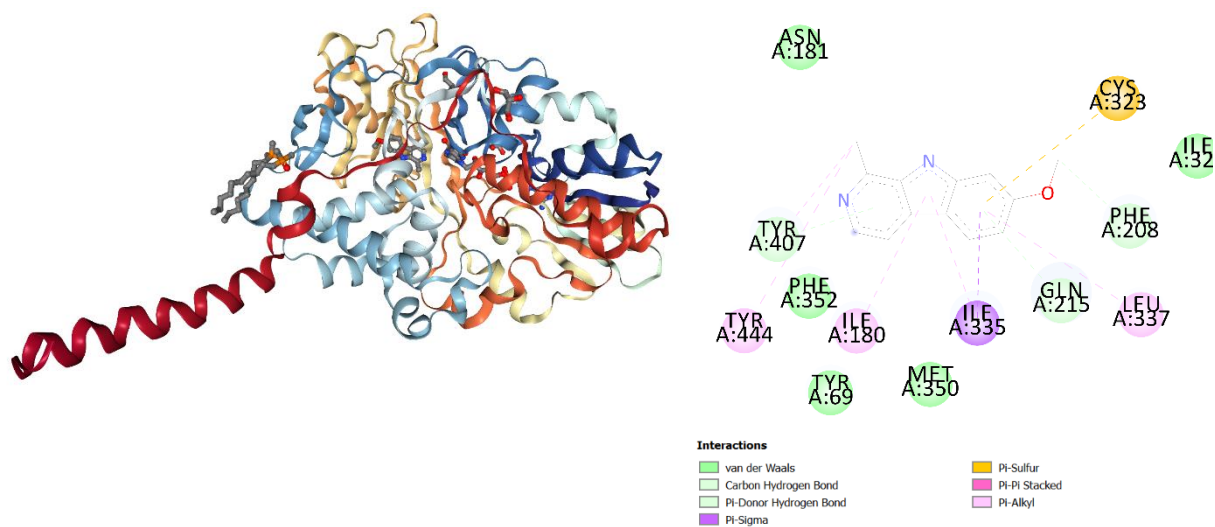


Рис. 2.6 а) Макроскопічне зображення ензиму MAO-A з гарміном у сайті зв'язування [129]; б) Референс-взаємодія гарміну з амінокислотами активного сайту MAO-A

Відповідно до експериментальних даних кишень зв'язування оборотного інгібітора гарміну являє собою порожнину, яку утворюють залишки трьох амінокислот тирозину (Tyr 69, 407, 444) і двох фенілаланіну (Phe 208, 352), аспарагину (Asn 101) глутаміну (Gln 215), цистенію (Cys 32),

ізолейцину (Ile 325), лейцину (Leu 337) . Гармін пов'язаний з ФАД, за допомогою водневих зв'язків із двома молекулами води. Вхід для інгібітора формують залишки амінокислот з трьох різних позаклітинних петель: валін (Val 93), глютамінова кислота (Glu 95), тирозин (Tyr 109), пролін (Pro 112), фенілаланін (Phe 208), аспарагін (Asp212).

Здатність алгоритму докінгу, що використовується, відтворювати експериментальні дані продемонстрована на рис. 2.6 б: при референс взаємодії означено всі гідрофобні та водневі взаємодії з 1-метил-7-метокси-піридо[3,4-*b*]індолом, за винятком одного зв'язку з амінокислотою валіном (Val 210). Енергія зв'язування гарміну з активним сайтом склала -8.7 ккал/моль.

Скорингова функція похідної I після докінгу у сайт зв'язування гарміну виявилася на рівні препарату порівняння -8.5 ккал/моль (табл.1). Аналізуючи результати докінгу (рис. 2.7), очевидно, що похідна I заходить у порожнину білка значно глибше, ніж гармін, фактично фіксуючись в активному сайті лише 2-метилфенільним фрагментом.

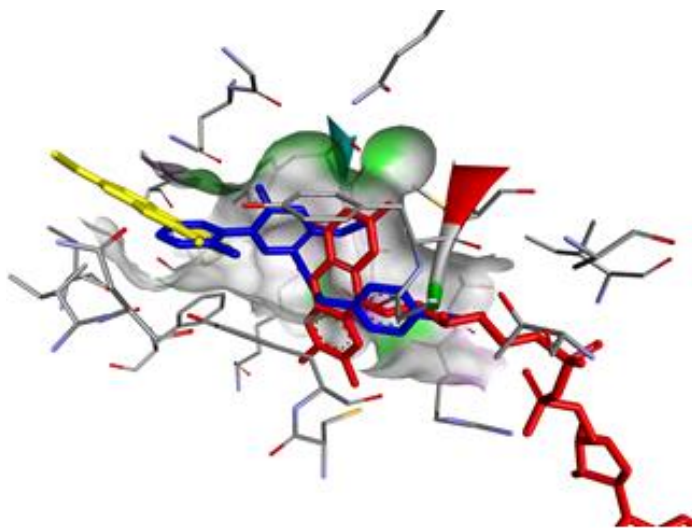


Рис. 2.7 3D візуалізація спільного розташування похідної I (синя молекула), гарміну (жовта молекула), ФАД (червона молекула) в активному сайті MAO-A

Основна частина молекули розташовується в просторі між гарміном і ФАД, а не в порожнині активного сайту. 3-Хлорбензилкарбоксамідний фрагмент накладається на бензоптеридиндіоновий фрагмент ФАД, а

метоксигрупа в 4 положенні піридазинового циклу похідної І вступає в конкурентну взаємодію з гетероциклічною карбонільною групою ФАД. Крім того, для похідної І прогнозується несприятливе конформаційне розташування з близьким просторовим розташуванням гетероциклічної карбонільної групи та карбонілом кінцевого амідного фрагмента глутаміну (Gln 215) (рис. 2.8).

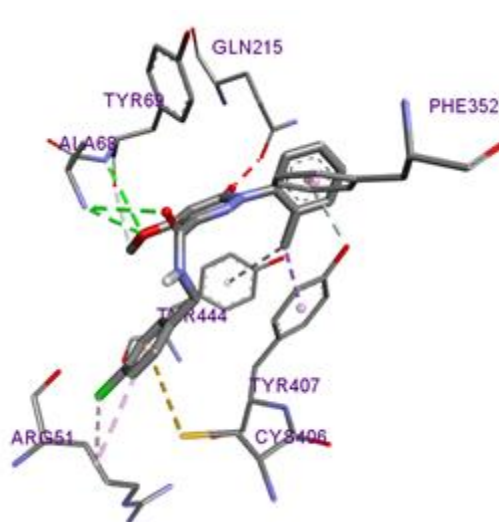


Рис. 2.8 3D взаємодія похідної І з амінокислотами активного сайту MAO-A

Конформацію похідної І в активному сайті MAO-A забезпечує гідрофобну взаємодію між метильною групою у другому положенні фенільного радикалу та 4-гідроксифенільними фрагментами двох молекул тирозину (Tyr 407,444), а також π - π взаємодія фенільних фрагментів похідної І та фенілаланіну (Phe352), взаємодія з лінійним $(CH_2)_3$ фрагментом аргініну (Arg 51) відбувається поза порожниною активного сайту. Стабілізація конформації центральної частини молекули похідної І відбувається за рахунок водневих зв'язків карбоксамідного фрагмента з аланіном (Ala 68) і метоксигрупи в 4-положенні з аланіном і тирозином (Ala 68, Tyr 69) (табл. 2.1).

Отже, не зважаючи на значення скорингової функції похідної І на рівні референс-ліганду, його інгібуюча активність щодо моноамінооксидази А є малоімовірною у зв'язку з фрагментарним розміщенням в активному сайті.

Висновки до розділу 2.1 :

1. В результаті проведеного дослідження методологій та параметрів молекулярного докінгу відносно нативних референс-лігандів було отримано високу афіність до сайту інгібітора МАО-Б для тестового зразка. Однак, аналіз показав, що похідна I глибоко заходить у порожнину гідрофобної кишені та прогнозується стекінг-взаємодія з кофактором флавінаденіндинуклеотидом. Це призводить до висновку, що інгібування МАО-Б за допомогою даної похідної є малоімовірним. Таким чином, отримані результати можуть бути корисні для подальшого розроблення та оптимізації інгібіторів МАО-Б.
2. Під час дослідження методологій та параметрів молекулярного докінгу у сайт інгібітора МАО-А було виявлено, що не зважаючи на значення скорингової функції, фрагментарне розміщення в активному сайті свідчить про неможливість існування такої конформації. Це може бути пов'язано з рядом чинників, таких як розмір інгібітора, його розташування та конформаційні особливості. Таким чином, отримані результати свідчать про неефективність використання даного інгібітора в якості інгібітора МАО-А. Враховуючи це, можна зробити висновок про необхідність подальшого пошуку та оптимізації інгібіторів МАО-А з більш ефективними конформаційними властивостями.

РОЗДІЛ 3

IN SILICO ДОСЛІДЖЕННЯ АФІННОСТІ ПОХІДНОЇ ПРИДАЗИН-4-ОНУ ДО ДОФАМІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ 4 ТИПУ

Дофамінові рецептори – клас трансмембранних метаботропних рецепторів, пов'язаних із G-білком, основним ендogenousним лігандом яких є дофамін. Дофамінові рецептори є метаботропними і поділяються на 5 підтипів (D 1-5), і є терапевтичною мішенню при лікуванні хвороби Паркінсона та шизофренії. Враховуючи, що рецептори D4 причетні до багатьох розладів, включаючи синдром дефіциту уваги, метастатичне прогресування та еректильну дисфункцію, D4-селективні препарати мають унікальну терапевтичну перспективність [101].

Для дослідження афінитету похідної I до рецептора D4 використовували кристалічну структуру трансмембранного домену в конформації з агоністом немонапридом (PDBID 5WIV) [102]. Референс-препарат містить низку подібних з похідної I фармакофорних фрагментів (рис. 3.1).

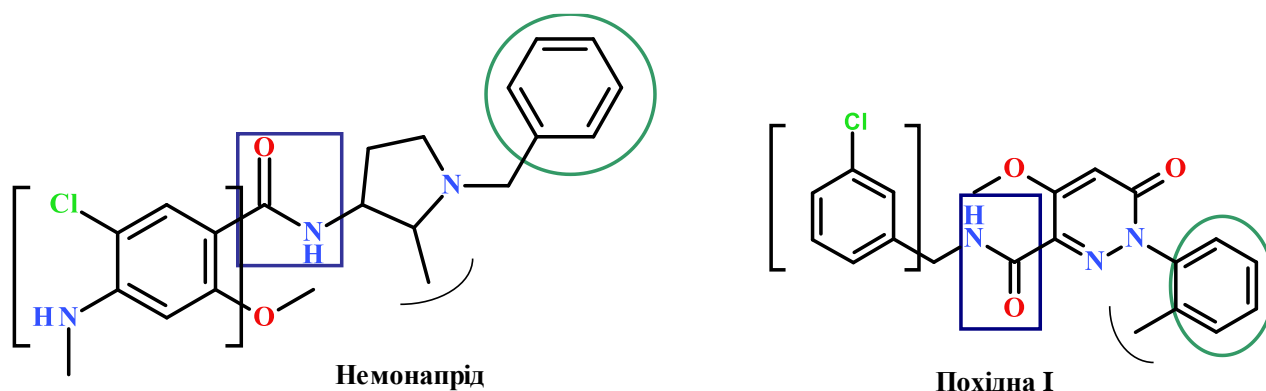
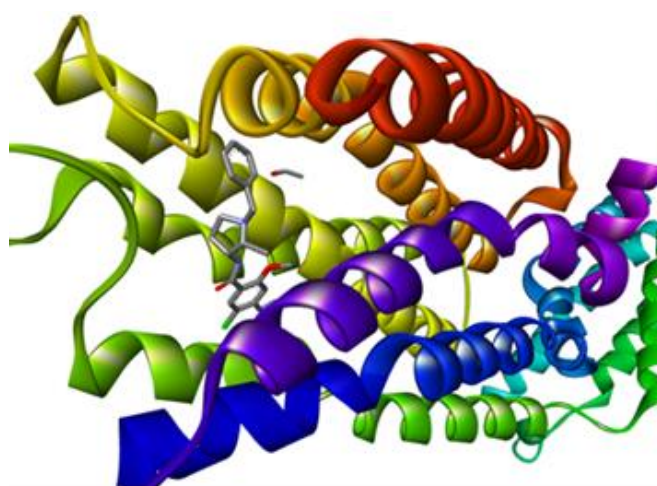


Рис. 3.1 Фармакофорні фрагменти референс-ліганду немонаприду та досліджуваної похідної 3.1

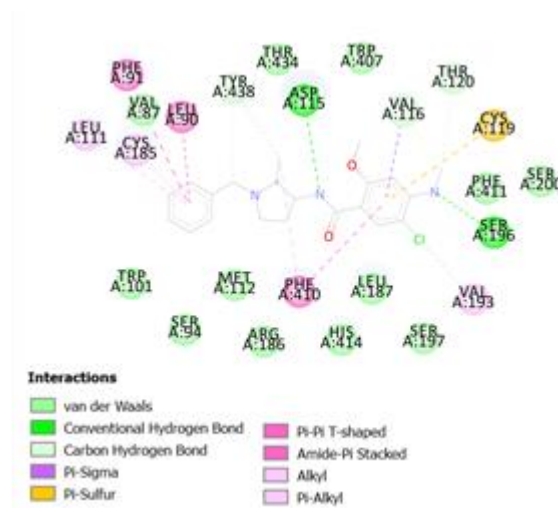
Білок має характерну семиспиральну структуру трансмембранного домену (I - VII). Крім того, містить три позаклітинні петлі (ECL 1-3), які

формують вхід у гідрофобну кишеню немонапріду, а також три кінцеві внутрішньоклітинні петлі одна з яких пов'язана з апоцитохромом (рис. 3.2 а).

Ортостерична кишеня зв'язування немонапріду сформована трансмембранними спіралями II , III , V , VI , VII та однією позаклітинною петлею - ECL 2. У формуванні стійкої конформації беруть участь такі пептидні залишки: водневі зв'язки утворюються між амідною групою та амінометильним замісником з 4 , аспарагіном (Asp 115, серином (Ser 196), лейцином (Leu 187- ECL 2), фенілаланіном (Phe 411), гістидином (His 414); гідрофобна взаємодія відбувається з фенілаланіном (Phe91, 410), лейцином (Leu 90, 111), цистеїном (Cys185), валіном (Val193,116), тирозин (Tyr438), серин (Ser200).



а



б

Рис. 3.2 а) Макроскопічне зображення рецептора D 4 з немонапрідом в активному сайті [102]; б) референс-взаємодія немонаприду з амінокислотами активного сайту рецептора D4

Здатність алгоритму докінгу відтворювати експериментальні дані продемонстрована на рис. 3.2б, де схематично візуалізована референс взаємодія нативного ліганду немонапріду з амінокислотами активного сайту. Енергія зв'язування з активним сайтом становила -10.3 ккал/моль. Єдиною

відмінністю з експериментальними даними є відсутність зв'язку з серином (Ser 200), хоча залишок візуалізується у найближчому оточенні.

Результатом докінгу досліджуваної похідної **I** в активний сайт D4-рецептора стало значення енергії зв'язування -10.1 ккал/моль, що свідчить про високу афінність досліджуваної субстанції (табл. 3.1).

При аналізі спільного розміщення двох лігандів (рис. 3.3 а), очевидно, що конформація похідної **I** фактично ідентична конформації нативного ліганду: кінцеві ароматичні фрагменти обох молекул накладаються один на одного - 2-метилфенільний радикал похідної **I** з бензильним немонапридом, і 3-хлорбензильний 3-хлор-4-метиламіно-5-метоксифенільним, відповідно.

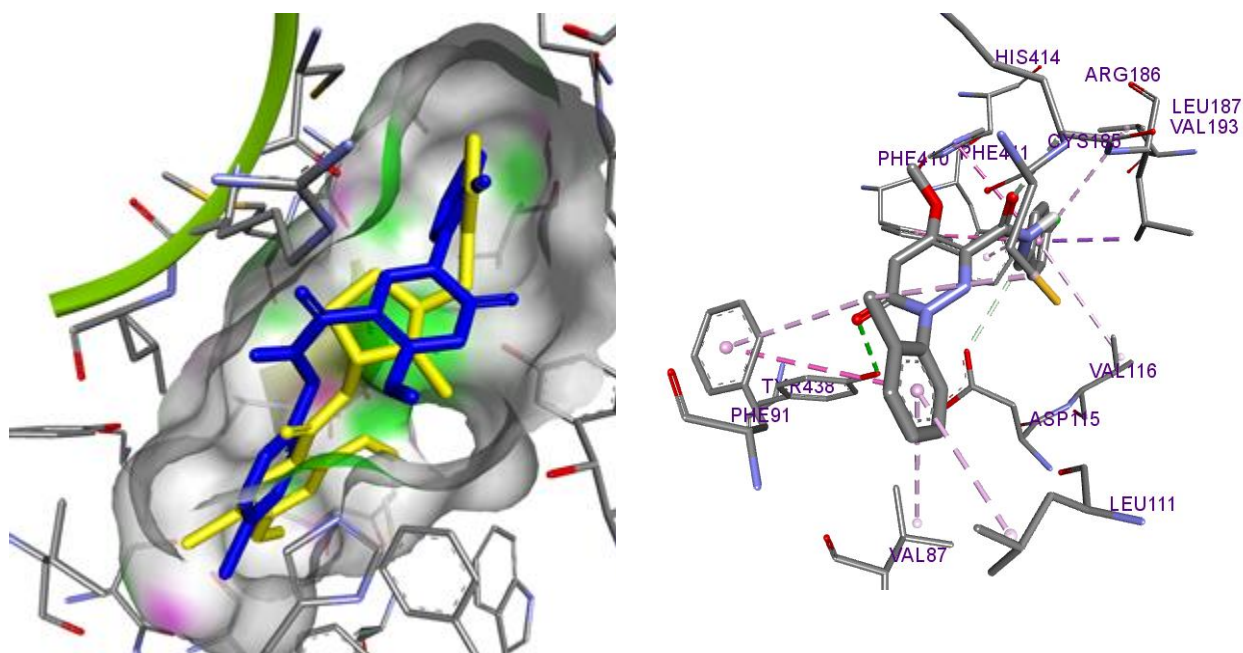


Рис. 3.3 3D візуалізація а) розташування похідної **I** (синя молекула) та немонапрсду (жовта молекула) в активному сайті D4; б) взаємодії похідної **I** з амінокислотними залишками в активному сайті D4

Низьке значення енергії зв'язування стає зрозумілим і при аналізі взаємодій фрагментів похідної **I** з пептидними залишками активного сайту (табл. 3.1): усі амінокислоти беруть участь і у формуванні конформації з нативним немонапридом. Гідрофобні взаємодії утворюються між: 2-метилфенільним фрагментом похідної **I** і ароматичним кільцем фенілаланіну

(Phe 91), метильною групою валіну (Val 87) і метиновою групою лейцину (Leu 111); метильна група похідної **I** утворює бідентантну взаємодію з фенільним кільцем фенілаланіну (Phe 91) та меркаптогрупою цистеїну (Cys 185); 3-хлорфенільний радикал утворює шість зв'язків з ароматичними фрагментами двох молекул фенілаланіну (Phe 410, 411), імідазольним циклом гістидину (His 414), метильними групами валіну (Val 116, 193) і лейцину (Leu 187). Водневі зв'язки утворюються між карбоксамідним фрагментом та аргініном (Arg 186), фенольним гідроксилом тирозину (Tyr 438) та аспарагіном (Asp 115).

Таблиця 2.1

Результати молекулярного докінгу похідної **I в активний сайт
дофамінових рецепторів 4 підтипу**

Біомішень	Скоринг ва функція ккал/моль	Гідрофобні взаємодії	Водневі зв'язки	Інші взаємодії	Нативний ліганд
D4	-10.1	Leu187*, Phe91* (2), Phe410*, His414*, Cys185*, Val193*, Phe91*, Phe411*, Val87*, Leu111*, Val116*	Tyr438*, Arg186, Asp115*		-10.3 (Немонап рид)

Згідно з отриманими даними, прогнозується високий афінітет похідної **I** до активного сайту дофамінових D4 - рецепторів.

Експериментальна частина

Дослідження афінності до біологічної мішені проводилося за допомогою гнучкого молекулярного докінгу. Як біологічні мішені були використані макромолекули (білки) з Protein Data Bank (PDB), які знаходяться у вільному доступі. Вибір біологічних мішеней обумовлений літературними даними про механізм дії антипаркінсонічних препаратів .

Моноамінооксидаза

MAO - A – PDB ID 2v5z

MAO-Б – PDB ID 2 Z 5 X

Дофамінові рецептори

D 4 – PDB ID 5WIV

Підготовка лігандів.

Структури речовин були отримані з використанням MarvinSketch 18.23 та збережені у форматі mol [103]. Після цього вони були оптимізовані програмою Chem3D з використанням молекулярно-механічного алгоритму MM2 та збережені у вигляді pdb-файлів. Використовуючи AutoDockTools-1.5.6, pdb-файли були перетворені на PDBQT [104].

Підготовка протеїнів

PDB файли були завантажені з даних банку білка Protein Data Bank (PDB). Discovery Studio V17.2.0.16349 використовувався для видалення молекул води та ліганду з кристала. Структури білків були збережені як файли pdb. У AutoDockTools-1.5.6 були додані полярні водні та збережені як PDBQT. Grid box було встановлено щодо нативних лігандів. AutoDock Vina використовувалася для докінгу [104]. Для візуалізації отриманих результатів стикування використовувався Discovery Studio V17.2.0.16349. Гідрофобні взаємодії позначені фіолетовими пунктирними лініями, водневі зеленими.

Висновки до розділу 3.1:

За результатами молекулярного докінгу, проведеного для похідної 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону, прогнозується висока ступінь афінітету до дофамінових рецепторів 4 типу: афінність досліджуваної похідної I становить -10.1 ккал/моль порівняно з афінністю нативного референс-ліганда -10.3 ккал/моль. Про стабільність конформації ліганда свідчить 13 гідрофобних та 3 водневі зв'язки, з довжиною до 3 Ангстрем. Висока афінність свідчить про те, що досліджувана похідна I має потенціал для ефективної взаємодії з цільовим білком, що є дофаміновим рецептором 4 типу.

ВИСНОВКИ

1. Проведено літературний аналіз щодо фармакологічних властивостей похідних піридазину та ролі моноамінооксидази та дофамінових рецепторів у розвитку нейродегенеративних розладів.
2. Визначено пріоритетні мішені для подальшого *in silico* дослідження перспективного антипаркінсонічного агента – 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону.
3. Валідовано методології докінгу в активні сайти до сайту інгібітора моноамінооксидази А та Б та дофамінового рецептору 4 типу щодо нативних референс-лігандів процедурою ре-докінгу.
4. За результатами молекулярного докінгу похідної 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону спрогнозовано високу ступінь афінітету до дофамінових рецепторів 4 типу: сайт позитивного алостеричного модулятора немонаприду - афінність зіставна енергія зв'язування -10.1 у досліджуваної похідної І щодо -10.3 ккал/моль у нативного референс-ліганда;
5. Низький афінітет спрогнозований до сайтів інгібіторів моноамінооксидази типу А та Б.
6. Передбачено можливість мультитаргетної фармакологічної дії похідної І через позитивну алостеричну модуляцію дофамінових рецепторів та визначену попередніми дослідженнями - позитивну алостеричну модуляцію метаботропних рецепторів глутамати 4 типу та інгібування постсинаптичних іонотропних NMDA-рецепторів глутамату.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Abouzid K.A.M., Khalil N.A., Ahmed E.M., El-Latif H.A.A., El-Araby M.E., Structure-based molecular design, synthesis and in vivo anti-inflammatory activity of pyridazinone derivatives as nonclassic COX-2 inhibitors, *Med. Chem. Res.* 2009 Vol. 19 P. 629-642.
2. Bansal R., Kumar D., Carron R., C. de la Calle, Synthesis and vasodilatory activity of some amide derivatives of 6-(4-carboxymethyloxyphenyl)-4, 5-dihydro-3(2H)- pyridazinone, *Eur. J. Med. Chem.* 2009 Vol. 44 P.4441-4447.
3. Thota S., Bansal R., Synthesis of new pyridazinone derivatives as platelet aggregation inhibitors, *Med. Chem. Res.* 2009 Vol. 19 P. 808-816.
4. Curran V.W., Ross A., 6-Phenyl-4,5-dihydro-3(2H)-pyridazinones. A series of hypotensive agents, *J. Med. Chem.* 1974 Vol. 17 P. 273-281.
5. Piaz D.V., Cianini G., Turco G, Giovannoni P., Mideli M, Pirisino R., Pereeti M.J., 5-Acyl-aryl-4-nitro-3(2H)pyridazinones and related 4-amino compounds: Synthesis and pharmacological evaluation, *J. Pharm. Sci.* 1991 Vol. 80 P. 341-348.
6. Coelho A., Sotelo E., Ravina E., Pyridazine derivatives. Part 33: Sonogashira approaches in the synthesis of 5-substituted-6-phenyl-3(2H)-pyridazinones, *Tetrahedron* 2003 Vol. 53 P. 2477-2484.
7. Demirayak S., Karaburun A.C., Beis R. Some pyrrole substituted aryl pyridazinone and phthalazinone derivatives and their antihypertensive activities. *Eur. J. Med. Chem.* 2004. Vol. 39. P. 1089-1095.
8. Rubat C., Coudert P., Refouvelet B., Tronche P., Bastide P., Anticonvulsant activity of 3-oxo-5-sibstituted benzylidene-6-methyl-(4H)-2-pyridazinylacetamides and 2- pyridazinylacetylhydrazides, *Chem. Pharm. Bull.* 1990 Vol. 38 P. 3009.

9. Sircar I., Weishaar R.E., Kobylarz D., Moos W.H., Bristol J.A., Cardiotonic agents-7. Inhibition of separated forms of cyclic nucleotide phosphodiesterase from guinea pig cardiac muscle by 4,5-dihydro-6-[4-(1H-imidazol-1-yl)phenyl]-3(2H)-pyridazinone and related compounds. Structure-activity relationships and correlation with in vivo positive inotropic activity, *J. Med. Chem.* 1987 P. 1955-1962.
10. Longo J.G., Verde I., Castro M.E., Pyridazine derivatives. XI: Anti hypertensive activity of 3-hydrazinocycloheptyl[1,2-c]pyridazine and its hydrazone derivatives, *J. Pharm. Sci.* 1993 P. 286-290
11. Akahane A., Katayama H., Mitsunaga, Discovery of 6-oxo-3-(2-phenylpyrazolo[1,5- a]pyridin-3-yl)-1(6H)-pyridazinebutanoic acid (FK 838): A novel non-xanthine adenosine A1 receptor antagonist with potent diuretic activity, *J. Med. Chem.* 2003 Vol. 42 P. 779-783.
12. Livermone D.G.H., Bethell R.C., Cammack, Synthesis and anti-HIV-1 activity of a series of imidazo[1,5-b]pyridazines, *J. Med. Chem.* 1993 Vol. 36 P. 3784-3794.
13. Malinka W., Redzicka A., Lozach O. New derivatives of pyrrolo[3,4-d]pyridazinone and their anti-cancer effects. *Farmaco* 2014 Vol.59 P.457-462.
14. Medzhitov R. Inflammation 2010: new adventures of an old flame. *Cell* 2010 Vol. 140 P. 771-776.
15. Grivennikov S.I., Greten F.R., Karin M. Immunity, inflammation and cancer. *Cell* 2010 Vol. 140 P. 883-899.
16. Mogilski S., Kubacka M., Redzicka A., Kazek G., Dudek M., Malinka W., Filipek B. Antinociceptive, anti-inflammatory and smooth muscle relaxant activities of the pyrrolo[3,4-d]pyridazinone derivatives: Possible mechanisms of action. *Pharmacol. Biochem. Behave. Cell* 2015 Vol. 133 P. 99-110.
17. Ochiai K., Takita S., Kojima A., Eiraku T., Iwase K., Kishi T., Ohinata A., Yageta Y., Yasue T., Adams D.R., Kohno Y. Phosphodiesterase inhibitors.

- Part 5: hybrid PDE3/4 inhibitors as dual bronchorelaxant/anti-inflammatory agents for inhaled administration. *Bioorg. Med. Chem. Lett. Cell* 2013 Vol. 23 P. 375-381.
18. Ochiai K., Takita S., Eiraku T., Kojima A., Iwase K., Kishi T., Fukuchi K., Yasue T., Adams D.R., Allcock R.W., Jiang Z., Kohno Y. Phosphodiesterase inhibitors. Part 3: Design, synthesis and structure-activity relationships of dual PDE3/4-inhibitory fused bicyclic heteroaromatic-dihydropyridazinones with anti-inflammatory and bronchodilatory activity. *Bioorg. Med. Chem.* 2012. Vol. 20. P. 1644-1658.
 19. Ozadali K., Ozkanli F., Jain S., Rao P.P., Velazquez-Martinez C.A. Synthesis and biological evaluation of isoxazolo[4,5-d]pyridazin-4-(5H)-one analogues as potent anti-inflammatory agents. *Bioorg. Med. Chem.* 2012. Vol. 20. P. 2912-2922.
 20. Biagini P., Biancalani C., Graziano A., Cesari N., Giovannoni M.P., Cilibrizzi A., Piaz D.V., Vergelli C., Crocetti L., Delcanale M., Armani E., Rizzi A., Puccini P., Gallo P.M., Spinabelli D., Caruso P. Functionalized pyrazoles and pyrazolo[3,4-d]pyridazinones: Synthesis and evaluation of their phosphodiesterase 4 inhibitory activity. *Bioorg. Med. Chem.* 2010. Vol. 18. P. 3506-3517.
 21. Gokce M., Utku S., Kupeli E. Synthesis and analgesic and anti-inflammatory activities of 6-substituted-3(2H)-pyridazinone-2-acetyl-2-(p-substituted/nonsubstituted benzal)hydrazone derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 2009. Vol. 44. P. 3760-3764.
 22. Abouzid K., Bekhit S.A. Novel anti-inflammatory agents based on pyridazinone scaffold; Design, synthesis and in vivo activity. *Bioorg. Med. Chem.* 2008. Vol. 16. P. 5547-5556.
 23. Li C.S., Brideau C., Chan C.C., Savoie C., Claveau D., Charleson S., Gordon R., Greig G., Gauthier J.Y., Lau C.K., Riendeau D., Thérien M., Wong E., Prasit P., Pyridazinones as selective Cyclooxygenase-2 inhibitors, *Bioorg. J. Med. Chem.* 2003. Vol. 13. P. 597-600.

24. Chintakunta V.K., Akella V., Vedula M.S., Mamnoor P.K., Mishra P., Casturi S.R., Vangoori A., Rajagopalan R. 3-O-Substituted benzyl pyridazinone derivatives as COX Inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* 2002. Vol. 37. P. 339-347.
25. Malinka W., Redzicka A., Jastrze M., Filipek B., Dyba M., Karczmarzyk Z., Lipkowska Z.U., Kalicki P. Derivatives of pyrrolo[3,4-d]pyridazinone, a new class of analgesic agents. *Eur. J. Med. Chem.* 2011. Vol. 46. P. 4992-4999.
26. Chintakunta V.K., Akella V., Vedula M.S., Mamnoor P.K., Mishra P., Casturi S.R., Vangoori A., Rajagopalan R. 3-O-Substituted benzyl pyridazinone derivatives as COX inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* 2002. Vol. 37. P. 339-347.
27. Tiryaki D., Sukuroglu M., Dogruer D.S., Akko E., Ozgen S., Sahin M.F. Synthesis of some new 2,6-disubstituted-3(2H)-pyridazinone derivatives and investigation of their analgesic, anti-inflammatory and anti-microbial activities. *Med. Chem. Res.* 2013. Vol. 22. P. 2553-2560.
28. Mey M.V., Bommele K.M., Boss H., Hatzelmann A., Slingerland M.V., Sterk G.J., Timmerman H. Synthesis and structure-activity relationships of cis-tetrahydrophthalazinone/pyridazinone hybrids: A novel series of potent dual PDE3/PDE4 inhibitory agents. *J. Med. Chem.* 2003. Vol. 46. P. 2008-2016.
29. Ochiai K., Ando N., Iwase K., Kishi T., Fukuchi K., Ohinata K., Zushi H., Yasue T., Adams D.R., Kohno Y. Phosphodiesterase inhibitors. Part 2: Design, synthesis, and structure-activity relationships of dual PDE3/4-inhibitory pyrazolo[1,5-a]pyridines with anti-inflammatory and bronchodilatory activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011. Vol. 21. P. 5451-5456.
30. Saeed M.M., Khalil N.A., Ahmed E.M., Eissa K.I. Synthesis and anti-inflammatory activity of novel pyridazine and pyridazinone derivatives as non-ulcerogenic agents. *Arch. Pharm. Res.* 2012. Vol.35. P. 2077-2092.

31. Abouzid K.A.M., Khalil N.A., Ahmed E.M., Esmat A., Al-Abd A.M. Design, synthesis, and evaluation of anti-inflammatory and ulcerogenicity of novel pyridazinone derivatives. *Med. Chem. Res.* 2012. Vol. 21. P. 3581-3590.
32. Sharma D., Bansal R. Synthesis of 2-substituted-4-aryl-6-phenylpyridazin-3(2H)-ones as potential anti-inflammatory and analgesic agents with cardioprotective and ulcerogenic sparing effects. *Med Chem Res.* DOI 10.1007/s00044-016-1588-9.
33. Asano T., Yamazaki H., Kasahara C., Kubota H., Kontani T., Harayama Y., Ohno K., Mizuhara H., Yokomoto M., Misumi K., Kinoshita T., Ohta M., Takeuchi M. Identification, synthesis and biological evaluation of 6-[(6R) 2-(4-Fluorophenyl)-6-(hydroxymethyl)-4,5,6,7-tetrahydropyrazolo[1,5-a]pyrimidin-3-yl]-2-(2-methylphenyl)pyridazin-3(2H)-one (AS1940477), a Potent p38 MAP Kinase Inhibitor. *J. Med. Chem.* 2012. Vol. 55. P. 7772-7785.
34. Tan O.U., Ozden K., Rauk A., Balkan A. Synthesis and cyclooxygenase inhibitory activities of some N-acylhydrazone derivatives of isoxazolo[4,5-d]pyridazin-4(5H)-ones. *Eur. J. Med. Chem.* 2010. Vol. 45. P. 2345-2352.
35. Tan O.U., Ozadali K., Yes, Iiyurt O., Kayir H., Uzbay T., Balkan A. Synthesis and evaluation of the analgesic activity of some new isoxazolo[4,5-d]pyridazin-4(5H)-one derivatives. *Turk. J. Chem.* 2011. Vol. 35. P. 121-130.
36. Sukoroglu M., Ergun B.K., Unlu S., Sahin M.F., Kupeli E., Yesilada E., Banoglu E. Synthesis, analgesic and anti-inflammatory activities of [6-(3,5-dimethyl-4-chloropyrazole-1-yl)-3(2H)-pyridazinon-2-yl]acetamides. *Arch. Pharm. Res.* 2005. Vol. 28. P. 509-517.
37. Zimmerman G., Soreq H. Termination and beyond: Acetylcholinesterase as a modulator of synaptic transmission. *Cell Tissue Res.* 2006. Vol. 326. P. 655-669.
38. Lin H., Fang H., Wang J., Meng Q., Dai X., Wu S., Luo J., Pu D., Chen L., Minick D., Arai K., Mandeville E.T., Lo E., Holder J.C., Chuang T.T., Zhao J. Discovery of a novel 2,3,11,11a-tetrahydro-1H-pyrazino[1,2-

- b]isoquinoline-1,4(6H)-dione series promoting neurogenesis of human neural progenitor cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2015. Vol. 25. P. 3748-3753.
39. Boukharsa Y., Meddah B., Tiendrebeogo R.Y., Ibrahimi A., Taoufik J., Cherrah Y., Benomar A., Faouzi M.E.A., Ansar M. Synthesis and antidepressant activity of 5-(benzo[b]furan-2-ylmethyl)-6-methylpyridazin-3(2H)-one derivatives. *Med. Chem. Res.* 2016. Vol. 25. P. 494-500.
 40. Cao X., Chen Y., Zhang Y., Lan Y., Zhang J., Xu X., Qiu Y., Zhao S., Liu X., Liu B.F., Zhang G. Synthesis and biological evaluation of novel σ_1 receptor ligands for treating neuropathic Pain: 6-Hydroxypyridazinones. *J. Med. Chem.* 2016. Vol. 59. P. 2942-2961.
 41. Sharma B., Verma A., Sharma U.K., Prajapati S. Efficient synthesis, anticonvulsant and muscle relaxant activities of new 2-((5-amino-1,3,4-thiadiazol-2-yl)methyl)-6-phenyl-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-one derivatives. *Med. Chem. Res.* 2014. Vol. 23. P. 146-157.
 42. Wild S., Roglic G., Green A., Sicree R., King H. Global Prevalence of Diabetes. *Diabetes Care* 2004. Vol. 27. P. 1047-1053.
 43. Fukuen S., Iwaki M., Yasui A., Makishima M., Matsuda M., Shimomura I. Sulfonylurea agents exhibit peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonistic activity. *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280. P. 23653-23659.
 44. Scarsi M., Podvinec M., Roth A., Hug H., Kersten S., Albrecht H., Schwede T., Meyer U.A., Rucker C. Sulfonylureas and glinides exhibit peroxisome proliferator-activated receptor gamma activity: A combined virtual screening and biological assay approach. *Mol. Pharm.* 2007. Vol. 71. P. 398-406.
 45. Arrault A., Rocchi S., Picard F., Maurois P., Pirotte B., Vamecq J. A short series of anti-diabetic sulfonylureas exhibit multiple ligand PPAR gamma-binding patterns. *Biomed. Pharmacother.* 2009. Vol. 63. P. 56-62.
 46. Lee K.W., Ku Y.H., Kim M., Ahn B.Y., Chung S.S., Park K.S. Effects of sulfonylureas on Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma

- activity and on Glucose uptake by Thiazolidinediones. *Diabetes Metab. J.* 2011. Vol. 35. P. 340-347.
47. Inukai K., Watanabe M., Nakashima Y., Takata N., Isoyama A., Sawa T., Kurihara S., Awata T., Katayama S. Glimepiride enhances intrinsic peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activity in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. Vol. 328. P. 484-490.
 48. Rathish I.G., Javed K., Bano S., Ahmad S., Alam M.S., Pillai K.K. Synthesis and blood glucose lowering effect of novel pyridazinone substituted benzenesulfonylurea derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 2009. Vol. 44. P. 2673-2678.
 49. Kuroda S., Akahane A., Itani H., Nishimura S., Durkin K., Tenda Y., Sakane K. Novel adenosine A1 receptor antagonists. Synthesis and structure-activity relationships of a novel series of 3-(2-cyclohexenyl-3-oxo-2,3-dihydropyridazin-6-yl)-2-phenylpyrazolo[1,5- α]pyridines. *Bioorg. Med. Chem.* 2000. Vol. 8. P. 55-64.
 50. Betti L., Floridi M., Giannaccini G., Manetti F., Strappaghetti G., Tafic A., Bottac M. α 1-Adrenoceptor antagonists. 5. Pyridazinone-aryl piperazines. Probing the influence on affinity and selectivity of both ortho-alkoxy groups at the arylpiperazine moiety and cyclic substituents at the pyridazinone nucleus. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2003. Vol. 13. P. 171-173.
 51. Piaz V.D., Rascon A., Dubra M.E., Giovannoni M.P., Vergelli C., Castellana M.C. Isoxazolo[3,4-d]pyridazinones and analogues as *Leishmania mexicana* PDE inhibitors. *IL Farmaco.* 2002. Vol. 57. P. 89-96.
 52. Kim J.J., Kweon D.H., Cho S.D., Kim H.K., Jung E.Y., Lee S.G., Falck J.R., Yoon Y.J. 2-Cyanopyridazin-3(2H)-ones: Effective and chemoselective electrophilic cyanating agents. *Tetrahedron.* 2005. Vol. 61. P. 5889-5894.
 53. Matsuda T., Aoki T., Koshi T., Ohkuchi M., Shigyo H. Synthesis and bioactivities of novel 5,6-bis(4-methoxyphenyl)-2H-pyridazin-3-one derivatives: Inhibitors of Interleukin-1 Beta (IL-1 β) Production. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2001. Vol. 11. P. 2373-2375.

54. Tsubaki K., Taniguchi K., Tabuchi S., Okitsu O., Hattori K., Seki J., Sakane K., Tanaka H. A novel pyridazinone derivative as a nonprostanoid PGI₂ agonist. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2000. Vol. 10. P. 2787-2790.
55. Vila N., Besada P., Costas T., Costas-Lago M.C., Teran C. Phthalazin-1(2H)-one as a remarkable scaffold in drug discovery. *Eur. J. Med. Chem.* 2015. Vol. 97. P. 462-482.
56. Giovannoni M.P., Ciciani G., Cilibrizzi A., Crocetti L., Daniele S., Mannelli L.D.C., Ghelardini C., Giacomelli C., Guerrini G., Martini C., Trincavelli M.L., Vergelli C. Further studies on pyrazolo[1',5':1,6]pyrimido[4,5-d]pyridazin-4(3H)-ones as potent and selective human A₁ adenosine receptor antagonists. *Eur. J. Med. Chem.* 2015. Vol. 89. P. 32-41.
57. Hudkins R.L., Becknell N.C., Lyons J.A., Aimone L.D., Olsen M., Haltiwanger R.C., Mathiasen J.R., Raddatz R., Gruner J.A. 3,4-Diazabicyclo[4.1.0]hept-4-en-2-one phenoxypropylamine analogs of irdabisant (CEP-26401) as potent histamine-3 receptor inverse agonists with robust wake-promoting activity. *Eur. J. Med. Chem.* 2015. Vol. 95. P. 349-356.
58. Baladi T., Abet V., Piguel S. State-of-the-art of small molecule inhibitors of the TAM family: The point of view of the chemist. *Eur. J. Med. Chem.* 2015. Vol. 105. P. 220-237.
59. Li M., Zhao B.X. Progress of the synthesis of condensed pyrazole derivatives (from 2010 to mid-2013). *Eur. J. Med. Chem.* 2014. Vol. 85. P. 311-340.
60. Xing W., Fu Y., Shi Z., Lu D., Zhang H., Hu Y. Discovery of novel 2,6-disubstituted pyridazinone derivatives as acetylcholinesterase inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* 2013. Vol. 63. P. 95-103.
61. Barbaro R., Betti L., Botta M., Corelli F., Giannaccini G., Maccari L., Manetti F., Strappaghetti G., Corsano S. Synthesis, biological evaluation, and pharmacophore generation of new pyridazinone derivatives with affinity toward α ₁- and α ₂-adrenoceptors. *J. Med. Chem.* 2001. Vol. 44. P. 2118-2132.

62. Giovannoni M.P., Vergelli C., Ghelardini C., Galeotti N., Bartolini A., Piaz V.D. [(3-Chlorophenyl)piperazinylpropyl]pyridazinones and analogues as potent antinociceptive agents. *J. Med. Chem.* 2003. Vol. 46. P. 1055-1059.
63. Hudkins R.L., Raddatz R., Tao M., Mathiasen J.R., Aimone L.D., Becknell N.C., Prouty C.P., Knutsen L.J.S., Yazdanian M., Moachon G., Ator M.A., Mallamo J.P., Marino M.J., Bacon E.R., Williams M. Discovery and characterization of 6-{4-[3-(R)-2-Methylpyrrolidin-1-yl]propoxy}phenyl}-2H-pyridazin-3-one (CEP-26401, Irdabisant): A potent, selective histamine H₃ receptor inverse agonist. *J. Med. Chem.* 2011. Vol. 54. P. 4781-4792.
64. Bashir R., Yaseen S., Ovais S., Hamid H., Alam M.S., Samim M., Javed K. Synthesis and blood glucose lowering activity of some novel benzenesulfonylthiourea derivatives substituted with 6-aryl-4,5-dihydropyridazin-3(2H)-ones. *Med. Chem. Res.* 2012. Vol. 21. P. 428-436.
65. Liu Y., Jin S., Peng X., Lu D., Zeng L., Sun Y., Ai J., Geng M., Hu Y. Pyridazinone derivatives displaying highly potent and selective inhibitory activities against c-Met tyrosine kinase. *Eur. J. Med. Chem.* 2016. Vol. 108. P. 322-333.
66. Cesari N., Biancalani C., Vergelli C., Piaz V.D., Graziano A., Biagini P., Ghelardini C., Galeotti N., Giovannoni M.P. Arylpiperazinylalkylpyridazinones and analogues as potent and orally active antinociceptive agents: Synthesis and studies on mechanism of action. *J. Med. Chem.* 2006. Vol. 49. P. 7826-7835.
67. Bruel A., Logae C., Tauzia M.L., Ravache M., Guevel R.L., Guillouzo C., Lohier J.F., Santos J.S.O., Lozach O., Meijer L., Ruchaud S., Benedetti H., Robert J.M. Synthesis and biological evaluation of new 5-benzylated 4-oxo-3,4-dihydro-5H-pyridazino[4,5-b]indoles as PI3K α inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* 2012. Vol. 57. P. 225-233.
68. Giovannoni M.P., Schepetkin I.A., Cilibrizzi A., Crocetti L., Khlebnikov A.I., Dahlgren C., Graziano A., Piaz V.D., Kirpotina L.N., Zerbinati S., Vergelli C., Quinn M.T. Further studies on 2-arylacetamide pyridazin-3(2H)-

- ones: Design, synthesis and evaluation of 4,6-disubstituted analogs as formyl peptide receptors (FPRs) agonists. *Eur. J. Med. Chem.* 2013. Vol. 64. P. 512-528.
69. Vergelli C., Ciciani G., Cilibrizzi A., Crocetti L., Mannelli L.D.C., Ghelardini C., Guerrini G., Iacovone A., Giovannoni M.P. Synthesis of five and six-membered heterocycles bearing an arylpiperazinylalkyl side chain as orally active antinociceptive agents. *Bioorg. Med. Chem.* 2015. Vol. 23. P. 6237-6245.
 70. Veerman J., Bergh T., Orrling K.M., Jansen C., Cos P., Maes L., Chatelain E., Ioset J.R., Edink E.E., Tenor H., Seebeck T., Esch I., Leurs R., Sterk G.J. Synthesis and evaluation of analogs of the phenylpyridazinone NPD-001 as potent trypanosomal TbrPDEB1 phosphodiesterase inhibitors and in vitro trypanocidals. *Bioorg. Med. Chem.* 2016. Vol. 24. P. 1573-1581.
 71. Hudkins R.L., Josef K.A., Becknell N.C., Aimone L.D., Lyons J.A., Mathiasen J.R., Gruner J.A., Raddatz R. Discovery of (1R,6S)-5-[4-(1-cyclobutylpiperidin-4-yloxy)-phenyl]-3,4-diaza-bicyclo[4.1.0]hept-4-en-2-one: Histamine H3 receptor inverse agonist demonstrating potent cognitive enhancing and wake promoting activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2014. Vol. 24. P. 1303-1306.
 72. Biancalani, C., Giovannoni, M.P., Pieretti, S., Cesari, N., Graziano, A., Vergelli, C., Cilibrizzi, A., Gianuario, A.D., Colucci, M., Mangano, G., Garrone, B., Polenzani, L., Piaz, V.D. Further studies on arylpiperazinyl alkyl pyridazinones: Discovery of an exceptionally potent, orally active, antinociceptive agent in thermally induced pain. *J. Med. Chem.* 2009. Vol. 52. P. 7397-7409.
 73. Hudkins, R.L., Aimone, L.D., Dandu, R.R., Dunn, D., Gruner, J.A., Huang, Z., Josef, K.A., Lyons, J.A., Mathiasen, J.R., Tao, M., Zulli, A.L., Raddatz, R. 4,5-Dihydropyridazin-3-one derivatives as histamine H3 receptor inverse agonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012. Vol. 22. P. 194-198.

74. Bruel, A., Beneteau, R., Chabanne, M., Lozach, O., Guevel, R.L., Ravache, M., Benedetti, H., Meijer, L., Loge, C., Robert, J.M. Synthesis of new pyridazino[4,5-b]indol-4-ones and pyridazin-3(2H)-one analogs as DYRK1A inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2014. Vol. 24. P. 5037-5040.
75. Becknell, N.C., Lyons, J.A., Aimone, L.D., Huang, Z., Gruner, J.A., Raddatz, R., Hudkins, R.L. Synthesis and evaluation of 4- and 5-pyridazin-3-one phenoxypropylamine analogues as histamine-3 receptor antagonists. *Bioorg. Med. Chem.* 2012. Vol. 20. P. 3880-3886.
76. Betti, L., Zanelli, M., Giannaccini, G., Manetti, F., Schenone, S., Strappaghetta, G. Synthesis of new piperazine–pyridazinone derivatives and their binding affinity toward α 1-, α 2-adrenergic and 5-HT_{1A} serotonergic receptors. *Bioorg. Med. Chem.* 2006. Vol. 14. P. 2828-2836.
77. Vergelli C., Schepetkin I.A., Ciciani G., A. Cilibrizzi, L. Crocetti, Giovannoni M.P., Guerrini G., Iacovone A., Kirpotina L.N., Khlebnikov A.I., R.D. Ye, Quinn M.T., 2- Arylacetamido-4-phenylamino-5-substituted pyridazinones as formyl peptide receptors agonists, *Bioorg. Med. Chem.* 2006 Vol. 24 P. 2530-2543.
78. Gong Y., Barbay J.K., Dyatkin A.B., Miskowski T.A., Kimball E.S., Prout, S.M., M.C. Fisher, R.J. Santulli, C.R. Schneider, N.H. Wallace, S.A. Ballentine, W.E. Hageman, J.A. Masucci, B.E. Maryanoff, B.P. Damiano, P.A. Gordon, D.J. Hlasta, P.J. Hornby, W. He, Synthesis and biological evaluation of novel pyridazinone-based α 4 integrin receptor antagonists, *J. Med. Chem.* 2006 Vol. 49 P. 3402-3411.
79. Giovannoni M.P., Cesari N., Vergelli C., Graziano A., C. Biancalani, Biagini P., Ghelardini C., Vivoli E., Piaz V.D, 4-Amino-5-substituted-3(2H)-pyridazinones as orally active antinociceptive agents: Synthesis and studies on the mechanism of action, *J. Med. Chem.* 2007 Vol. 20 P. 3945-3953.
80. Tao M., Aimone L.D., Huang Z., Mathiasen J., R. Raddatz, Lyons J., R.L. Hudkins, Optimization of 5-Pyridazin-3-one Phenoxypropylamines as

- potent, selective histamine H₃ receptor antagonists with potent cognition enhancing activity, *J. Med. Chem.* 2012 Vol. 55 P. 414-423.
81. Jiang J.k., Boxer M.B., Heiden M.G.V., M. Shen, A.P. Skoumbourdis, N. Southall, Veith H., W. Leister, Austin C.P., Park H.W., J. Inglese, L.C. CantleyAuld, D.S., C.J. Thomas, Evaluation of thieno[3,2-b]pyrrole[3,2-d]pyridazinones as activators of the tumor cell specific M2 isoform of pyruvate kinase, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010 Vol. 20 P. 3387-3393.
 82. Young W.B., Barbosa J., Blomgren P., Bremer, J.J. Crawford, D. Dambach, C. Eigenbrot, Gallion S., A.R. Johnson, Kropf J.E., S.H. Lee, L. Liu, J.W. Lubach, J. Macaluso, P. Maciejewski, S.A. Mitchell, D.F. Ortwine, Paolo J.D., K. Reif, H. Scheerens, A. Schmitt, X. Wang, H. Wonga, J.M. Xiong, J. Xu, C. Yu, Z. Zhao, Currie K.S., Discovery of highly potent and selective Bruton's tyrosine kinase inhibitors: Pyridazinone analogs with improved metabolic stability, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006 Vol. 26 P. 575-579.
 83. Hudkins R.L., Aimone L.D., Bailey T.R., R.J. Bendesky, Dandu R.R., D. Dunn, J.A. Gruner, K.A. Josef, Y.G. Lin, J. Lyons,. Marcy V.R, Mathiasen J.R., B.G. Sundar, M. Tao, A.L. Zulli, R. Raddatz, Bacon E.R., Identification of pyridazin-3-one derivatives as potent, selective histamine H₃ receptor inverse agonists with robust wake activity, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011 Vol. 21 P. 5493-5497.
 84. Allerton C.M. N., Andrews M.D., Blagg J., Ellis D., Evrard E., Green M.P., Liu K.K.C., McMurray G., Ralph M., Sanderson V., Ward R., Watson L., Design and synthesis of pyridazinone-based 5-HT_{2C} agonists, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009 Vol. 19 P. 5791-5795.
 85. Kelly M.J., Cole S.P., Larigan J.D., Haynes N.E., Reynolds C.H., Scott N., Vermeulen J., Dvorozniak M., Knape K.C., Huang K.S., So S.S., Thakkar K., Qian Y., Banner B., Mennona F., Danzi S., Klein I., Taub R., Tilley J., Discovery of 2-[3,5- Dichloro-4-(5-isopropyl-6-oxo-1,6- dihydropyridazin-3-yloxy)phenyl]-3,5-dioxo2,3,4,5- tetrahydro[1,2,4]triazine-6-carbonitrile (MGL-3196), a highly selective thyroid hormone receptor β agonist in

- clinical trials for the treatment of dyslipidemia, *J. Med. Chem.* 2014 Vol. 54 P. 3912-3923.
86. Betti L., Corelli F., Floridi M., Giannaccini G., Maccari L., Manetti F., Strappaghetti G., Botta M., α_1 -Adrenoceptor antagonists. 6.1 structural optimization of pyridazinone-arylpiperazines. study of the influence on affinity and selectivity of cyclic substituents at the pyridazinone ring and alkoxy groups at the arylpiperazine moiety, *J. Med. Chem* 2003 Vol. 46 P. 3555-3558.
 87. Tapia F. L., Walker K.A.M., Pleiss C.B., Caroon J, Nitzan D., Lowrie L., Gleason S., Zhao S.H., Berger J., Cockayne D., Phippard D., Suttman R., Fitch W.L., Bourdet D., Rege P., Huang X., Broadbent S., Dvorak C., Zhu J., Wagner P., Padilla F., Loe B., Jahangir A., Alker A., Novel series of dihydropyridinone P2X7 receptor antagonists, *J. Med. Chem.* 2015 Vol. 59 P. 8413-8426.
 88. Giovannoni M.P., Vergelli C., Biancalani C., Cesari N., Graziano A., Biagini P., Gracia J., Gavalda A., Piaz V.D., Novel pyrazolopyrimidopyridazinones with potent and selective phosphodiesterase 5 (PDE5) inhibitory activity as potential agents for treatment of erectile dysfunction, *J. Med. Chem.* 2006 Vol. 49 P. 5363-5371.
 89. Demirayak S., Karaburun A.C., Kayagil I., Erol K., Sirmagul B., Some pyridazinone and phthalazinone derivatives and their vasodilator activities, *Arch. Pharm. Res.* 27 2004 Vol. 13-18.
 90. Han X., Hong H. X., Quan Z. Y., Mao Z.X., Bin L., Zhong H. F., Zheng Y.H., Synthesis and herbicidal activities of novel 4-(3-trifluoromethylphenyl)-2H-pyridazin-3-one derivatives, *Sci. Chi. Chem.* 2003 Vol. 53 P. 157-166.
 91. Kakkar A.K., Dahiya N. Management of Parkinson's disease: Current and future pharmacotherapy. *Eur J Pharmacol.* 2015 Vol. 750 P.74–81.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.01.030>.
 92. Bar-am O., Amit T., Kupersmidt L., et al. Neurobiology of Aging Neuroprotective and neurorestorative activities of a novel iron chelator-brain

- selective monoamine oxidase-A/monoamine oxidase-B inhibitor in animal models of Parkinson ' s disease and aging. *Neurobiol Aging*. 2015 Vol. 36 P.1529–1542. <https://doi.org/10.1016/j>.
93. Petzer J.P., Castagnoli N., Schwarzschild M., Chen J. Dual-target – directed drugs that block monoamine oxidase B and adenosine A2A receptors for Parkinson's disease. *Neurotherapeutics*. 2009 Vol. 6 P.141–151.
 94. Finberg J.P.M.; Rabey J.M. Inhibitors of MAO-A та MAO-B у психіатриці та нейрології. *Front. Pharmacol*. 2016 Vol. 7 P.340.
 95. Załuski M., Schabikowski J., Schlenk M., Olejarz-Maciej A., Kubas B., Karcz T., Kuder K., Latacz G., Zygmunt M., Synak D., Hinz S., Müller C.E., Kieć-Kononowicz K. Novel multi-target directed ligands based on annelated xanthine scaffold with aromatic substituents acting on adenosine receptor and monoamine oxidase B. Synthesis, in vitro and in silico studies. *Bioorg Med Chem*. 2019 Vol. 27 P.1195-1210.
 96. Mertens M.D., Hinz S., Müller C.E., Gütschow M. Alkynyl-coumarinyl ethers as MAO-B inhibitors. *Bioorg Med Chem*. 2014;22(6):1916–1928.
 97. Finberg J.P.M. Update on the pharmacology of selective inhibitors of MAO-A and MAO-B: Focus on modulation of CNS monoamine neurotransmitter release. *Pharmacol Ther*. 2014 Vol. 143 P.133–152. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.02.010>.
 98. Binda C., Wang J., Pisani L., et al. Структури людського моноамінного oxidase B комплексів з необмеженими несумісними inhibitors: safnamide and coumarin analogs. *J Med Chem*. 2007; 50(23):5 848–5852
 99. De Colibus L., Li M., Binda C., Lustig A., Edmondson D.E., Маттеві А. Трьох-Dimensional Structure of Human Monoamine Oxidase A (MAO A): Відношення до структури Rat MAO A і Human MAO B. *Proc. Natl. Acad. SCI. USA* 2005 Vol. 102 P.12684-12689.
 100. Son S.Y., Ma J. , Kondou Y., Yoshimura M., Yamashita E., Tsukihara T. Структура людського моноамінного oxidase A 2.2-Å resolution: Захист від освітлення для substrates/inhibitors . 2008 Vol. 105 P. 5739-5744

101. Beaulieu J.M., Espinoza S., Gainetdinov R.R. Dopamine receptors - IUPHAR Review 13. *Br J Pharmacol.* 2015 Vol. 172 P.1-23.
102. Wang S., Wacker D., Levit A., Che T., Betz R.M., McCorvy J.D., Venkatakrishnan A.J., Huang X.P., Dror R.O., Shoichet B.K., Roth B.L. D₄ dopamine receptor high-resolution structures enable the discovery of selective agonists. *Science.* 2017 Vol. 358 P.381-386./
103. MarvinSketch version 17.21.0, ChemAxon <http://www.chemaxon.com>
104. Trott O., Olson A.J. AutoDock Vina: Improving швидкість і пристосування docking з новим scoring функцій, ефективне optimization, і multithreading. *J. Comput. Chem.*, 2010 Vol. 31 P. 455-46

ДОДАТКИ

Додаток А.1



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ГРАМОТА

нагороджується

Мишлакова Олена

у секційному засіданні студентського
наукового товариства кафедри
фармацевтичної хімії

XXIX Міжнародна науково-практична
конференція молодих вчених та студентів
**«Актуальні питання створення нових
лікарських засобів»**

В.о. ректора
Національного фармацевтичного
університету



Алла КОТВИЦЬКА

19-21 квітня 2023 р.
м. Харків



PREDICTION OF THE DOPAMINERGIC MECHANISM OF ACTION OF A PYRIDAZINE-3-ONE DERIVATIVE

Myshlakova O.P.

Scientific supervisor: Severina H.I.

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

amyshlakova@gmail.com

Introduction. Over the past twenty-five years, the prevalence of Parkinson's disease has doubled. As of 2019, the number of people suffering from this pathology is over 8.5 million. According to current estimates, Parkinson's disease has caused 329,000 deaths (a 100% increase since 2000). Parkinson's disease is caused by the degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra and other parts of the brain. If the dopamine-producing neurons in the substantia nigra are lost or the function of D2 receptors is impaired, symptoms of Parkinson's disease develop. Dopamine receptors are implicated in the pathogenesis and treatment of almost every neuropsychiatric disorder. Currently, there is no cure for Parkinson's disease, and the only way to improve its symptoms is through medication and/or surgery. Therefore, the search for new effective medicines that would selectively affect the required target remains an urgent issue today.

Aim. Determination of affinity of a 5-methoxy-2-(2-methylphenyl)pyridazin-3-one derivative for dopamine receptors of subtype 4 as a possible mechanism of antiparkinsonian action.

Materials and methods. Molecular docking was performed using the AutoDock Vina and AutoDockTools4 programs. Macromolecules from the Protein Data Bank were used as biotargets: dopamine receptor D4 – PDB ID 5 WIV. Structure design – BIOVIADraw 2017R2. Structure optimization – Chem3D. Discovery Studio Visualizer 2021 was used to visualize the results.

Results and discussion. To study the affinity of the pyridazine derivative for the D4 receptor, the crystal structure of the transmembrane domain in conformation with the agonist nemonapride (PDB ID 5WIV) was used. The orthosteric binding pocket of nemonapride is formed by transmembrane helices II, III, V, VI, VII and one extracellular loop – ECL 2. The following peptide residues are involved in the formation of the stable conformation of nemonapride: hydrogen bonds are formed between the amide group and amino methyl substituent with 4, asparagine (Asp 115), serine (Ser 196), leucine (Leu 187- ECL 2), phenylalanine (Phe 411), histidine (His 414); hydrophobic interaction occurs with phenylalanine (Phe91, 410), leucine (Leu 90, 111), cysteine (Cys185), valine (Val193,116), tyrosine (Tyr438), serine (Ser200). The docking of the investigated derivative into the active site of the D4 receptor resulted in a binding energy value of -10.1 kcal/mol, which indicates a high affinity of the investigated substance for the receptor. When analyzing the co-location of the two ligands, it is obvious that the conformation of the pyridazine derivative is virtually identical to that of the native ligand (Fig.).

The low value of the binding energy becomes clear when analyzing the interactions of pyridazine derivative fragments with peptide residues of the active site: all amino acids are involved in the formation of the conformation with the native nemonapride. Hydrophobic interactions are formed between: 2-methylphenyl fragment and aromatic ring of phenylalanine (Phe 91), CH₃ group of valine (Val 87) and CH group of leucine (Leu 111); methyl group forms a bidentate interaction with phenyl ring of phenylalanine (Phe 91) and mercapto group of cysteine (Cys 185); The 4-chlorophenyl radical forms six bonds with aromatic fragments of two phenylalanine molecules (Phe 410, 411), the imidazole cycle of histidine (His 414), methyl groups of valine (Al 116, 193) and leucine (Leu 187). Hydrogen bonds are formed between the carboxamide fragment and arginine (Arg 186), phenolic tyrosine hydroxyl (Tyr 438), and asparagine (Asp 115).

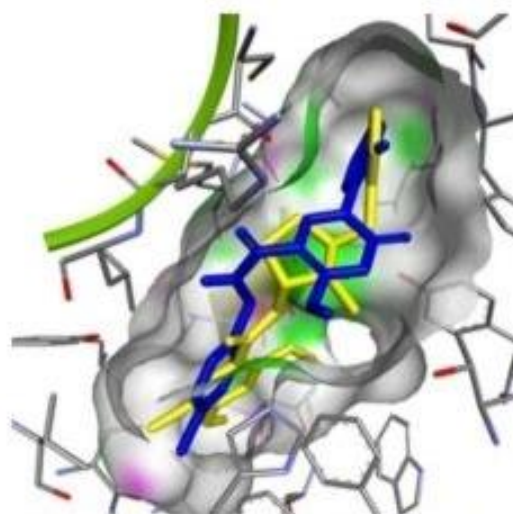


Fig. The co-location of the two ligands

Conclusions. According to the data obtained, a high degree of affinity of the 5-methoxy-2-(2-methylphenyl)pyridazin-3-one derivative for the dopamine D4 receptor agonist site is predicted.

Національний фармацевтичний університет

Факультет фармацевтичний
Кафедра фармацевтичної хімії
Ступінь вищої освіти магістр
Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація
Освітня програма Фармація

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувачка кафедри
фармацевтичної хімії

Вікторія ГЕОРГІЯНЦ
«24» серпня 2022 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ

Олени МИШЛАКОВОЇ

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Прогнозування механізму дії похідного піридазин-3-ону як дофамінергічного агоніста та інгібітора моноамінооксидази»
керівник кваліфікаційної роботи: Ганна СЕВЕРІНА д.фарм.н., доцент
затверджений наказом НФаУ від «06» березня 2023 року № 59
2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи: квітень 2023 р.
3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: Прогнозування механізму дії похідного піридазин-3-ону як дофамінергічного агоніста та інгібітора моноамінооксидази
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити):
провести літературний огляд щодо етіології, патогенезу хвороби Паркінсона, проаналізувати дані щодо сучасних антипаркінсонічних біомішеней та структури лігандів для їх модуляції; на основі літературного пошуку визначити цільові таргети для *in silico* досліджень; провести валідацію методології докінгу щодо нативних референс-лігандів; здійснити віртуальний молекулярний докінг досліджуваного ліганда 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону до сайту інгібітора моноамінооксидази А та Б та дофамінового рецептору 4 типу; за результатами докінгу спрогнозувати можливий механізм фармакологічної дії досліджуваного ліганда.
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень):
Таблиць-2, рисунків –33.

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРИЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Ганна СЕВЕРІНА, доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії	25.08.2022	25.08.2022
2	Ганна СЕВЕРІНА, доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії	22.10.2022	22.10.2022
3	Ганна СЕВЕРІНА, доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії	28.12.2022	28.12.2022

7. Дата видачі завдання: «24» серпня 2022 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Огляд літератури	Серпень-вересень 2022	виконано
2	Визначення афінності похідної 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону до сайтів моноамінооксидази А та Б;	Жовтень-листопад 2022	виконано
3	Визначення афінності похідного 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону до метаботропних рецепторів дофаміну	Грудень 2022 – січень 2023	виконано
4	Узагальнення матеріалів у висновки та оформлення роботи	Лютий-березень 2023	виконано

Здобувач вищої освіти

Олена МИШЛАКОВА

Керівник кваліфікаційної роботи

Ганна СЕВЕРІНА

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 59
по Національному фармацевтичному університету

від 06 березня 2023 року

Затвердити тему, керівника та рецензента кваліфікаційної роботи здобувачу вищої освіти денної форми навчання фармацевтичного факультету НФаУ 2023 року випуску:

№ з/п	Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
1.	Мишлакова Олена Павлівна	Прогнозування механізму дії похідного піридазин-3-ону як дофамінергічного агоніста та інгібітора моноамінооксидази	Prediction of the mechanism of action of a pyridazine-3-one derivative as a dopaminergic agonist and monoamine oxidase inhibitor	доц. Северіна Г. І.	проф. Кошовий О. М.

ПІДСТАВА: службова записка завідувача кафедрою про затвердження теми кваліфікаційної роботи, керівника та рецензента.

Вірно: пров. фахівець деканату

Н. В. Фоменко

ВИСНОВОК

**комісії з академічної доброчесності НФаУ про проведену експертизу
щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі**

№ 112767 від « 30 » квітня 2023 р.

Проаналізувавши випускню кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Мишлакової Олени Павлівни, 5 курсу, 1 групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, натеми: «Прогнозування механізму дії похідного піридазин-3-ону як дофамінергічного агоніста та інгібітора моноамінооксидази / Prediction of the mecha-nism of action of a pyri-dazine-3-one derivative as a dopaminergic agonist andmonoamineoxidase inhibitor», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копіїляції).

**Голова комісії,
професор**



Інна ВЛАДИМИРОВА

2%

34%

ВІДГУК

наукового керівника на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти
магістр, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація

Олена МИШЛАКОВА

на тему: «Прогнозування механізму дії похідного піридазин-3-ону як
дофамінергічного агоніста та інгібітора моноамінооксидази»

Актуальність теми. Хвороба Паркінсона - це прогресуюче нейродегенеративне захворювання, що виникає внаслідок дегенерації пігментних дофамінергічних нейронів у чорній субстанції компактного тіла. Це викликає низку функціональних модифікацій у гангліях і призводить до тяжких рухових порушень. Доведено, що саме дофамінові рецептори типу D4 і моноамінооксидаза А/Б є мішенями для поліпшення терапевтичних стратегій, що використовуються для лікування хвороби Паркінсона. А пошук нових малих молекул з високим ступенем афінності до активних сайтів рецепторів дофаміну і моноамінооксидази А/Б є актуальним завданням сучасної фармацевтичної та медичної хімії.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. За результатами роботи визначено пріоритетні таргети для *in silico* дослідження перспективного антипаркінсонічного агента — 5-метокси-2-(2-метилфеніл)піридазин-3-ону. Валідовано методології докінгу в активні сайти до сайту інгібітора моноамінооксидази А та Б та дофамінового рецептору 4 типу щодо нативних референс-лігандів процедурою ре-докінгу. За результатами молекулярного докінгу похідної піридазин-3-ону спрогнозовано високий ступінь афінітету до дофамінових рецепторів 4 типу: сайт позитивного алостеричного модулятора немонаприду - афінність зіставна енергія зв'язування -10.1 у досліджуваної похідної І щодо -10.3 ккал/моль у нативного референс-ліганда.

Оцінка роботи. Кваліфікаційна робота виконана на високому теоретичному та практичному рівні з використанням сучасних методів дослідження. Усі висновки, зроблені в роботі, є достовірними є достовірними.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту. Кваліфікаційна робота Олени МИШЛАКОВОЇ може бути представлена до захисту на здобуття рівня вищої освіти магістр спеціальності 226 Фармація, промислова фармація.

Науковий керівник

Ганна СЕВЕРІНА

«06» квітня 2023 р.

РЕЦЕНЗІЯ

**на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти магістр, спеціальності
226 Фармація, промислова фармація**

Олени МИШЛАКОВОЇ

**на тему: «Прогнозування механізму дії похідного піридазин-3-ону як
дофамінергічного агоніста та інгібітора моноамінооксидази»**

Актуальність теми. Сьогодні хвороба Паркінсона є одним з найбільш швидко поширюваних неврологічних розладів. За оцінками експертів, у світі налічується 4 мільйони хворих, а зі стрімким старінням людської популяції ця цифра сягне 14,2 мільйона до 2040 року. За статистикою Міністерства охорони здоров'я, в Україні зареєстровано понад 23 000 людей з хворобою Паркінсона. Щороку лікарі діагностують цю хворобу у 2 500 українців. Наразі ліків від хвороби Паркінсона не існує, існують лише методи полегшення симптомів та підтримання якості життя. Тому пошук нових ефективних препаратів для покращення симптомів хвороби Паркінсона за допомогою фармакотерапії є безумовно актуальним та необхідним завданням.

Теоретичний рівень роботи. Загалом робота справляє гарне враження. Грамотне планування експерименту, фундаментальна теоретичне підґрунтя для кожного етапу, виваженість кожного кроку, використання комплексу сучасних методів дослідження дало змогу досягти поставленої мети та вирішити всі завдання.

Пропозиції автора з теми дослідження. Робота вносить певний внесок у вирішення актуальної проблеми, пов'язаної з розробкою нових біологічно активних речовин для лікування хвороби Паркінсона.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Валідація методологій докінгу в активні сайти до сайту інгібітора моноамінооксидази А та Б та дофамінового рецептору 4 типу щодо нативних референс-лігандів процедурою ре-докінгу дозволить використовувати ці

методики для подальшого прогнозування афінності експериментальних речовин до зазначених мішеней.

Недоліки роботи. У роботі трапляються граматичні помилки та стилістично невдалі вирази, окремі недоліки в оформленні рисунків. Проте вони незначні та не знижують загальної цінності роботи.

Загальний висновок і оцінка роботи. Подана на рецензування робота Олени МИШЛАКОВОЇ за обсягом і змістом відповідає вимогам, що висуваються до кваліфікаційних робіт рівня вищої освіти магістр та може бути представлена до захисту в Екзаменаційній комісії.

Рецензент _____

проф. Оле КОШОВИЙ

«13» квітня 2023 р.

ПРОТОКОЛ № 10
засідання кафедри фармацевтичної хімії
Національного фармацевтичного університету
від 21 квітня 2023 р.

ПРИСУТНІ:

Георгіянц В. А. зав.каф., проф., Власов С. В. проф., Сидоренко Л. В. проф., Бевз Н. Ю. доц., Абу Шарк А. І., доц., Гарна Н. В. доц., Грудько В. О. доц., Головченко О. С. доц., Горохова О. В. доц., Гриненко В.В. доц., Колісник О.В. доц., Северіна Г. І. доц., Михайленко О. О. доц., Григорів Г.В. асис.

ПОРЯДОК ДЕННИЙ: заслухати звіти про стан виконання кваліфікаційних робіт.

СЛУХАЛИ: доповідь здобувача вищої освіти Олени МИШЛАКОВОЇ, студентки фармацевтичного факультету на тему: «Прогнозування механізму дії похідного піридазин-3-ону як дофамінергічного агоніста та інгібітора моноамінооксидази», керівник доцент закладу вищої освіти кафедри фармацевтичної хімії, д.ф.н. Ганна СЕВЕРІНА.

УХВАЛИЛИ: рекомендувати кваліфікаційну роботу Олени МИШЛАКОВОЇ до офіційного захисту в ЕК.

Голова

Зав. кафедри, доктор фарм. наук, проф. _____ Вікторія ГЕОРГІЯНЦ
(підпис)

Секретар

канд. фарм. наук, доц. _____ Олена КОЛІСНИК
(підпис)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**ПОДАННЯ
ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ
ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ**

Направляється здобувач вищої освіти Олени МИШЛАКОВОЇ до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «Прогнозування механізму дії похідного піридазин-3-ону як дофамінергічного агоніста та інгібітора моноамінооксидази»

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Микола ГОЛІК /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Олена МИШЛАКОВА провела літературний аналіз щодо ролі модуляторів рецепторів дофаміну та сайтів моноамінооксидази А та Б, у фармакотерапії хвороби Паркінсона, визначила пріоритетні таргети для *in silico* досліджень перспективного антипаркінсонічного агента, здійснила валідацію методології докінгу до активних сайтів до сайту інгібітора моноамінооксидази А та Б та дофамінового рецептору 4 типу щодо нативних референс-лігандів процедурою ре-докінгу. Зробила висновки щодо механізму реалізації фармакологічного ефекту похідної піридазину. Під час виконання кваліфікаційної роботи Олена МИШЛАКОВА виявила здібності до наукового пошуку, аналізу та систематизації даних.

Керівник кваліфікаційної роботи

Ганна СЕВЕРІНА

«06» квітня 2023 р.

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Олена МИШЛАКОВА допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри
фармацевтичної хімії

Вікторія ГЕОРГІЯНЦ

«21» квітня 2023 року

Кваліфікаційну роботу захищено
у Екзаменаційній комісії

« 12 » _____ червня _____ 2023 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії,

доктор фармацевтичних наук, професор

_____ /Лена ДАВТЯН/