

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Національний фармацевтичний університет

фармацевтичний факультет

кафедра медичної хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: **«ВИКОРИСТАННЯ *IN SILICO* МЕТОДІВ ДЛЯ ОПТИМІЗАЦІЇ ФАРМАКОЛОГІЧНОГО СКРИНІНГУ НОВИХ ПІПЕРИДИНО- ТА МОРФОЛІНОВІСНИХ ОСНОВ МАННІХА В РЯДУ ЗАМІЩЕНИХ 4,5-ДИГІДРО-1*H*-1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-ТІОНІВ»**

Виконала: здобувачка вищої освіти групи

Фс18(5.0д)-06

спеціальності: 226 Фармація, промислова фармація

освітньої програми Фармація

Поліна КРИВОРУЧКО

Керівник: доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії, к.фарм.н., доцент

Маргарита СУЛЕЙМАН

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

Ганна СЕВЕРІНА

АНОТАЦІЯ

Робота присвячена використанню *in silico* методів для оптимізації фармакологічного скринінгу нових піперидино- та морфоліновмісних основ Манніха в ряду заміщених 4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-5-тіонів. Отримані результати комп'ютерного моделювання *in silico* параметрів свідчать про перспективність подальших синтетичних та фармакологічних досліджень обраних основ Манніха. Робота складається із вступу, трьох розділів, висновків, списку використаної літератури, що включає 58 найменувань. Зміст роботи викладено на 47 сторінках машинописного тексту та містить 1 схему, 4 таблиці та 32 рисунки.

Ключові слова: основи Манніха, 4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-5-тіони, *in silico* методи, токсичність, фармакологічна активність, циклооксигеназа-2, молекулярний докінг.

ANNOTATION

The work is devoted to the use of *in silico* methods to optimize the pharmacological screening of new piperidino- and morpholine-containing Mannich bases in a series of substituted 4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazole-5-thiones. The obtained results of *in silico* computer modeling of parameters indicate the prospects of further synthetic and pharmacological studies of selected Mannich bases. The work consists of an introduction, three chapters, conclusions, a list of used literature, which includes 58 titles. The content of the work is laid out on 47 pages of typewritten text and contains 1 scheme, 4 tables and 32 figures.

Key words: Mannich bases, 4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazole-5-thiones, *in silico* methods, toxicity, pharmacological activity, cyclooxygenase-2, molecular docking.

ЗМІСТ

	Стор.
ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. ТЕОРЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ПОШУКУ НОВИХ ОСНОВ МАННІХА, ЩО МІСТЯТЬ КАРКАСИ ППЕРИДИНУ, МОРФОЛІНУ ТА ЗАМІЩЕННІ 1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-ТІОНИ.	7
1.1 Синтетичні та фармакологічні дослідження відомих основ Манніха	
1.2 Заміщенні 1,2,4-тріазоли – важливі скафолди для створення нових синтетичних матриць направленої дії.....	11
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1.....	26
РОЗДІЛ 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ТА АРГУМЕНТАЦІЯ ВИБОРУ ОБ'ЄКТІВ І МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.	
2.1. Об'єкти досліджень, характеристика структур.....	27
2.2. <i>In silico</i> методи як перспективний напрямок прогнозування активності та токсичності.....	28
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 2.....	33
РОЗДІЛ 3. ВИКОРИСТАННЯ <i>IN SILICO</i> МЕТОДІВ ДЛЯ ОПТИМІЗАЦІЇ ФАРМАКОЛОГІЧНОГО СКРИНІНГУ НОВИХ ППЕРИДИНО- ТА МОРФОЛІНОВМІСНИХ ОСНОВ МАННІХА В РЯДУ ЗАМІЩЕНИХ 4,5-ДИГІДРО-1<i>H</i>-1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-ТІОНІВ	
3.1. Прогнозування гострої токсичності та фармакологічної активності нових згенерованих основ Манніха.....	34
3.2. Докінгові дослідження можливої протизапальної дії досліджуваних основ з оптимальними прогнозованими фармакологічними та токсикологічними параметрами.....	39
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3.....	45
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	46
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	48
ДОДАТКИ	54

ВСТУП

Актуальність теми. Сучасні підходи пошуку нових активних молекул передбачають поєднання в одній молекулі різних фармакофорів. Такий підхід дозволяє потенціювати бажану дію, зменшувати токсичність та спрогнозувати появу нових ефектів. Нами був використаний такий підхід для створення нових основ Манніха в ряду заміщених 4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіонів. Вибір базового фармакофору обумовлений тим, що похідні цього ряду володіють високою фармакологічною активністю, мають високий аффінітет до біологічних мішеней, а наявність високої реакційної здатності надає змогу поєднання з іншими фармакофорами для створення нових хімічних структур. Модифікація 4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіонового каркасу морфоліновим або піперидиноним залишком може суттєво впливати на фізико-хімічні властивості майбутніх кандидатів, що в кінцевому підсумку впливає на їх безпековий та фармакодинамічний профіль. Скринінг з використання комп'ютерних технологій увійшов до методичного арсеналу при розробці нових препаратів і забезпечує альтернативний підхід для скринінгу сполук з маленькими витратами коштів, часу та лабораторних тварин. *In silico* методи можуть спрогнозувати не тільки певний вид активності, але й надати рекомендації щодо доцільності проведення експериментального скринінгу та синтетичних досліджень.

Метою дослідження є використання *in silico* методів для оптимізації фармакологічного скринінгу нових піперидино- та морфоліновмісних основ Манніха в ряду заміщених 4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіонів

Завдання дослідження:

- спрогнозувати клас токсичності за різних шляхів введення;
- спрогнозувати перспективний напрямок фармакологічного скринінгу;
- провести молекулярний докінг перспективних сполук до відповідної біологічної мішені згідно обраного напрямку;

- обрати сполуки з оптимальними значеннями молекулярної стиковки, токсикологічними, фармакологічними властивостями, які доцільно синтезувати і провести фармакологічні дослідження.

Об'єкт дослідження. Піперидино- та морфоліновмісні 3-[(R-фенокси)метил]-4-(R-феніл)-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-5-тіони, *in silico* дослідження токсикологічних та фармакологічних параметрів, докінгові дослідження.

Предмет дослідження – прогнозування гострої токсичності, фармакологічних та побічних ефектів, рецепторно-орієнтований гнучкий молекулярний докінг.

Методи дослідження. *In silico* методи токсикологічних та фармакологічних параметрів, молекулярний докінг.

Елементи наукових досліджень. Згенеровані піперидино- та морфоліновмісні 3-[(R-фенокси)метил]-4-(R-феніл)-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-5-тіони за результатами прогнозування токсичності при внутрішньочеревному та пероральному шляху введення виявились малотоксичними, а при внутрішньовенному та підшкірному шляху введенні тільки дві сполуки віднесено до 3 класу токсичності, тому їх було виключено з подальших *in silico* досліджень. За результатами прогнозування спектру фармакологічних та побічних ефектів тестованих сполук були одержані досить прийнятні показники аналгетичної активності при мінімальних значеннях токсичності, а саме побічної седативної дії. Тому цей напрямок виявився доцільним для подальшої молекулярної стиковки з відповідними біологічними мішенями, які лежать в основі виникнення запалення та болю. За результатами молекулярного докінгу були обчислені скорингові функції обраних молекул відносно ферменту ЦОГ-2. Вибір мішені обумовлений структурною подібністю обраних для докінгу досліджуваних речовин з відомим інгібітором ЦОГ-2 целекоксисбом. Одержані оціночні значення докінгу тестованих сполук перевищували препарат порівняння Целекоксиб. Тому варто запропонувати подальші дослідження щодо встановленого ефекту.

Апробація результатів дослідження та публікації. Результати досліджень були представлені у вигляді тез та доповіді на III Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «YOUTH PHARMACY SCIENCE». За результатами конференції був одержаний відповідний сертифікат та Диплом II ступеня.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи. Кваліфікаційна робота складається із вступу, огляду літератури, розділу аналітико-дослідницької аргументації об'єктів та методів досліджень, розділу експериментальних досліджень, висновків, списку використаної літератури. Загальний обсяг роботи складає 47 сторінок. Робота ілюстрована 1 схемою, 4 таблицями та 32 рисунками. Список використаної літератури складає 58 найменувань.

РОЗДІЛ 1. ТЕОРЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ПОШУКУ НОВИХ ОСНОВ МАННІХА, ЩО МІСТЯТЬ КАРКАСИ ППЕРИДИНУ, МОРФОЛІНУ ТА ЗАМІЩЕННІ 1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-ТІОНИ.

1.1. Синтетичні та фармакологічні дослідження відомих основ Манніха.

Основи Манніха, визначені професором Карлом Манніхом, були найширше вивченими ешафотами протягом понад сто років. Різноманітні біологічні ролі, які вони відіграють, сприяли їхньому застосуванню в багатьох клінічних станах. Основи Манніха – клас біологічно активних сполук, а саме β -кетואміни, продукти амінометилування кетонів шляхом конденсації з формальдегідом чи іншим альдегідом та амоніаком [1].

Наукова діяльність Манніха була зосереджена на синтетичній органічній хімії. У 1912 році він відкрив реакцію амінометилування при дії формальдегіду та аміаку, яку було названо його ім'ям (реакція Манніха). Протягом 30 років досліджував сфери потенційного застосування цієї реакції. Класична реакція Манніха (рис. 1.1), трикомпонентна конденсація між структурно різноманітними субстратами (ХеН), що містять принаймні один активний атом водню, альдегідний компонент (зазвичай R1 -CHO) і амінний реагент призводить до класу сполук загалом відомий як основа Манніха [2]. Тому реакції Манніха також відомі як реакції аміноалкілювання.

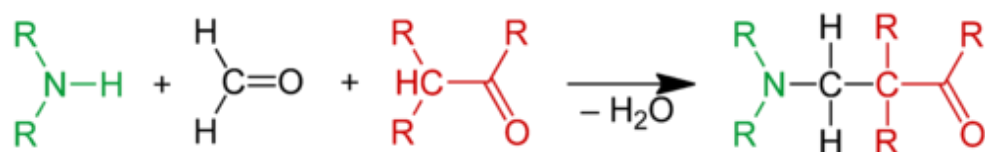


Рис. 1.1. Реакції аміноалкілювання

Тому що Манніха основи можна розглядати як похідні отриманого субстрату шляхом заміщення на аміноалкільний фрагмент. Наприклад, коли формальдегід використовується як альдегідний компонент, підкладка перетворюється на відповідну базу Манніха через процес амінометилування. Хоча первинні аміни і навіть аміак (у формі амонійної солі) можуть бути використані як амінові реагенти в амінометилуванні або аміноалкілюванні.

Оскільки формальдегід використовується значною мірою як альдегідний компонент в реакції Манніха структурна різноманітність основ Манніха в першу чергу походить від різноманітних типів субстратів, які можуть бути піддані амінометилуванню [3], а в другу від різноманітності амінних реагентів, які потенційно можуть бути використані в реакції Манніха. Незалежно від їх структурної різноманітності, всі субстрати повинні мати активуючу функціональну групу як вирішальну структурну особливість. За нормальних умов реакції заміна субстрату на одну амінометильну функцію призводить до монооснов Манніха, але дві амінометильні групи також можуть бути щеплені на субстрат містить, який має більше одного активного атома водню, що й призводить до подвоєння. Таким чином, реакція Манніха заслужила гідне місце як потужний інструмент у медичній хімії, як для синтезу нових хімічних речовин, наділених різноманітними цікавими біологічними властивостями, а також для модифікації фізико-хімічних властивостей, що в кінцевому підсумку впливає на біо доступність, продуктивність і фармакологічну активність лікарського засобу [4]. Основи Манніха знайшли численні практичні застосування в обробці природних високомолекулярних матеріалів, таких як шкіра, папір і текстиль, виробництво синтетичних полімерів, добавки, що використовуються в нафтовій промисловості, препарати для лікування, аналітичні реактиви, косметика, барвники тощо [5]. Тим не менш, найважливіше застосування реакції Манніха полягає в галузі медичної хімії, і це твердження підтверджується щорічними публікаціями робіт на цю тему. По-перше, основи Манніха можуть представляти цікаву біологічну діяльність, багато з яких ще належить виявити за допомогою ретельного процесу скринінгу. По-друге, амінометилування ліків може використовувати для покращення їх доставки в організм людини. Амінометилування може посилити гідрофільні властивості препаратів через введення в їх структуру полярної функції. Крім того, такі препарати можуть діяти як про ліки, вивільнення діючої речовини в контрольованих гідролітичних умовах шляхом дезамінометилування або дезамінування.

Основи Манніха дуже реактивні і, як відомо, володіють потужними різноманітними діями, такими як протипухлинний, протигрибковий, протизапальний, протималярійний, антибактеріальний, проти судомний, глистогінний, протитуберкульозний, болезаспокійливий, протималярійний, анти психотичний, противірусний, цитотоксичний та використовується проти ВІЛ [6].

Протиракові властивості та цитотоксичність кетонних основ Манніху були переглянуті ще 15 років тому. Ці дві групи сполук було показано, що вони проявляють свою цитотоксичну дію через алкілування тіолів, такі як глутатіон або цистеїн, і можуть бути корисними в сенсibiliзація пухлинних клітин до протипухлинних засобів. Цитотоксичні основи Манніху, отримані з різноманітних, структурно неспоріднених субстратів (2-амінометильовані 9-алкіл-1,2,3,4-тетрагідрокарбазол 1-они) виявляють помірну або потужну цитотоксичність щодо аденокарциноми легенів, раку шлунка, мієлолейкозу, раку ротової порожнини [7].

Вражаюча кількість статей, присвячених антибактеріальним засобам основ Манніха, що були опубліковані в останнє десятиліття. Зі структурної точки зору, основи Манніха здатні піддаватися амінометилуванню. Оцінка антибактеріальної активності проводили за допомогою різного скринінгу [8]. Добре відомі антибіотики були піддані амінометилуванню з надією збільшити їх антибактеріальну активність або поліпшити їх біо доступність. Гібриди сульфаніламідів (рис. 1.2) були створені за допомогою реакції Манніха і їх скринінг проти *Salmonella enteritidis* і *Pasturella multocida* показав, що їх антибактеріальна активність є вище, ніж у вихідних сульфаніламідів.

Основи Манніха належать до нових класів антимікобактеріальних сполук, які нещодавно привернули увагу дослідників у галузі лікування туберкульозу. Туберкульоз - це хронічне захворювання, масштаби і тяжкість якого викликає тривогу і вимагає термінового відкриття нового класу сполук з антимікобактеріальною активністю. Фенольні основи Манніха, отримані з

аломальтолу та піперазини мали хорошу активність проти *Mycobacterium smegmatis* [9,10].

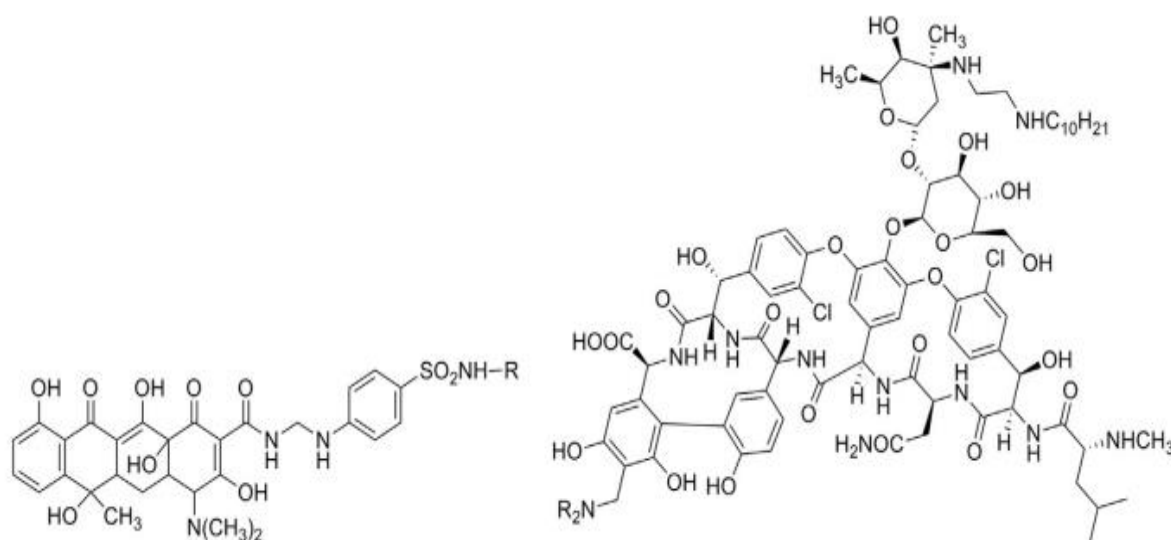


Рис. 1.2. Гібриди сульфаніламідів

Під час синтезу нових основ Манніха часто використовують гетероцикли піперидину та морфоліну, які в більшості випадків підвищують активність сполук [11]. Піперидин і морфолін (рис. 1.3) — вторинні аміни, дуже цінні насичені гетероциклічні сполуки через їх широкий і різноманітний спектр перспективної біологічної активності, такої як антибактеріальна та протизапальна активність. Гетероцикли піперидину присутні в деяких біологічно активних молекулах.

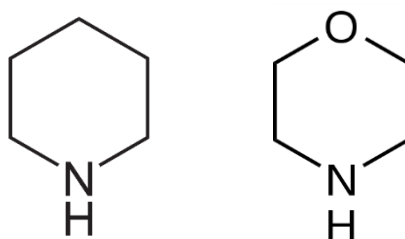


Рис. 1.3. Хімічні структури Піперидину та Морфоліну

Піперидин і морфолін не тільки архетипи вторинних гетероциклічних амінів, а структурна одиниця, яка часто присутня у фармацевтичних препаратах (наприклад, риталін, цетризин, тимолол, ципрофлоксацин). Відповідно до

нещодавнього широкого аналізу циклічних фрагментів в сучасній фармацевтиці піперидин і морфолін потрапили до топ-20 гетеро циклів.

Основи Манніху дуже унікальні, тому що можуть представляти цікаву біологічну діяльність, багато з яких ще належить виявити в процесі ретельного скринінгу.

1.2 Заміщенні 1,2,4-тріазоли – важливі скафолди для створення нових синтетичних матриць направленої дії.

Гетеро цикл - це фрагмент багатьох лікарських засобів, що продаються, і він є одним із них найважливіших частин з антибактеріальною активністю в сучасних препаратах[12]. Особливо цікавими терапевтичними властивостями володіють похідні тріазолу. Тріазоли - це п'ятичленні цикли, які містять два атоми Карбону і три атоми Нітрогену. з молекулярною формулою $C_2H_3N_3$. За положенням атомів Нітрогену тріазоли існують у двох ізомерних формах - 1,2,3-тріазол і 1,2,4-тріазол (рис. 1.4). Кільце 1,2,4-тріазолу може існувати в рівновазі між двома формами: 1*H*-формою та 4*H*-формою (рис.1.5). Розраховані відмінності в енергії між таутомерами азолів підтверджують перевагу для таутомеру 1*H* над 4*H*. [13-15].

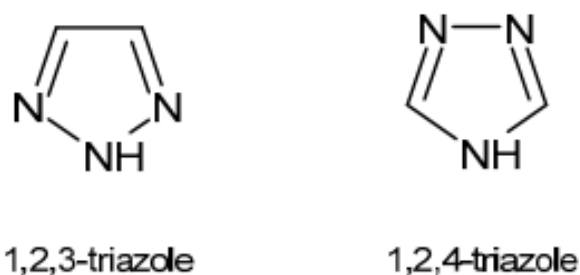


Рис. 1.4. Ізомерні форми тріазолу

Серед різних гетеро циклів 1,2,4-тріазольний фрагмент може впливати на ліпофільність, полярність і здатність до водневих зв'язків молекули, покращуючи фармакологічні, фармакокінетичні, токсикологічні та фізико-хімічні властивості сполук. З моменту свого відкриття 1,2,4-тріазольне кільце стало важливим гетероциклічним каркасом у медичній хімії.

різнобічної фармакологічної дії. З кожним роком список цих препаратів поповнюється новими лікарськими засобами [21], адже похідні 1,2,4-тріазолу мають широкий спектр фармакологічної активності та сприятливий профіль токсичності [22]. Серед лікарських засобів, які зарекомендували себе як високоефективні та впроваджені в світову практику:

- Транквілізатори - тразодон, алпрозолам (рис.1.7)
- Протигрибкові - флуконазол, ітраконазол (рис.1.8).
- Протівірусні – рибавірин (рис.1.9)
- Протипухлинні – летрозол (рис.1.10)
- Проти мігрені – ризатриптан (рис.1.11)

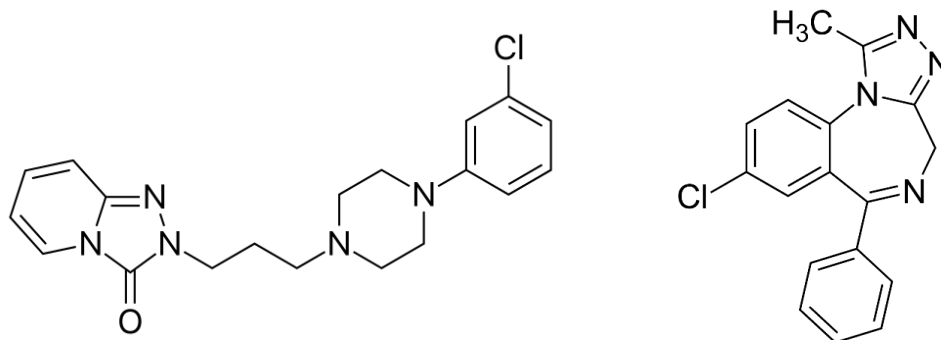


Рис. 1.7. Хімічні структури Тразодону та Альпрозоламу

Тразодон – антидепресант, схвалений FDA для лікування депресії. Він використовувався фахівцями в галузі психічного здоров'я та первинної медико-санітарної допомоги для лікування безлічі психічних та медичних станів [23]. Декілька рандомізованих контрольованих досліджень продемонстрували антидепресивну дію тразодону порівняно з трициклічними антидепресантами (ТЦА), селективними інгібіторами зворотного захоплення серотоніну (СІЗС).

Окрім антидепресивної дії, тразодон виявився корисним у лікуванні медичних та психіатричних захворювань, в тому числі безсоння, тривожні розлади, посттравматичний стресовий розлад, obsesивно-компульсивний розлад, розлади харчування та харчування, розлади вживання психоактивних речовин, пов'язані з ними поведінкові розлади з когнітивною дис. функцією, сексуальною дис. функцією, певним болем стану та реабілітації після гострого

ішемічного інсульту. Останнім часом також відновився інтерес до перегляд тразодону як ефективного антидепресанту, особливо з випуском його формули з уповільненим вивільненням. Тразадон являє собою 5-HT_{2A} і 5-HT_{2C} антагоніст рецепторів і селективний інгібітор зворотного захоплення серотоніну. Він є похідним фенілпіперазину та триазолопіридину. Хоча тразадон був схвалений Управлінням санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів (FDA) тільки для лікування великого депресивного розладу, він не використовувався за прямим призначенням при багатьох станах, включаючи безсонницю, тривогу, деменцію, хворобу Альцгеймера, зловживання психоактивними речовинами, шизофренію, булімію і фіброміалгію. Найбільш формою побічної реакції є сонливість, за якою слідує головокружіння, сухість у роті та нервозність. У Сполучених Штатах тразадон є другим найбільш часто призначеним засобом для лікування безсонниці. Снотворна дія цього препарату в більш низьких дозах пояснюється перш за все антагонізмом рецепторів 5-HT_{2A}, рецепторів 1H і адренергічних рецепторів 1-альфа. Найбільш активним метаболітом є м-хлорфенілпіперазин, продукований ферментом CYP 3A4, який є більш сильним інгібітором зворотного захоплення серотоніну в порівнянні з вихідною молекулою тразодону. Тразадон видається відносно безпечнішим, ніж ТЦА, інгібітори MAO [24,25].

Алпразолам є одним із бензодіазепінів, які найчастіше призначають для лікування генералізованого тривожного розладу та панічного розладу. Його клінічне використання було предметом розбіжностей, оскільки більшість спеціалістів із залежностей вважають, що це викликає сильну залежність, враховуючи його унікальні психодинамічні властивості, які обмежують його клінічну корисність, тоді як багато лікарів первинної ланки продовжують призначати його на більш тривалий період, ніж рекомендовано. Застосування алпразоламу протягом лише 1 тижня дає результат синдрому відміни у мишей і синдром відміни, пов'язаний з його припиненням зазвичай вважається більш серйозним, ніж інші синдроми відміни інших бензодіазепінів [26]. Алпразолам

найчастіше призначають і використовують неправильно. Його можна використовувати безпечно і ефективно при належному призначенні після ретельної оцінки ризиків і переваг лікування. Побічні ефекти є поширеними, але часто применшуються пацієнтами, враховуючи його швидкий початок терапевтичної дії та унікальні зміцнюючі властивості. Загальні скарги, про які повідомляють з різною частотою пацієнти, які отримували лікування алпразоламом, включають седативний ефект, втому, атаксію, амнезію, невиразну мову, погану концентрацію, гіперчутливість і дратівливість [27]. Усі бензодіазепіни несуть ризик неправильного використання, толерантність і фізична залежність. Синдром відміни, пов'язані з припиненням прийому алпразоламу, здаються більш серйозними, ніж з іншими бензодіазепінами, ймовірно, через його короткий період на пів виведення та високу ефективність.

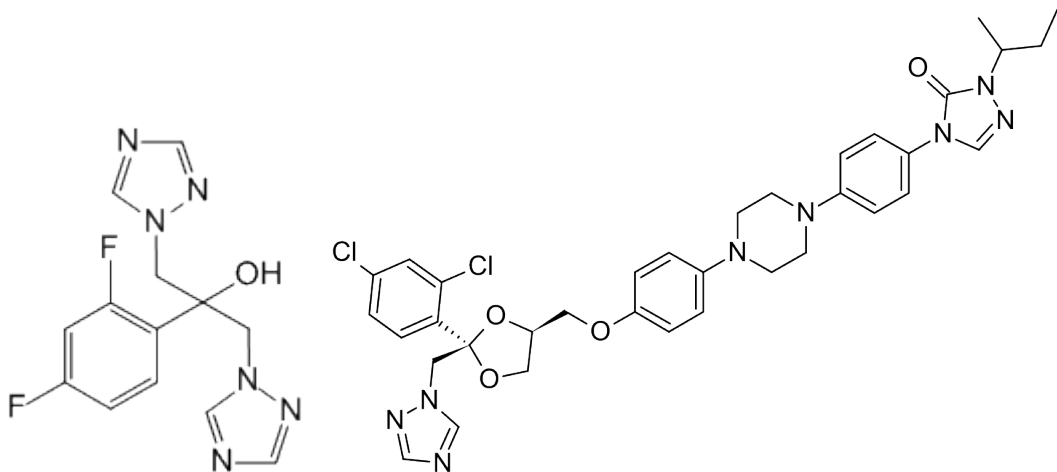


Рис. 1.8. Хімічні структури Флуконазолу й Ітраконазолу

Азольні протигрибкові сполуки флуконазол та ітраконазол. Ці 2 препарати стали ключовими протигрибковими препаратами через збільшення захворюваності грибкових інфекцій, пов'язаних зі СНІД, трансплантацією органів, раком, хіміотерапіями та інтенсивним лікуванням. Азольні протигрибкові засоби виявляють протигрибкову активність через інгібування ланостерол 14 α -деметилази (14LDM), фермент цитохрому P450, який бере участь у біосинтезі ергостеролу з ланостеролу (рис. 1.7). Як правило, координати траконазолу гем Fe²⁺ в активному центрі грибового 14LDM через його тριαзольну групу [28]. Біосинтез стеролів є важливим метаболічним

шляхом у тварин (холестерин), гриби (ергостерин) і рослини (ситостерин). Однак ітраконазол демонструє більшу ефективність у інгібуванні грибкового ферменту. Протигрибкові препарати, що використовуються у людей, вибірково впливають на грибок 14LDM, що призводить до накопичення 14 α -метильованих стеролів і руйнування ергостеролу, компонента клітинної мембрани грибів [29].

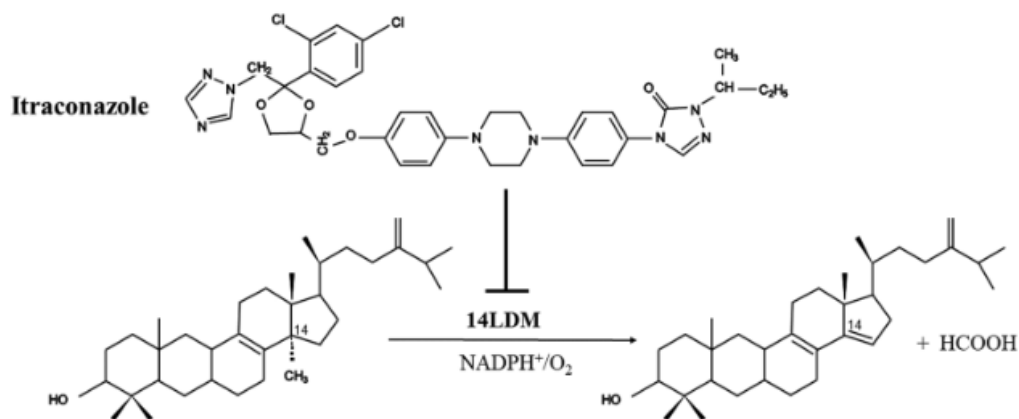


Рис. 1.9. Біосинтез ергостеролу з ланостеролу

Як представник протигрибкового азолу, флуконазол має корисні властивості широкого протигрибкового спектру, малотоксичної дії та високу біодоступність і широко використовується в клініці лікування інфекцій *C. albicans*. Однак флуконазол є фунгістатичним препаратом, який пригнічує ріст, але не має здатності вбивати патогенний грибок, забезпечуючи тим самим можливість розвитку стійкості до флуконазолу. Флуконазол має виражену протигрибкову дію [30], специфічно блокує синтез грибкових стеролів. Чинить специфічну дію на грибові ферменти, залежні від цитохрому P450. Активний щодо різних штамів *Candida spp.* (включно з вісцеральним кандидозом), *Cryptococcus neoformans* (включаючи внутрішньочерепні інфекції), *Microsporum spp.* та *Trichophyton spp.* Флуконазол активний і щодо збудників ендемічних мікозів: *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis* (включаючи внутрішньочерепні інфекції), *Histoplasma capsulatum* [31].

Ітраконазол – похідний триазол, активний щодо інфекцій, зумовлених дерматофітами (*Trichophyton spp.*, *Microsporum spp.*, *Epidermophyton floccosum*), дріжджі (*Cryptococcus neoformans*, *Pityrosporum spp.*, *Candida spp.*, включаючи

C. albicans, *C. glabrata* та *Histoplasma spp.*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Sporothrix schenckii*, *Fonsecaea spp.*, *Cladosporium spp.*, *Blastomyces dermatitidis* та іншими різновидами дріжджів та грибків [32], послаблює синтез ергостеролу у грибкових клітинах, що забезпечує протигрибковий ефект[33].

Враховуючи проблеми, пов'язані з розробкою ліків для лікування раку, привабливими є альтернативні стратегії, зокрема перепрофілювання «старих» ліків, які були схвалені для інших показань. Ітраконазол є схваленим FDA протигрибковим препаратом класу тріазолів та використовується у клінічній практиці понад 30 років. Нещодавні скринінги перепрофілювання ліків показали, що ітраконазол виявляє протиракову активність за рахунок інгібування ангіогенезу та множинні онкогенні сигнальні шляхи. Поточні дослідження передбачають, що сигнальний шлях *hedgehog* є основною мішенню, за допомогою якої ітраконазол пригнічує різні види солідного та гематологічного раку. У міру появи результатів клінічних випробувань ітраконазол може стати новим протипухлинним препаратом [34,35], який можна використовувати в комбінації з протипухлинними препаратами першої лінії.

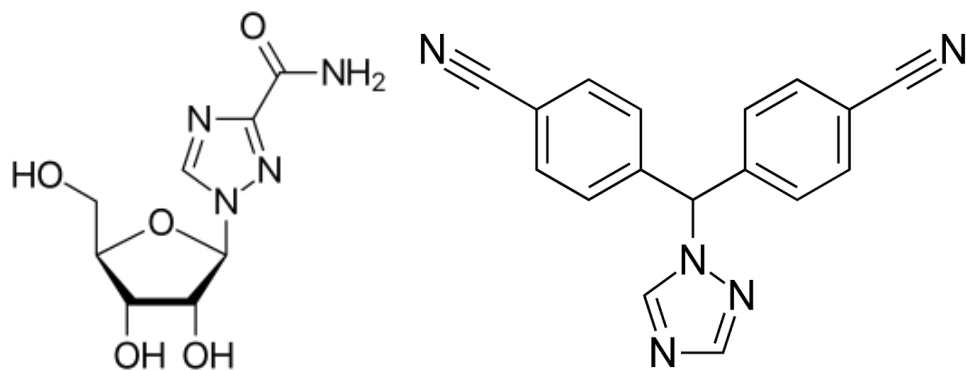


Рис. 1.10. Хімічні структури Рибавіріну та Летрозолу

Рибавірин – синтетичний аналог нуклеозидів, активний *in vitro* відносно деяких РНК- і ДНК- вірусів [36]. З моменту своєї появи для протівірусної терапії понад 40 років тому, зростаюча кількість робіт показали докази рибавіріну як протипухлинного засобу. Зокрема, з'ясування його антагонізму до онкогенного еукаріотичного ініціації трансляції (EIF4E) призвів до перспективних до клінічних та клінічних результатів моно терапії та

комбінованої терапії при раку. Більше того, кілька клінічних випробувань вивчали безпеку та ефективність Рибавіріну при злоякісних новоутвореннях і підтвердили його використання як антинеопластичного засобу.

Зростаюча вартість медичної допомоги у всьому світі, особливо в галузі онкології, спонукала дослідників та лікарів переробити клінічно використовувані ліки з метою полегшення фінансового навантаження на розробку лікарських засобів та запропонувати потенційні нові терапевтичні агенти. Нещодавні роботи протипухлинні властивості затвердженого рибікирину наркотиків FDA, синтетичного аналога гуанозину та антивірусної молекули, який застосовувався протягом останніх чотирьох десятиліть для лікування гепатиту С. Ефективність Рибавіріну під час раку вивчалася за допомогою використання кількох до клінічних моделей та постійних клінічних досліджень. Тестування з кількома видами раку, включаючи гострий мієлоїдний лейкоз, фарингеальну карциному та метастатичний рак молочної залози [37]. Оскільки сучасні методи лікування пацієнтів з раком досі не виліковуються, надзвичайно важливо запровадити нові форми лікування. Конвергентні дані вказують на те, що рибавірін є перспективним доповненням до нового покоління безпечних та ефективних протипухлинних агентів нового напрямку. Схвалений FDA противірусний препарат рибавірін продемонстрував ефективність у лікуванні численних видів раку у людини в до клінічних дослідженнях. Крім того, показано, що рибавірін безпечний і ефективний у ранніх клінічних випробуваннях, включаючи AML та HNSCC. Крім того, рибавірін не тільки був ефективний як моно терапія, але також було показано, що він посилює наслідки звичайної хіміотерапії та променевої терапії [38].

Летрозол – не стероїдний інгібітор ароматази (інгібітор біосинтезу естрогену); протипухлинний препарат [39]. У випадках, коли ріст пухлинної тканини залежить від наявності естрогенів, усунення опосередкованого ними стимулюючого впливу є передумовою пригнічення росту пухлини. У жінок у пост менопаузі естрогени утворюються переважно за участю ферменту ароматази, який перетворює андрогени, що синтезуються у надниркових

залозах (у першу чергу тестостерон), на естрон (E1) та естрадіол (E2). Тому за допомогою специфічного блокування ферменту ароматази можна досягти пригнічення біосинтезу естрогенів у периферичних тканинах і в пухлинній тканині. Летрозол пригнічує ароматазу шляхом конкурентного зв'язування з субодиноцею цього ферменту – гемом цитохрому P450, що призводить до зниження біосинтезу естрогенів у всіх тканинах. Високоактивний метаболізм естрогену та експресія рецепторного білка є причиною підвищеної частоти раку молочної залози (РМЗ) у жінок у пост менопаузі [40]. Летрозол є потужним ендокринним препаратом, який впливає на ароматазу та інгібує її, часто відому як інгібітор ароматази (ІІ). Він допомагає в ад'ювантному, неoad'ювантному та метастатичному лікуванні HR+ раку молочної залози, оскільки може підвищувати вироблення ФСГ для індукції овуляції. Нещодавно він був використаний у безплідних жінок у пре менопаузі. Основні переваги використання летрозолу для прискорення розвитку фолікулів можуть бути втрачені за сучасних методів лікування безпліддя [41]. Але препарат має різні побічні ефекти препарату на серці, нирки, печінка, ембріон, кістки та яєчники. Він також викликає апоптоз, некроз та фіброз, які призводять до загибелі ракових клітин.

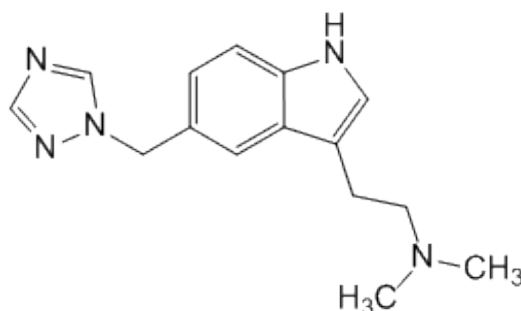


Рис. 1.11. Хімічна структура Ризатриптану

Ризатриптан – це селективний агоніст серотонінових 5-HT_{1B}- та 5-HT_{1D}-рецепторів людини, який не впливає або незначно впливає на активність інших рецепторів [42]. Терапевтична активність ризатриптану при лікуванні мігрені може бути пов'язана з його агоністичним ефектом стосовно рецепторів 5-HT_{1B} та 5-HT_{1D}, розташованих на екстра церебральних внутрішньочерепних

кровоносних судинах, які розширюються під час нападу, та на трійчастих сенсорних нервах, що призводить до їхньої іннервації. Активація цих 5-HT_{1B}- та 5-HT_{1D}-рецепторів може призводити до звуження внутрішньочерепних судин, що беруть участь у розвитку болю, та блокуванні вивільнення нейрон пептидів [43,44], що призводить до зменшення запалення у чутливих тканинах та зменшення центральної передачі больового сигналу трійчастим нервом.

Враховуючи важливість триазолів, їх синтез привертає велику увагу. У термічних умовах 1,3-диполярне циклоприєднання між азидом і кінцевим алкіном (також відоме, як циклоприєднання Уотсона) є найбільш популярною реакцією, яка підходить для отримання фрагмента 1,2,3-триазолу. Однак його використовували тільки для отримання 1,2,3-триазолу. Але вихід був досить малим. Тому був запропонований інший метод хімічної каталізуючої реакції Cu-азид-алкінового циклоприєднання (CuAAC), запропонований Шарплсом, завдяки якій можна синтезувати 1,2,3-триазол з високим виходом. В якості основного прикладу хімічної реакції CuAAC надає великий вплив на органічний синтез і широко використовується в промисловості та наукових колах [45]. 1,2,4-Триазол є важливою гетероциклічною сполукою, широко поширеною у молекулярних структурах з послідовністю біоактивності, включаючи протиракову, антибактеріальну, анти-ВІЛ тощо.

Основні методи синтезу включають амідини, імідати, амідразони, арилдіазонії та гідразони в якості вихідних сполук для отримання атомів азоту для синтезу виробничого 1,2,4-триазолу.

1) Амідини як джерело азоту:

Амідин широко використовувався в якості органічного каталізатора і ліганди для утворення азотно-вуглецевих зв'язків завдяки реакційній здатності нуклеофільних атомів азоту. Був розроблений загальний метод з використанням одного реакторного двох стадійного процесу виробництва 1,3,5-тризаміщеного-1,2,4-триазолу з відмінним виходом (до 90%). Послідовність починається з утворення амідну з карбонової кислоти та амідину. Далі анілін реагує з монозаміщеним гідразином і циклізується в тризаміщеному триазолі [46]. Цей метод

мав переваги високої регіоселективності та хорошої переносимості функціональних груп (рис.1.12).

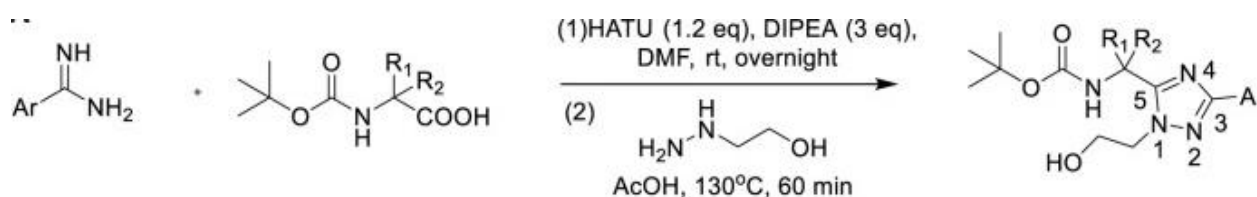


Рис. 1.12. Синтез заміщених 1,2,4-тріазолів.

У 2019 році Ся розробив простий одно реакторний метод з каталізом міді для отримання 3,5-дизаміщеного-1,2,4-тріазолу з амідів та нітрилів шляхом каскадної циклізації окислення-приєднання. У цій реакції як окиснювач використовувався O_2 , а функціоналізація каталізувалася комплексом МСМ-41 і броміду міді з високим виходом (91%). Цей шлях був використаний для отримання різних похідних 1,2,4-тріазолу (рис. 1.13).

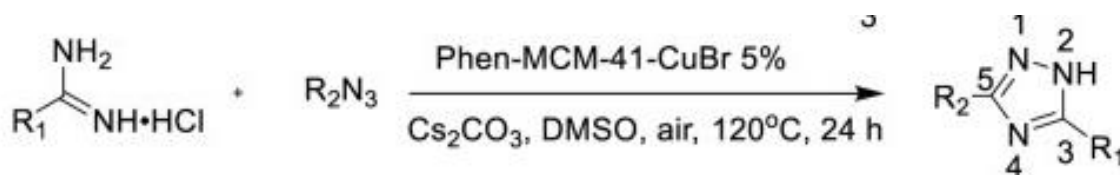


Рис. 1.13. Синтез заміщених 1,2,4-тріазолів.

2) Імідати як джерело азоту.

Імідати є корисними попередниками тріазолів, які широко використовуються у різних галузях. У 2016 році Гірадо запропонував спрощений метод синтезу 3-арил-1,2,4-тріазолхлорформаїду, який був отриманий за реакцією бензаміду з хлоралгідратом з високим виходом. Коли імідати реагували із сумішшю пентахлориду фосфору/оксихлориду фосфору, вони майже кількісно перетворювалися на бісбензімінхлорид, який потім обробляли гідразингідратом з утворенням 3-арил-1,2,4-тріазолів з високим виходом (86%). Перевага методу полягала в хорошій універсальності, високому виході, легкому доступі до вихідних матеріалів, м'яких та простих експериментальних стадіях (рис. 1.14).

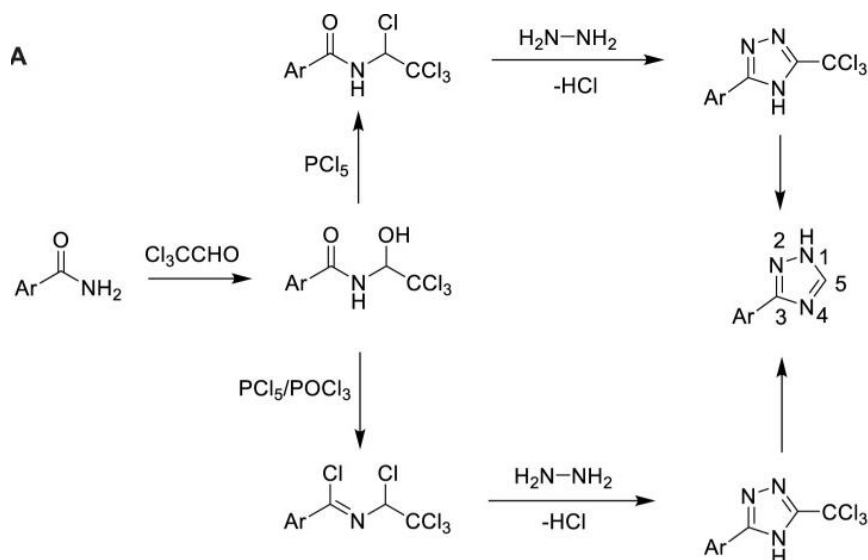


Рис. 1.14. Синтез заміщених 1,2,4-тріазолів.

У 2014 році вдалося отримати ряд 3,4,5-трізаміщених-1,2,4-тріазолів з 2,2,2-тріхлоретілімідату, в яких використовували поліетиленгліколь (ПЕГ) як розчинник і *p*-толуолсульфонову кислоту (ПТСК). Таким чином, це був легкий, ефективний і екологічно безпечний простий метод синтезу 1,2,4-тріазолу з 2,2,2-тріхлоретілімідату в ПЕГ з використанням ПТСК як каталізатора, що призводить до утворення 1,2,4-тріазолу в м'яких умовах з відмінними виходами (92%) (рис. 1.15) [47].

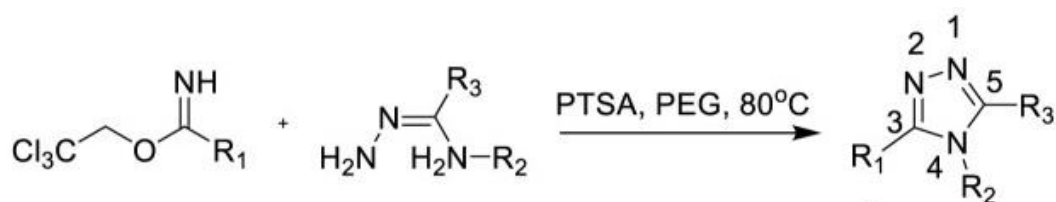


Рис. 1.15. Синтез заміщених 1,2,4-тріазолів.

3) Амідразони як джерело азоту.

Амідин був чудовою сировиною для забезпечення атому азоту у синтезі тріазолу. Похідні 1,2,4-тріазолу можуть бути отримані при 80°C з виходом від середнього до високого (55-95%) в умовах відсутності розчинника з використанням HClO_4 та SiO_2 як каталізатору. Перевага полягала в тому, що замісники в амідгидразоні та ангідриді мали хорошу переносимість в оптимізованих умовах, а каталізатор HClO_4 та SiO_2 можна було безперервно рециркулювати не менше трьох разів (рис. 1.16).

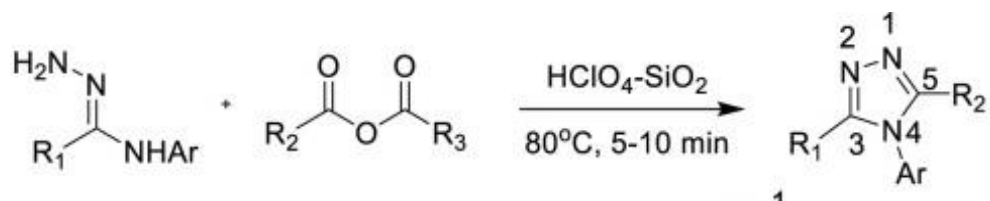


Рис. 1.16. Синтез похідних 1,2,4-тріазолу

У 2014 р. розробили аналогічний метод з використанням окислювальної циклізації нітрату церію та амонію (CAN) 3,4,5-тризамщеного-1,2,4-тріазолу в полі етиленгліколі (ПЕГ) з виходом від хорошого до відмінного (61%-97%). У цій реакції CAN був не лише окиснювачем, а й кислотою Льюїса. Після активації атома азоту аміногрупи додавали бензальдегід з утворенням проміжної сполуки діазіону. Нарешті, була проведена реакція циклізації окиснення для синтезу 1-(сульфо)-фосфонованого каркасу 5-аміно-1,2,4-тріазолу (рис. 1.17) [48].

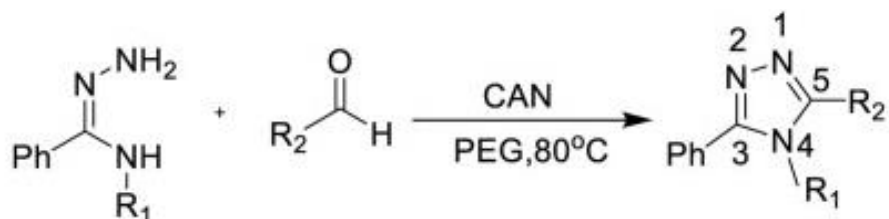


Рис. 1.17. Синтез похідних 5-аміно-1,2,4-тріазолу

4) Солі арилдіазонію як джерело азоту.

Солі арилдіазонію як проміжні продукти, широко використовувалися як джерело азоту для отримання сполук гетероциклів через переваги скорочення доступності та високої реакційної здатності. У 2020 році розробили синтез 1,2,4-тріазолу шляхом декарбоксілювання та циклізації 2-арил-2-ізоціанату солями арилдіазонію. У цій без металевій реакції використання 1,4-діазоциклічного октану (DABCO) як слабкої основи було надзвичайно важливим (рис. 1.18).

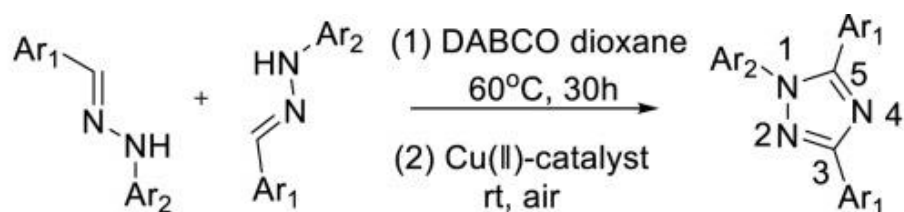


Рис. 1.18. Синтез похідних 1,2,4-тріазолу

В 2018 році повідомили про високоефективний метод одержання 1,5-дизаміщеного-1,2,4-тріазолу. За властивостями каталітичної системи тріазол синтезований солями арилдіазонію та методом ізоціанідного циклоприєднання. Дійсно, використання Ag(I) як каталізатору дає селективний 1,3-дизаміщений-1,2,4-тріазол з виходом 88%, тоді як мідний каталізатор дає 1,5-дизаміщений-1,2,4-тріазол з виходом 79%. (рис. 1.19) [49].

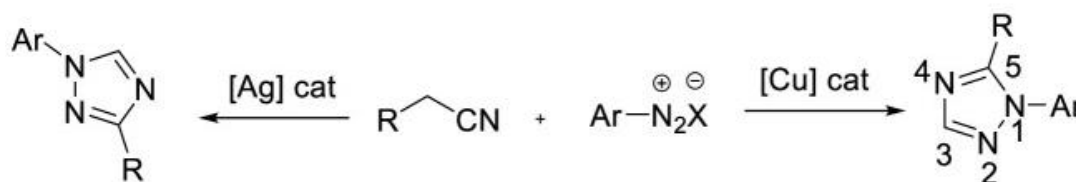


Рис. 1.19. Синтез заміщених 1,2,4-тріазолів

5) Гідразони як джерело азоту.

Гідразони були популярними попередниками азотистих гетероциклів у більшості методів виробництва конденсованого 1,2,4-тріазолу. У характеристиках цих сполук беруть участь високо реакційні пари азоту і SP-атоми вуглецю. Гідразони можуть реагувати з різними амінами з утворенням тріазолів. У 2016 був розроблений синтетичний метод, у якому гідразон можна легко перетворити на 1,2,4-тріазол шляхом об'єднання амінів з I₂/ТВНР з високим виходом (92%). Спосіб відрізняється доступністю сировини, простими та легкими умовами роботи, широким спектром субстратів (рис. 1.20) [50].

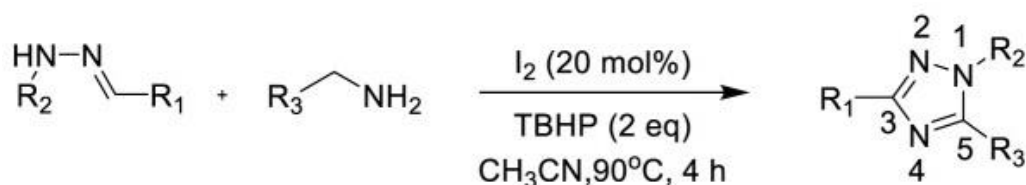


Рис. 1.20. Синтез заміщених 1,2,4-тріазолів

У 2019 році був описаний без металевий каталітичний метод циклізації дегідрування на основі $\text{V(C}_6\text{F}_5)_3$, який активує поточну нуклеофільну атаку гідразинової частини, слідуючи у правильному порядку стадіям амінування, внутрішньо молекулярної циклізації та дегідрування з отриманням 3,4,5-заміщеного-1,2,4-тріазолу з виходом 85% [51]. Цей шлях реакції характеризувався зеленою економією, відсутністю окиснювача, м'якими

умовами та селективністю, що забезпечило потенційну платформу для каталітичної хімічної конверсії без використання перехідного металу (рис. 1.21).

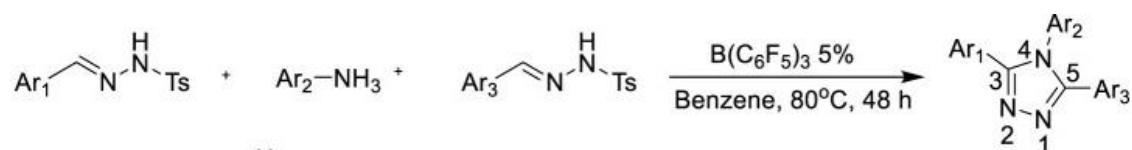


Рис. 1.21. Синтез 3,4,5-заміщених 1,2,4-тріазолів

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 1

1. Систематизовано, проаналізовано та узагальнено літературні дані щодо сучасних досліджень основ Манніха та похідних 1,2,4-тріазолу.

2. Встановлено, що похідні 1,2,4-тріазолу – важливий клас гетероциклічних сполук, завдяки широкому спектру дії та біологічній активності, а пряме амінометилування заміщених 1,2,4-тріазолів за допомогою реакції Манніха являє собою важливий інструмент для синтезу нових сполук.

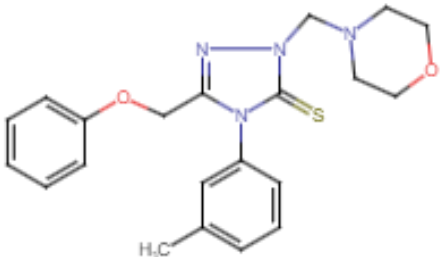
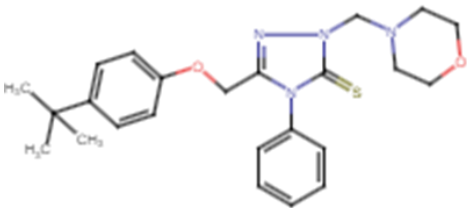
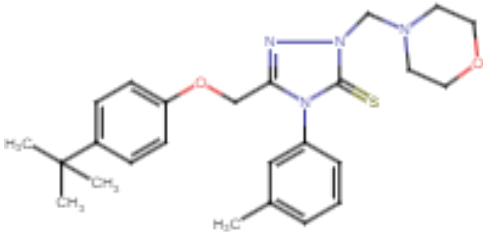
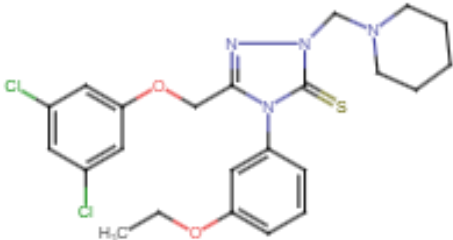
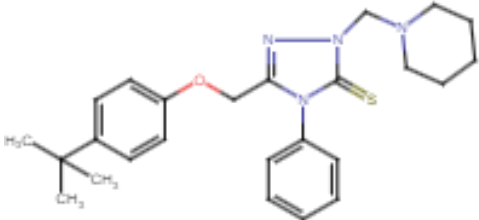
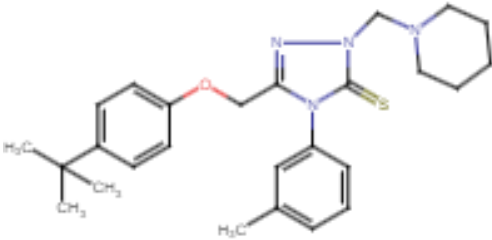
3. Зважаючи на досить широку сферу застосування похідних 1,2,4-тріазолу наші дослідження є досить актуальними, адже вони допоможуть в подальшому цілеспрямованому створенні нових препаратів.

РОЗДІЛ. 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ТА АРГУМЕНТАЦІЯ ВИБОРУ ОБ'ЄКТІВ І МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.

2.1. Об'єкти досліджень, характеристика структур

Об'єктами дослідження були обрані піперидино- та морфоліновмісні 3-[(R-фенокси)метил]-4-(R-феніл)-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-5-тіони. Більшість похідних цього ряду володіють високою фармакологічною активністю. За допомогою програми Marvin Sketch 20.5. були генеровані 6 молекул для подальших докінгових досліджень. Структури представлені у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1. Об'єкти досліджень

<p>1</p> 	<p>2</p> 
<p>3</p> 	<p>4</p> 
<p>5</p> 	<p>6</p> 

2.2. *In silico* методи як перспективний напрямок прогнозування активності та токсичності.

In silico підходи викликають значний інтерес через їхній потенціал для прискорення відкриття ліків з погляду часу, праці та витрат. Багато нових лікарських сполук було успішно розроблено з використанням обчислювальних методів. Відкриття та розробка звичайних ліків - це ризиковані та трудомісткі процеси, які включають ідентифікацію та перевірку мішеней, відкриття та оптимізацію основних сполук, а також до клінічні та клінічні випробування. В останні роки виведення нового препарату на ринок стало досить дорого вартісним процесом, а рівень відсіву кандидатів досягає 96%. Причинами, що лежать в основі такого високого показника відсіву, є низька ефективність ліків та недостатня абсорбція, розподіл, метаболізм та виведення ліків, а також токсичність (ADME-Tox) [52]. Як правило, методи *in vivo* та *in vitro* використовуються для вивчення безпеки ліків, включаючи побічні ефекти та токсичність. Тому останнім часом все більше уваги привертають підходи до комп'ютерного пошуку ліків, оскільки вони можуть допомогти вирішити проблеми, часу та вартості, з якими стикаються традиційні експериментальні підходи. Комп'ютерний пошук включає обчислювальну ідентифікацію потенційних мішеней для ліків, віртуальний скринінг великих бібліотек хімічних речовин на наявність ефективних кандидатів у ліки, подальшу оптимізацію сполук-кандидатів та оцінку їх потенційної токсичності *in silico* [53]. Після того, як ці процеси проведені за допомогою обчислень, сполуки-кандидати піддаються дослідженням *in vitro/in vivo*. Таким чином, підходи CADD можуть зменшити кількість хімічних сполук, які мають бути оцінені експериментально, збільшивши ймовірність успіху, виключивши з розгляду неефективні та токсичні хімічні сполуки.

Одним із сучасних методів *in silico* досліджень є молекулярний докінг. Молекулярний докінг — це метод молекулярного моделювання, який дозволяє передбачити найбільш вигідну для утворення стійкого комплексу орієнтацію і положення однієї молекули по відношенню до іншої. Вихідною інформацією

для докінгу слугують тривимірні структури білка (рецептора) і ліганду, конфірмаційна рухливість і взаєморозташування яких моделюється в процесі докінгу [53]. Результатом моделювання є конформація ліганду, яка найкращим чином взаємодіє з білковим сайтом зв'язування. Здійснюється за допомогою операції, при якій одну молекулу наближають до іншої, неперервно обчислюючи енергію взаємодії між ними при різних орієнтаціях та конформаціях, поступово встановлюючи найвигіднішу взаємну орієнтацію. Знання оптимальної молекулярної орієнтації може бути використане для передбачення сили асоціації або спорідненості між двома молекулами. Зв'язок між біологічно значимими молекулами, відіграє центральну роль у передачі сигналу. Крім того, відносна орієнтація двох взаємодіючих партнерів може вплинути на тип сигналу. Комп'ютерне моделювання міжмолекулярних взаємодій і носить назву молекулярний докінг [54]. Схематично ідея докінгу представлена на рисунку 2.1.



Рис. 2.1. Докінг малої молекули ліганду з білковим рецептором

Основна мета докінгу — отримання оптимальних просторових структур комплексів. Їх аналіз дозволяє виявити ділянки «взаємного розпізнання» молекул, визначити рушійні сили, які сприяють зв'язуванню. В результаті з'являється можливість цілеспрямованого впливу на характеристики зв'язування шляхом модифікації однієї або декількох взаємодіючих молекул — наприклад, за рахунок введення точкових мутацій в білок, зміни фізико — хімічних властивостей ліганда і тощо [55]. Як правило, при виконанні розрахунків на систему накладають певні обмеження. Наприклад, часто враховують конфірмаційну рухливість ліганду, тобто при обчисленні і подальшій

мінімізації повної енергії системи координати атомів ліганда варіюють. Навпаки, молекулу білка, як правило, вважають нерухомою, або конформаційно лабільною є лише невелика область сайту зв'язування з лігандом. Таким чином, в процесі докінгу рухливий ліганд орієнтується відносно нерухомого білка-мішені. Взаємна просторова орієнтація ліганду і білка - мішені є основним результатом докінгу. «Правильність» орієнтації оцінюється за допомогою спеціальної оціночної функції, яка корелює з експериментально визначеною вільною енергією зв'язування ліганду. Основне призначення оціночної функції докінгу — відображати вільну енергію зв'язування ліганда ($\Delta\Delta G$), проте в силу цілого ряду наближень, властивих завданням докінгу, кореляція не завжди присутня. Наведена функція враховує всі попарні не валентні (Вандервальсові і електростатичні) взаємодії між атомами ліганду і між лігандом і білком [56].

Комплекси таких біологічно важливих молекул, як білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи і ліпіди відіграють ключову роль у передачі хімічного сигналу. До того ж, відносна орієнтація двох взаємодіючих молекул може впливати на тип генерованого сигналу (буде він інгібуючим або каталітичним). Тому докінг важливий для передбачення як типу, так і сили виробленого сигналу [57]. Зазвичай докінг використовують для вирішення наступних типових задач:

1. Підбір лігандів, найбільш ефективно взаємодіючих з досліджуваним білком, шляхом послідовного перебору потенційних кандидатів з баз даних низькомолекулярних сполук.

2. Пошук в просторовій структурі досліджуваного білка сайту зв'язування для певного ліганду.

3. Оптимізація активного сайту білка — мішені шляхом введення в нього точкових мутацій, що підвищують ефективність взаємодії з певним лігандом або класом лігандів.

У першому з перелічених варіантів молекулярний докінг використовують у процесі створення нових лікарських препаратів. У варіантах 2 і 3 комп'ютерне

моделювання дозволяє оптимізувати властивості білка — мішені таким чином, щоб домогтися бажаної зміни параметрів зв'язування його з потрібними лігандами — наприклад, підвищити їх афінність та специфічність чи блокувати зв'язування.

Існують два основні підходи до моделювання докінгу: взаємозалежність форми та симуляція. У обох підходах є істотні переваги, а також деякі обмеження.

Перший підхід - геометрична відповідність, який описує для білка і ліганду як ряд особливостей, які дозволяють їх стикувати. Ці особливості можуть включати як саму молекулярну поверхню, так і опис додаткових особливостей поверхні. У цьому випадку молекулярна поверхня рецептора описується з точки зору її доступності площі поверхні для розчинника, а молекулярна поверхня ліганду описується з точки зору її відповідності опису поверхні рецептора. Взаємозалежність між двома поверхнями складає опис відповідності форми, яка може допомогти виявленню додаткового положення докінгу молекули-мішені і молекул ліганду. В іншому підході потрібно описати гідрофобні особливості білка, використовуючи повороти в атомах головного ланцюга.

Другий підхід –симуляція. У цьому підході білок і ліганд відділені деякими фізичним відстанями, і ліганд знаходить потрібне положення на активному сайті білка після певного числа «кроків». Кроки включають перетворення твердого тіла, такі як переміщення і обертання, а також внутрішні зміни структури ліганду включаючи кутові обертання. Кожен з цих кроків у просторі змінює повну енергійну оцінку системи, і отже вона обчислюється після кожного руху. Очевидна перевага цього методу полягає в тому, що це дозволяє досліджувати гнучкість ліганду під час моделювання, тоді як методи взаємозалежності форми повинні використовувати деякі інші методи, щоб дізнаватися про гнучкість ліганду. Інша перевага полягає в тому, що процес фізично ближче до того, що відбувається насправді, коли білок і ліганд наближаються до один одному після молекулярного розпізнавання. Незручність

цієї техніки — те, що вона займає час, щоб оцінити оптимальну позу закріплення, так як необхідно досліджувати досить великий енергетичний пейзаж. Але під час цього підходу ліганд знаходить потрібне положення ітераційним шляхом. Кожна ітерація включає в себе переміщення, обертання та конформацію ліганд (конформаційний пошук), після чого заново обчислюється енергійна оцінка системи (оціночна функція). Зазвичай при молекулярному докінгу використовують саме цей підхід, адже процес його роботи фізично ближчий до того, що відбувається насправді і зазвичай більш точний [58]. Візуальне представлення процесу молекулярного докінгу можна побачити на рисунку 2.2.

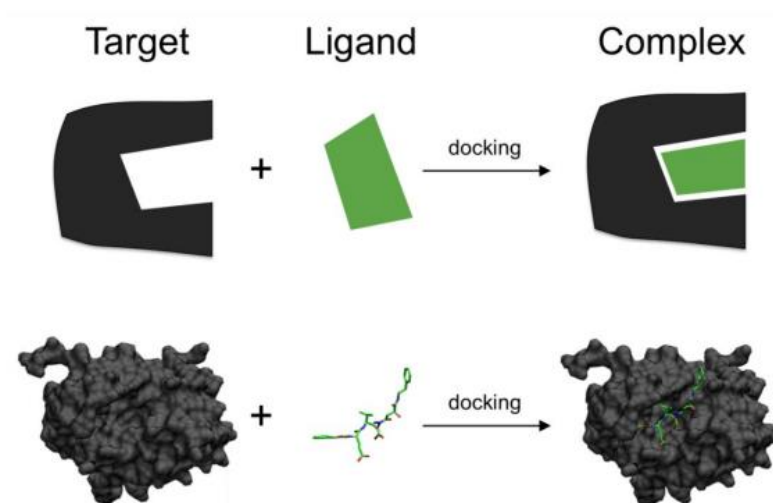


Рис. 2.2. Процес молекулярного докінгу

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 2

1. Об'єктами докінгових досліджень було обрано піперидино- та морфоліновмісні 3-[(R-феноксид)метил]-4-(R-феніл)-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-5-тіони.

2. Комп'ютерний пошук включає обчислювальну ідентифікацію потенційних мішеней для ліків, віртуальний скринінг великих бібліотек хімічних речовин на наявність ефективних кандидатів у ліки, подальшу оптимізацію сполук-кандидатів та оцінку їх потенційної токсичності. Такий підхід віртуальних досліджень може зменшити кількість хімічних сполук, які мають бути оцінені експериментально, збільшивши ймовірність успіху, виключивши з розгляду неефективні та токсичні хімічні сполуки.

3. Молекулярний докінг є одним із сучасних методів *in silico*, який дозволяє передбачити найбільш вигідну для утворення стійкого комплексу орієнтацію і положення однієї молекули по відношенню до іншої. Цей метод дозволяє надати чіткі рекомендації для подальших експериментальних досліджень та дизайну майбутніх активних інгредієнтів.

РОЗДІЛ 3. ВИКОРИСТАННЯ *IN SILICO* МЕТОДІВ ДЛЯ ОПТИМІЗАЦІЇ ФАРМАКОЛОГІЧНОГО СКРИНІНГУ НОВИХ ПІПЕРИДИНО- ТА МОРФОЛІНОВМІСНИХ ОСНОВ МАННІХА В РЯДУ ЗАМІЩЕНИХ 4,5-ДИГІДРО-1H-1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-ТІОНІВ

3.1. Прогнозування гострої токсичності та фармакологічної активності нових генерованих основ Манніха

Прогнозування гострої токсичності, фармакологічних та побічних ефектів тестованих молекул проводились за допомогою online-програм «Acute rat toxicity prediction» програмного пакету GUSAR, «All Activities» та «Adverse Effects and Toxicity» програмного пакету PASS (схема 3.1).



Схема 3.1. Етапи прогнозування гострої токсичності, фармакологічних та побічних ефектів. Програмне забезпечення.

Генеровані піперидино- та морфоліновмісні 3-[(R-феноксид)метил]-4-(R-феніл)-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-5-тіони за результатами прогнозування токсичності при внутрішньочеревному та пероральному шляху введення виявились нетоксичними або малотоксичними (4 та 5 клас токсичності за класифікацією ОЕСД), а при внутрішньовенному та підшкірному шляху введенні тільки дві сполуки віднесено до 3 класу токсичності (табл. 3.1).

За результатами порівняння прогнозованих значень LD₅₀ обраних сполук можна зробити висновок, що сполуки **1, 2, 3 та 4** ймовірно не є токсичними, а сполуки **5, 6** - токсичні, тому їх ми виключили з об'єктів наших подальших *in silico* досліджень.

Таблиця 3.1. Прогнозування гострої токсичності

Сполука №	R	Шлях введення, LD ₅₀ (мг/кг)			
		Внутрішньо-черевно	Внутрішньо-венно	Перорально	Підшкірно
1	R – H; R₁ – 4-CH₃; X = 0	787,300	81,100	1936,000	1002,000
2	R – t-Bu; R₁ – H; X = 0	1321,000	91,340	1690,000	955,700
3	R – t-Bu; R₁ – 4-CH₃; X = 0	1412,000	59,010	2496,000	660,600
4	R – 2 - Cl, 4 - Cl; R₁ – OC₂H₅; X = CH₂	747,300	45,020	824,800	637,400
5	R – t - Bu; R₁ – H; X = CH₂	709,300	20,330	2224,000	428,000
6	R – t - Bu; R₁ – CH₃; X = CH₂	460,400	28,440	1590,000	348,900

За результатами прогнозування спектру фармакологічних та побічних ефектів протестованих сполук були одержані високі показники аналгетичної активності при мінімальних значеннях токсичності та побічної седативної дії. Результати прогнозування спектру фармакологічної активності обраних сполук за програмою «All Activities» наведені на рис. (рис. 3.1-3.5).

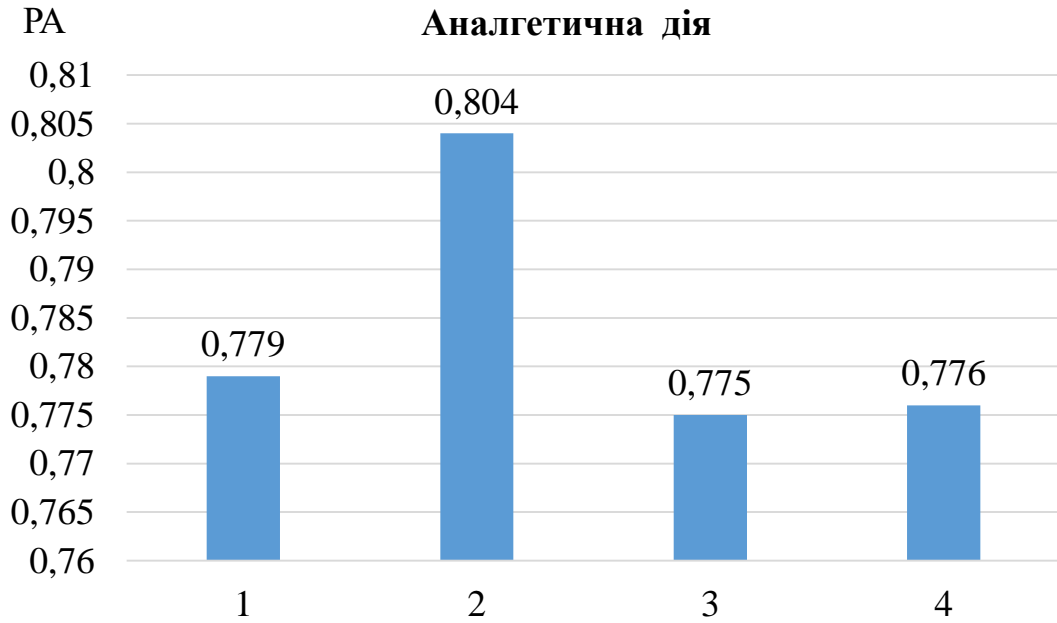


Рис. 3.1. Результати PASS прогнозу аналгетичної активності

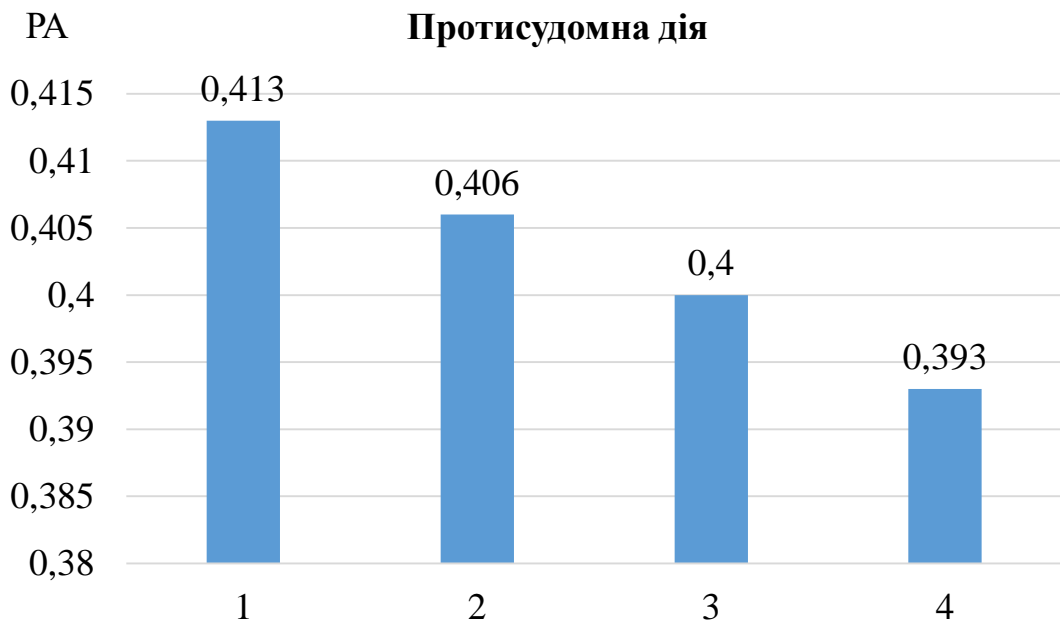


Рис. 3.2. Результати PASS прогнозу проти судомної активності

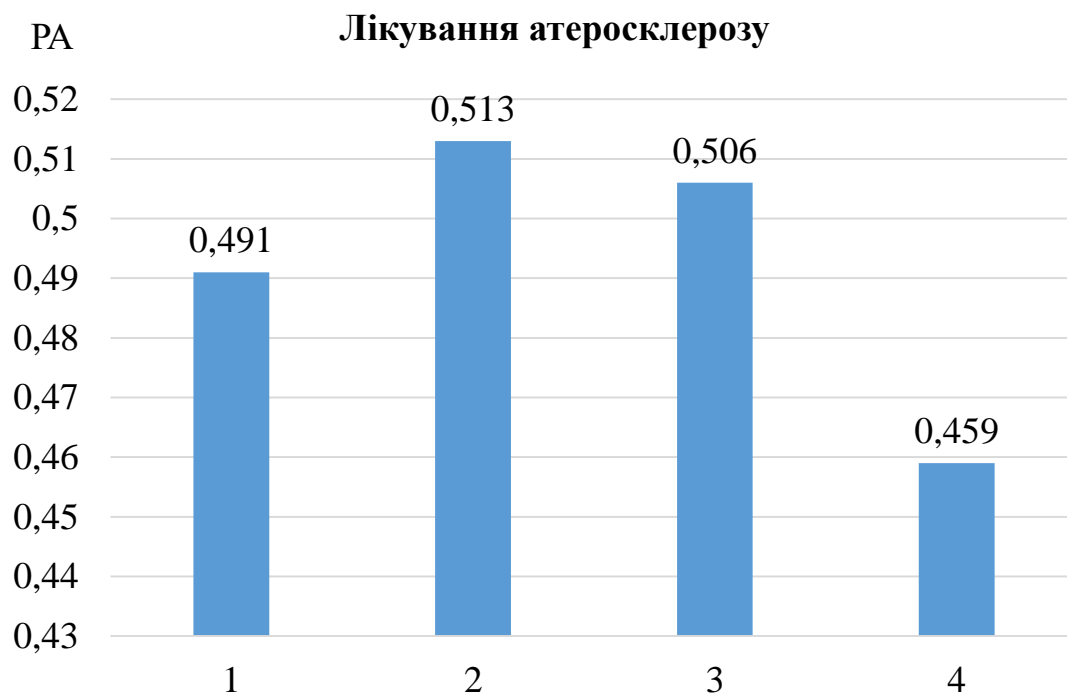


Рис. 3.3. Результати PASS прогнозу гіполіпідемічної активності



Рис. 3.4. Результати PASS прогнозу антигіпертензивної активності

В результаті дослідження за допомогою програми «Adverse Effects and Toxicity» прогнозовано для досліджуваних молекул найбільш ймовірний седативний побічний ефект (рис. 3.5)

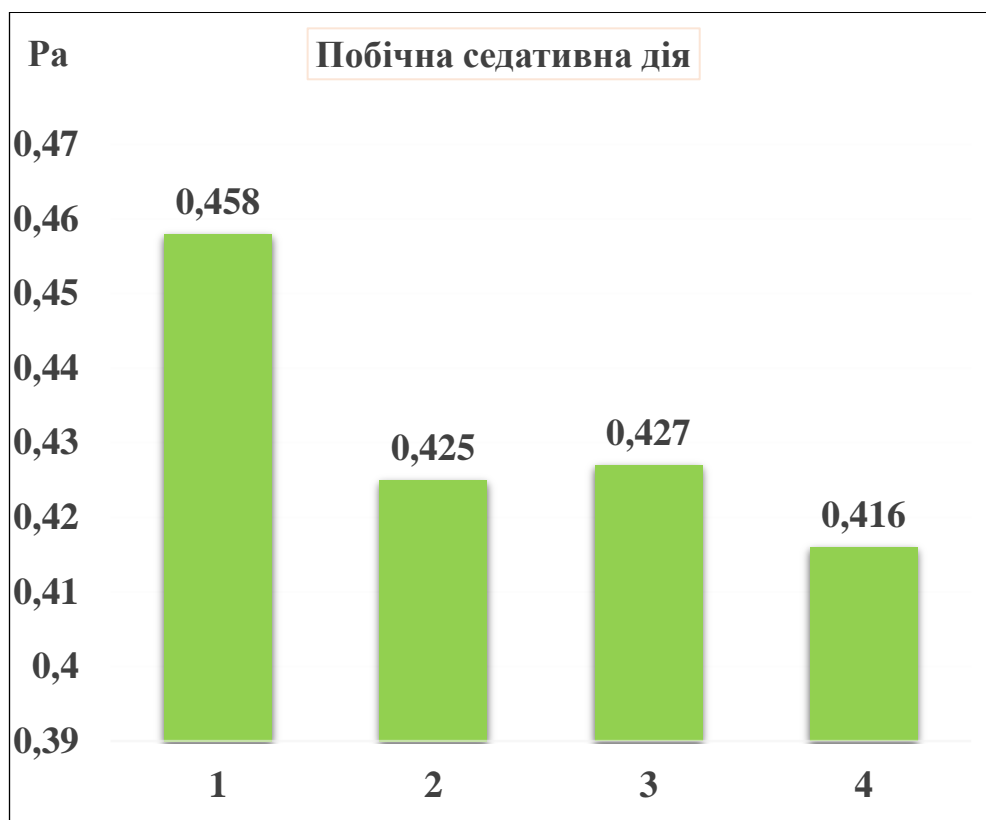


Рис. 3.5. Результати прогнозу можливого седативного побічного ефекту

Слід зауважити, що всі одержані обчислювані дані параметрів (показників) активності P_a спів ставні з параметрами не активності P_i , який не перевищував 0,03 ($P_i < 0,03$) для прогнозованих ефектів.

Завдяки одержаним результатам прогнозування активності і токсичності було встановлено, що тільки 4 молекули є перспективними з високими показниками аналгетичної активності при низькій токсичності. Наступним кроком дослідження є подальша молекулярна стиковка з відповідними біологічними мішенями, які лежать в основі виникнення запалення та болю.

3.2. Докінгові дослідження можливої протизапальної дії досліджуваних основ з оптимальними прогнозованими фармакологічними та токсикологічними параметрами.

Для молекулярного докінгу (стиковки) було використано програмний пакет Autodock 4.2. Підготовку досліджуваних молекул проводилась за допомогою програми MGL Tools 1.5.6. Оптимізація молекул у відповідний формат PDB проводилась за допомогою програмного додатку Avogadro. Для проведення докінгу (стиковки) вихідні формати досліджуваних молекул та пептидів у програмі Autodock 4.2. конвертувалися у PDBQT формат. Мапи рецептора були створені у програмах AutoGrid та MGL Tools. Слід зауважити, що для молекулярного стикування нових молекул з PDB файлів мішені варто видалити видалені молекули води, іони та ліганд.

Параметри стиковки (докінгу) наведені у таблиці 3.1

Таблиця 3.2. Параметри молекулярної стиковки

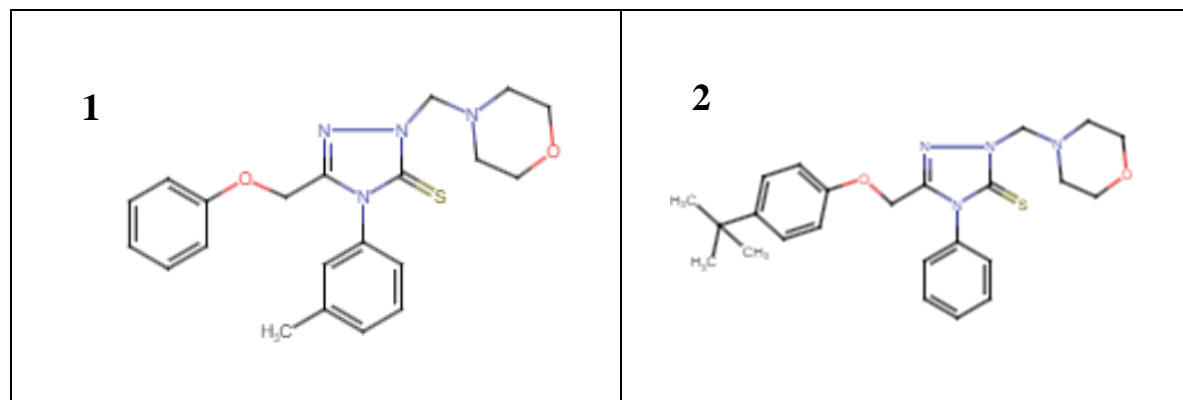
Параметр	Значення
крок поступального руху	2 Å
толерантність кластеру	2 Å
Коефіцієнт торсійної свободи	0,2983
зовнішня енергія решітки	1000
максимальна початкова енергія	0
максимальна кількість спроб	10000
кількість структур у популяції	150
максимальна кількість генерацій	27000
максимальна кількість етапів оцінки енергії	2500000
кількість структур, що переходять у наступне покоління	1
рівень кросовера	0.8
спосіб кросовера	арифметичний

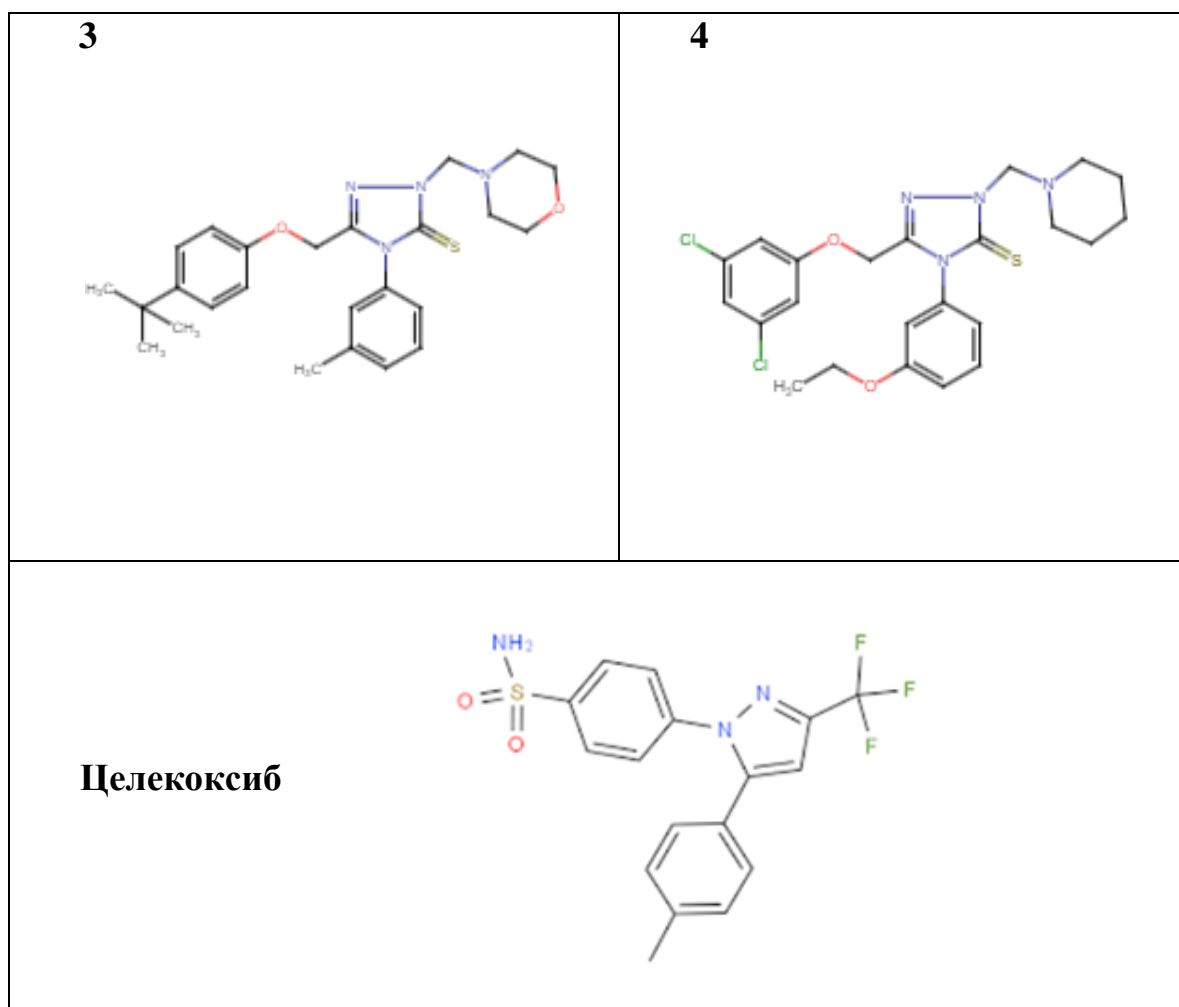
β -параметр розподілу Гауса	1
α -параметр розподілу Гауса	0
рівень генної мутації	0,02

Для кращого розуміння результатів прогнозування активності за допомогою методології молекулярного докінку, слід провести стиковку на рецептор або фермент, який має спів кристалізованих ліганд у вигляді відомих активаторів або блокаторів в залежності від спрямування ефекту. За таким принципом мішені відбирають з лігандом, який має структурну подібність до досліджуваних молекул. В нашому випадку піперидино- та морфоліновмісні заміщені 4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-5-тіони структурно схожі з відомим інгібітором циклооксигенази-2 Целекоксибом. Тому докінгова стиковка на протизапальну активність проводилась саме на цей підтип циклооксигеназ. Також це пояснює і вибір напрямлення докінгового прогнозування дії саме на протизапальну активність, хоча результати PASS показали високі показники анальгетичної дії.

В таблиці 3.3 наведені структурні формули відібраних молекул (1-4) та Целекоксибу.

Таблиця 3.3. Структури досліджуваних молекул і референс препарату Целекоксибу





В якості біомішені була обрана кристалграфічна модель циклооксигенази-2 спів кристалізована з Целекоксибом з Protein data bank (PDB ID: 5JW1).

Простагландинова ендопероксид Н-синтаза-2 (PGHS-2), також відома під назвою циклооксигеназа-2 (ЦОГ-2), перетворює арахідонову кислоту в PGH2. PGHS-2 є конформаційним гетеродимером, що складається з алостеричної (Eallo) і каталітичної (Ecat) субодиниць. Жирні кислоти (ЖК) зв'язуються з Arg-120 алостеричної субодиниці, збільшуючись різним ступенем. Саме в цій моделі наявне переміщення спіральних залишків 120–122 і петльових залишків 123–129 в цій частині Димеру, який є основним для зв'язування більшості інгібіторів ЦОГ-2.

На рис. 3.6 наведена візуалізація криталлографічної моделі PDB ID: 5JW1.

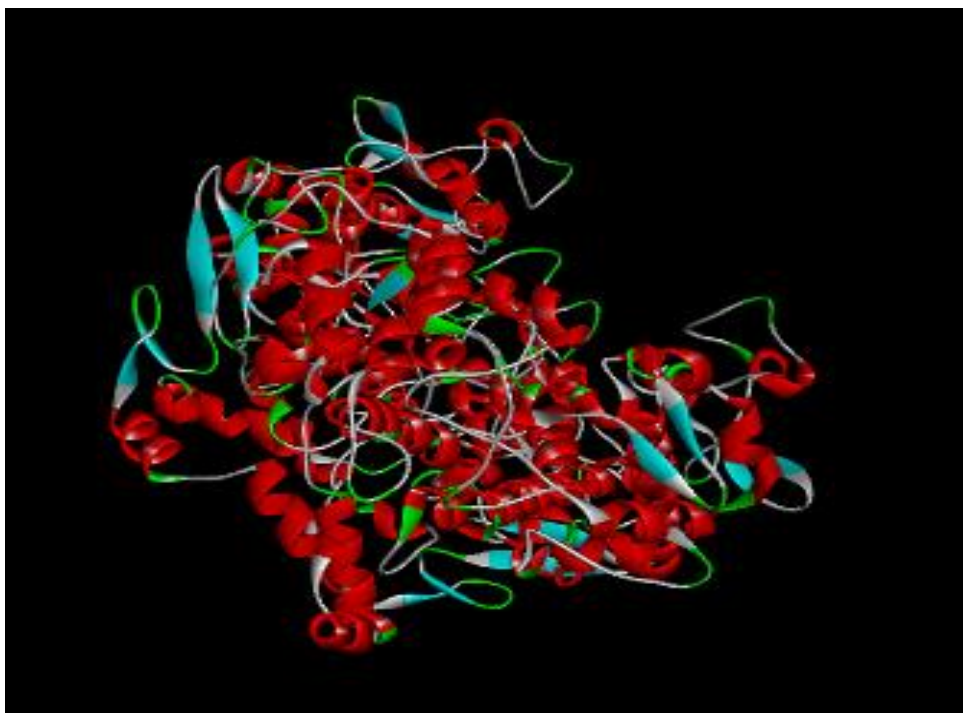


Рис. 3.6. Візуалізація кристалографічної моделі PDB ID: 5JW1 ферменту ЦОГ-2

За результатами докінгу були розраховані скорингові функції. Ця функція вказує на внесок ентальпії у значення вільної енергії зв'язування (Affinity DG) для кращих конформаційних положень (рис. 3.7).

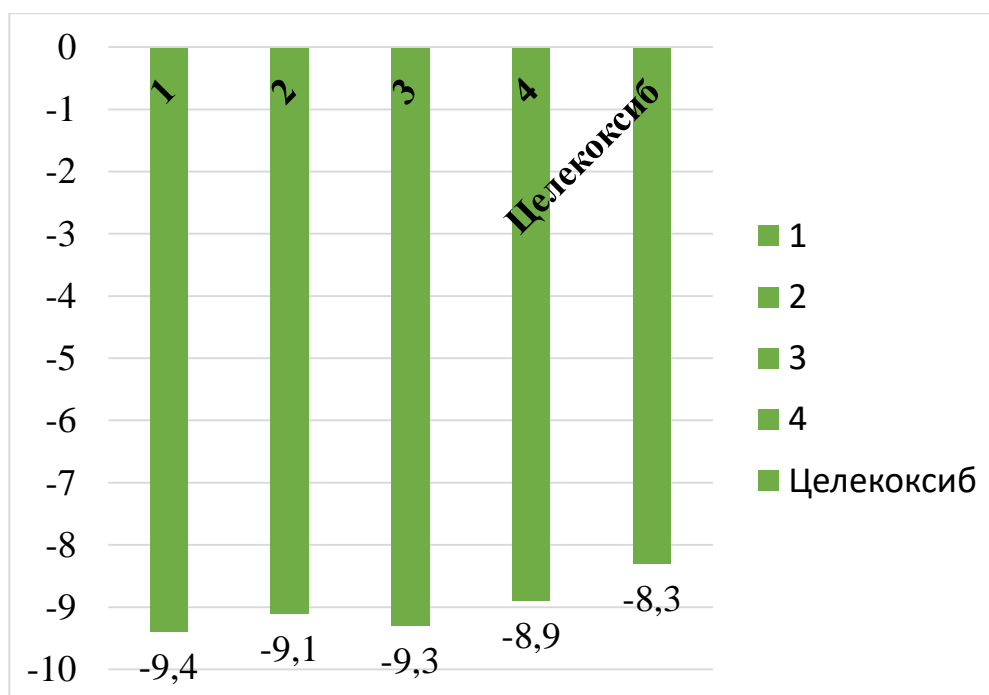


Рис. 3.7. Значення скорингових функцій (Affinity DG) для кращих конформаційних положень досліджуваних речовин і Целекоксибу

Одержані оціночні функції протестованих сполук перевищували препарат порівняння. Інгібуюча активність протестованих молекул відносно Цог2 може бути реалізована шляхом утворення між ними комплексів, стійкість яких можлива за рахунок енергетично сприятливого геометричного розташування лігандів в активному сайті обраного ферменту. Таким чином, термодинамічна ймовірність такого зв'язування підтверджується від'ємними значеннями скорингових функцій (Affinity DG, kcal/mol).

Також проведений детальний аналіз геометричного розташування похідних в активному сайті ферменту Цог-2. На рис 3.8 і 3.9 наведені діаграма міжмолекулярних взаємодій та суперпозиція сполуки лідера *1* (Affinity DG – - 9.4, kcal/mol) в комплексі з ферментом.

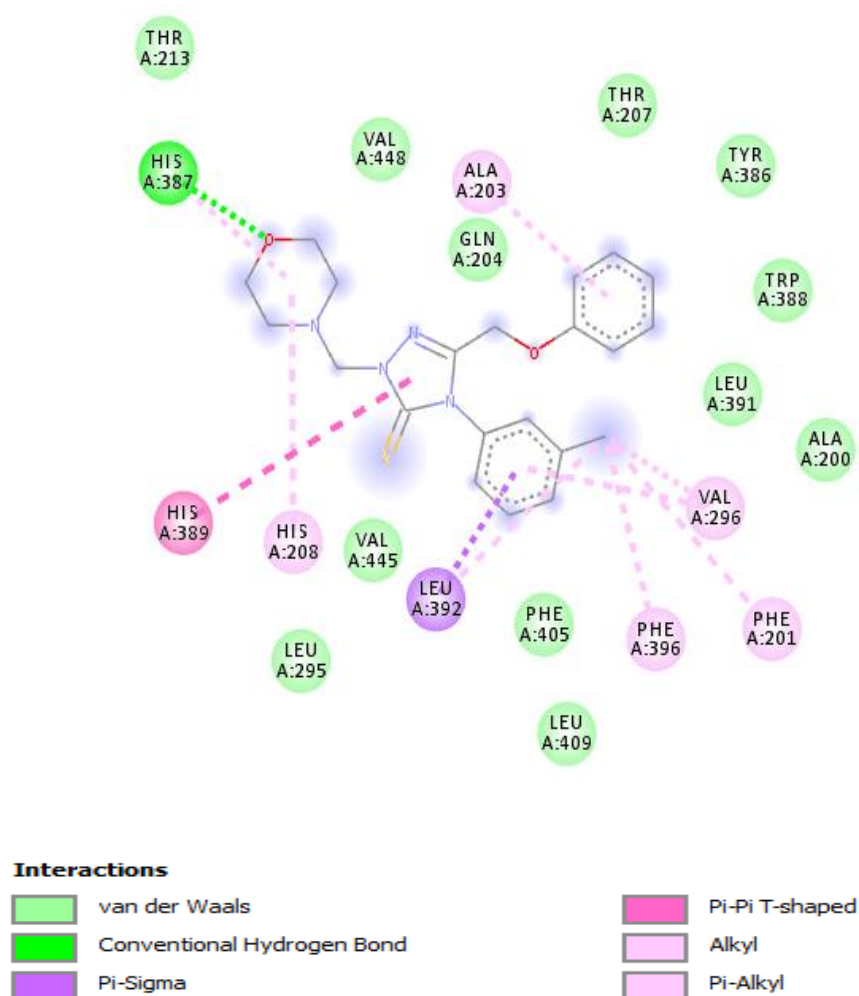


Рис. 3.8. Діаграма міжмолекулярних взаємодій сполуки лідера *1* в комплексі з ферментом ЦОГ-2 (PDB ID: 5JW1)

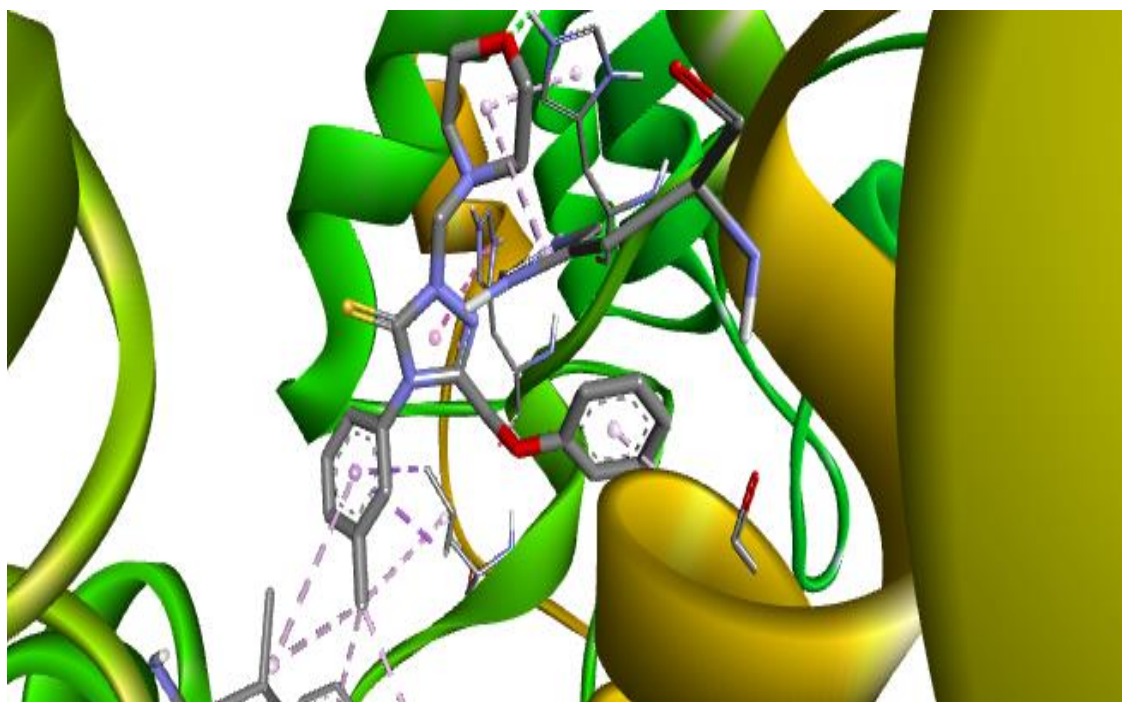


Рис. 3.9. Суперпозиція сполуки лідера 1 в комплексі з ферментом ЦОГ-2 (PDB ID: 5JW1)

З огляду на детальний аналіз розташування в активному центрі досліджуваної мішені, утворення між ними цілого ряду міжмолекулярних взаємодій, від'ємних значень скорингових функцій, які за абсолютними значеннями перевищували Целекоксиб, можна зробити висновок, що протестовані молекули мають аффінітет до ЦОГ-2.

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3

1. Прогнозування гострої токсичності, фармакологічних та побічних ефектів тестованих молекул проводились за допомогою online-програм «Acute rat toxicity prediction» програмного пакету GUSAR, «All Activities» та «Adverse Effects and Toxicity» програмного пакету PASS.
2. Генеровані піперидино- та морфоліновмісні 3-[(R-фенокс)метил]-4-(R-феніл)-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-5-тіони за результатами прогнозування токсичності при внутрішньочеревному та пероральному шляху введення виявились нетоксичними або малотоксичними (4 та 5 клас токсичності за класифікацією ОЕСД), а при внутрішньовенному та підшкірному шляху введенні тільки дві сполуки віднесено до 3 класу токсичності.
3. За результатами порівняння прогнозованих значень LD_{50} обраних сполук можна зробити висновок, що сполуки **1, 2, 3 та 4** ймовірно не є токсичними, а сполуки **5, 6** - токсичні, тому їх ми виключили з об'єктів подальших *in silico* досліджень.
4. За результатами прогнозування спектру фармакологічних та побічних ефектів протестованих сполук були одержані високі показники аналгетичної активності при мінімальних значеннях токсичності та побічної седативної дії, що стало основою для подальшої молекулярної стиковки з відповідними біологічними мішенями, які лежать в основі виникнення запалення та болю.
5. Для молекулярного докінгу було використано програмний пакет Autodock 4.2. В якості біомішені була обрана кристалографічна модель циклооксигенази-2 спів кристалізована з Целекоксибом з Protein data bank (PDB ID: 5JW1)
6. З огляду на детальний аналіз розташування в активному центрі досліджуваної мішені, утворення між ними цілого ряду міжмолекулярних взаємодій, від'ємних значень скорингових функцій, які за абсолютними значеннями перевищували Целекоксиб, можна зробити висновок, що протестовані молекули мають аффінітет до ЦОГ-2.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Систематизовано, проаналізовано та узагальнено літературні дані щодо сучасних досліджень основ Манніха та похідних 1,2,4-тріазолу. Зважаючи на досить широку сферу застосування цих похідних подальші дослідження є досить актуальними, адже вони допоможуть в подальшому цілеспрямованому створенні нових препаратів.
2. Об'єктами докінгових досліджень було обрано піперидино- та морфоліновмісні 3-[(R-фенокси)метил]-4-(R-феніл)-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-5-тіони.
3. Вибір комп'ютерних технологій обумовлений широким спектром можливостей для досліджень, а саме: включає обчислювальну ідентифікацію потенційних мішеней, віртуальний скринінг великих бібліотек хімічних речовин на наявність ефективних кандидатів у ліки, подальшу оптимізацію сполук-кандидатів та оцінку їх потенційної активності і токсичності.
4. Прогнозування гострої токсичності, фармакологічних та побічних ефектів тестованих молекул проводились за допомогою online-програм «Acute rat toxicity prediction» програмного пакету GUSAR, «All Activities» та «Adverse Effects and Toxicity» програмного пакету PASS.
5. Генеровані піперидино- та морфоліновмісні 3-[(R-фенокси)метил]-4-(R-феніл)-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-5-тіони за результатами прогнозування токсичності при внутрішньочеревному та пероральному шляху введення виявились нетоксичними або малотоксичними (4 та 5 клас токсичності за класифікацією ОЕСД), а при внутрішньовенному та підшкірному шляху введенні тільки дві сполуки віднесено до 3 класу токсичності.
6. За результатами порівняння прогнозованих значень LD₅₀ обраних сполук можна зробити висновок, що сполуки **1, 2, 3 та 4** ймовірно не є токсичними, а сполуки **5, 6** - токсичні, тому їх ми виключили з об'єктів подальших *in silico* досліджень.

7. За результатами прогнозування спектру фармакологічних та побічних ефектів протестованих сполук були одержані високі показники аналгетичної активності при мінімальних значеннях токсичності та побічної седативної дії, що стало основою для подальшої молекулярної стиковки з відповідними біологічними мішенями, які лежать в основі виникнення запалення та болю.
8. Для молекулярного докінгу було використано програмний пакет Autodock 4.2. В якості біомішені була обрана кристалографічна модель циклооксигенази-2 спів кристалізована з Целекоксибом з Protein data bank (PDB ID: 5JW1)
9. З огляду на детальний аналіз розташування в активному центрі досліджуваної мішені, утворення між ними цілого ряду міжмолекулярних взаємодій, від'ємних значень скорингових функцій, які за абсолютними значеннями перевищували Целекоксиб, можна зробити висновок, що протестовані молекули мають аффінітет до ЦОГ-2.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Roman Gh. Mannich bases in medicinal chemistry and drug design *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015. 7. P. 743-816.
2. Wang B.L. Synthesis and Fungicidal Activities of Novel 1,2,4-Triazole Thione Derivatives Containing 1,2,3-Triazole and Substituted Piperazine Moieties, Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements. 2016. P. 1-7.
3. Koparir M. Synthesis and biological activities of some novel aminomethyl derivatives of 4-substituted-5-(2-thienyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thiones. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013. P. 340-346.
4. Avci A., Hayrännisa T. Synthesis, characterization, and in vivo pharmacological evaluation of novel mannich bases derived from 1,2,4-triazole containing a naproxen moiety. *Bioorganic Chemistry*, 2020. 1, (Cover date: July 2020).
5. Mannich Bases: Centrality in Cytotoxic Drug Design / N.V. Bhilare, V.S. Marulkar, P.J. Shirote et al. *Med Chem*. 2022. 18(7). P. 735-756.
6. Novel Mannich bases of ciprofloxacin with improved physicochemical properties, antibacterial, anticancer activities and caspase-3 mediated apoptosis / M. A. Islam, M. Muhamad, A. M. Soad et al. *Bioorganic Chemistry* 7 January 2021(Cover date: February 2021).
7. Roman G. Anticancer Activity of Mannich Bases: A Review of Recent Literature. *ChemMedChem*. 2022 Aug 17.
8. Tret'yakova E. V. Synthesis and evaluation of diterpenic Mannich bases as antiviral agents against influenza A and SARS-CoV-2. *Phytochemistry Letters*. 2 August 2022. P. 91-96.
9. Popiołek Ł. Synthesis and evaluation of antimicrobial properties of new Mannich bases of 4,5-disubstituted-1,2,4-triazole-3-thiones. *Elements*. 2017. P. 880-885.
10. Wang B.L., Zhang L.Y. Synthesis, biological activities and SAR studies of new 3-substitutedphenyl-4-substitutedbenzylideneamino-1,2,4-triazole

Mannich bases and bis-Mannich bases as ketol-acid reductoisomerase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 15 December 2017. P. 5457-5462.

11. Synthesis, design, and assessment of novel morpholine-derived Mannich bases as multifunctional agents for the potential enzyme inhibitory properties including docking study / Boy S., Türkan F., Beytur M. et al. *Bioorganic Chemistry*. 3 December 2020 (Cover date: February 2021).

12. Geterociklični-spoluki [online]. Available from URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3270/geterociklični-spoluki>

13. Крап'як В.В., Обушак М.Д. Хімія гетероциклічних сполук. Львів 2010. С. 209–210.

14. Akter M, Rupa K, Anbarasan P. 1,2,3-Triazole and Its Analogues: New Surrogates for Diazo Compounds. *Chem Rev*. 2022 Aug 10. P. 122(15):13108-13205.

15. Aggarwal R., Sumran G. An insight on medicinal attributes of 1,2,4-triazoles. *Eur J Med Chem*. 2020 Nov 1. P. 205:112652.

16. Gupta O., Pradhan T., Chawla G. An updated review on diverse range of biological activities of 1,2,4-triazole derivatives: Insight into structure activity relationship. *Journal of Molecular Structure*. 6 November 2022. Volume 1274, Part 2 (Cover date: 15 February 2023).

17. Pachuta-Stec A. Antioxidant Activity of 1,2,4-Triazole and its Derivatives. *Med Chem*. 2022. P. 22(7):1081-1094.

18. Cao Y., Future L.H. Advances in the application of 1,2,4-triazole-containing hybrids as anti-tuberculosis agents. *Med Chem*. 2021 Dec. P. 13(23):2107-2124.

19. Kumar K. Synthetic and Medicinal Perspective of 1,2,4-Triazole as Anticancer Agents. *Rathod. Chem Biodivers*. 2022 Nov. 19(11):e202200679

20. Antibacterial activity study of 1,2,4-triazole derivatives / Gao F, Wang T, Xiao J. et al. *Med Chem*. 2019 Jul 1. P. 173:274-281.

21. Küçükgülzel Ş.G., Çıkla-Süzgün P. Recent advances bioactive 1,2,4-triazole-3-thiones. *Eur J Med Chem*. 2015 Jun 5. P. 97:830-70.

22. Abdelli A., Azzouni S., Prim D. Recent advances in the chemistry of 1,2,4-triazoles: Synthesis, reactivity and biological activities. *Tetrahedron Letters*. 5 November 2021. Volume 86.
23. Trazodonum [online]. Available from URL: <https://compendium.com.ua/uk/akt/84/631/trazodonum/>
24. Wichniak A, Wierzbicka A.E., Jarema M.P. Treatment of insomnia - effect of trazodone and hypnotics on sleep. 2021 Aug 31. P. 55(4):743-755.
25. Khouzam H.R. A review of trazodone use in psychiatric and medical conditions. *Postgrad Med*. 2017 Jan. P. 129(1):140-148.
26. A Review of Alprazolam Use, Misuse, and Withdrawal / Ait-Daoud N., Hamby A.S., Sharma S. et al. *Addict Med*. 2018 Jan/Feb. P. 12(1):4-10.
27. Alprazolam [online]. Available from URL: <https://compendium.com.ua/dec/564592/>
28. Bellmann R, Smuszkiewicz P. Pharmacokinetics of antifungal drugs: practical implications for optimized treatment of patients. *Infection*. 2017 Dec. P. 45(6):737-779.
29. Partha S.L., Widodo W., Endraswari. Evaluation of fluconazole, itraconazole, and voriconazole activity on *Candida albicans*: A case control study. *Annals of Medicine and Surgery*. 11 November 2022. Volume 84.
30. Story K, Curr S.R. Fluconazole Prophylaxis in Prevention of Symptomatic *Candida* Vaginitis. *Infect Dis Rep*. 2020 Jan 21. P. 22(1):2.
31. Fluconazole [online]. Available from URL: <https://compendium.com.ua/akt/70/2702/fluconazolium/>
32. Itraconazole [online]. Available from URL: <https://compendium.com.ua/akt/73/3113/itraconazolium/>
33. Li C.L., Fang Z.X., Liu J. Repurposed itraconazole for use in the treatment of malignancies as a promising therapeutic strategy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 30 August 2022.

34. Grisolia J.G., Rosalen P.L., Burger E. Itraconazole and neutrophil interactions in the immune-inflammatory response of paracoccidioidomycosis using a murine air pouch infection model. *Life Sciences*. 5 January 2023.
35. Repurposed itraconazole for use in the treatment of malignancies as a promising therapeutic strategy / Li C.L., Fang Z.X., Wu Z. et al. *J.Biomed Pharmacother*. 2022 Oct. P. 154:113616.
36. Ribavirin [online]. Available from URL: <https://compendium.com.ua/akt/82/2831/ribavirinum/>
37. Ribavirin: Past, present and future / Loustaud-Ratti V., Debette-Gratien M., Jacques J. et al. *World J Hepatol*. 2016 Jan 18. P. 8(2):123-30.
38. The Use of Ribavirin as an Anticancer Therapeutic: Will It Go Viral? / Mol Cancer Ther. Casaos J., Gorelick N.L., Huq S. et al. 2019 Jul. P. 18(7):1185-1194.
39. Letrozole [online]. Available from URL: <https://compendium.com.ua/akt/76/55/letrozolum/>
40. Yang A.M., Cui N., Sun Y.F. Letrozole for Female Infertility. *Hao GM. Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021 Jun 16. P. 12:676133.
41. Letrozole: Pharmacology, toxicity and potential therapeutic effects / Mukherjee A.G., Wanjari U.R., Nagarajan D. et al. *Life Sci*. 2022 Dec 1. P. 310:121074.
42. Rizatriptanum [online]. Available from URL: <https://compendium.com.ua/akt/82/49/rizatriptanum/>
43. Marmura M.J., Silberstein S.D., Schwedt T. The acute treatment of migraine in adults: the american headache society evidence assessment of migraine pharmacotherapies. *J.Headache*. 2015 Jan. P. 55(1):3-20.
44. Becker W. Acute Migraine Treatment in Adults. *J.Headache*. 2015 Jun. P. 55(6):778-93.
45. Tolan H. E., Fahim A.M., Ismael E.H. Synthesis, biological activities, molecular docking, theoretical calculations of some 1,3,4-oxadiazoles, 1,2,4-

triazoles, and 1,2,4-triazolo[3,4-b]-1,3,4-thiadiazines derivatives. Journal of Molecular Structure. 27 February 2023.

46. Wang D., Wan X., Deng G.J. Facile Synthesis of Fully Substituted 1,2,4-Triazoles via [3+2] Cycloaddition of Nitrileimines with Amidine under Transition Metal-Free Conditions. Asian Journal of Organic Chemistry. 13 January 2023.

47. Zhang Y., Zeng J.L., Wang R. Base-Promoted (3 + 2) Cycloaddition of Trifluoroacetohydrazonoyl Chlorides with Imidates En Route to Trifluoromethyl-1,2,4-Triazoles. The Journal of Organic Chemistry. 4 November 2022

48. Synthesis methods of 1,2,3-/1,2,4-triazoles / Dai J., Tian S., Yang X. et al. 2022 Sep 26.

49. Yu X.-Y., Xiao W.-J. Synthesis of trisubstituted 1, 2, 4-triazoles from azlactones and aryldiazonium salts by a cycloaddition/decarboxylation cascade. Eur. J. Org. Chem. P. 6994–6998.

50. Xia J., Huang X., Cai M. Heterogeneous copper(I)-Catalyzed cascade addition–oxidative cyclization of nitriles with 2-aminopyridines or amidines: Efficient and practical synthesis of 1, 2, 4-triazoles. Synthesis 51. 2014–2022.

51. . Copper(I)-Catalyzed three-component click/alkynylation: One-pot synthesis of 5-alkynyl-1, 2, 3-triazoles / Wang W., Wei F., Ma Y. et al. 10.1021. P. 18, 4158–4161.

52. *In silico* molecular docking in DNA aptamer development / Navien T.N., Thevendran R., Hamdani H.Y. et al. Biochemie. 2021 Jan;180:54-67.

53. *In silico* methods and tools for drug discovery / Shaker B., Ahmad S., Lee J. et al. Comput Biol Med. 2021 Oct. P. 137:104851.

54. Pinzi L, Rastelli G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. Int J Mol Sci. 2019 Sep 4. P. 20(18):4331.

55. Molecular docking and structure-based drug design strategies / Ferreira L.G., Dos Santos R.N., Oliva G. et al. Molecules. 2015 Jul 22. P. 20(7):13384-421.

56. Saikia S., Bordoloi M. Molecular Docking: Challenges, Advances and its Use in Drug Discovery Perspective. *Curr Drug Targets*. 2019. P. 20(5):501-521.
57. Molecular Docking in Formulation and Development / Kaur T., Madgulkar A., Bhalekar M. et al. *Curr Drug Discov Technol*. 2019. P. 16(1):30-39.
58. Network pharmacology prediction and molecular docking-based strategy to explore the potential mechanism of Huanglian Jiedu Decoction against sepsis / Li X., Wei S., Niu S. et al. *Comput Biol Med*. 2022 May. P. 144:105389.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А



Міністерство
охорони здоров'я
України

Національний
фармацевтичний
університет



СЕРТИФІКАТ

Цим засвідчується, що

Остапенко П. Ю.
Науковий керівник:
Сулейман М. М.

брав(ла) участь у роботі III Всеукраїнської
науково-практичної конференції
з міжнародною участю

**YOUTH
PHARMACY
SCIENCE**

Ректор НФаУ,
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

7-8 грудня 2022 р.
м. Харків
Україна



Міністерство
охорони здоров'я
України

Національний
фармацевтичний
університет

**ДИПЛОМ
II СТУПЕНЯ**

нагороджується

**Остапенко
Поліна**

у секційному засіданні студентського
наукового товариства кафедри
медичної хімії

III Всеукраїнська науково-практична
конференція з міжнародною участю

**YOUTH
PHARMACY
SCIENCE**



Ректор НФаУ,
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

7-8 грудня 2022 р.,
м. Харків, Україна

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

YOUTH PHARMACY SCIENCE

МАТЕРІАЛИ
III ВСЕУКРАЇНСЬКОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ

7-8 грудня 2022 року
м. Харків

Харків
НФаУ
2022

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ А
ВИКОРИСТАННЯ *IN SILICO* МЕТОДІВ ДЛЯ ОПТИМІЗАЦІЇ
ФАРМАКОЛОГІЧНОГО СКРИНІНГУ НОВИХ ПІПЕРИДИНО- ТА
МОРФОЛІНОВІСНИХ ОСНОВ МАННІХА В РЯДУ ЗАМІЩЕНИХ 4,5-ДИГІДРО-
1Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-ТІОНІВ

Остапенко П.Ю.

Науковий керівник: Сулейман М.М.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

suleiman.nfau@outlook.com

Вступ. Сучасні підходи пошуку нових «лікоподібних» молекул передбачають поєднання в одній молекулі різних скафолдів, що дозволяє потенціювати бажану дію, зменшувати токсичність та зумовлюють появу нових ефектів. Нами був використаний такий підхід для створення нових основ Манніха в ряду заміщених 4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіонів. Вибір базового фармакофору обумовлений тим, що похідні цього ряду володіють високою фармакологічною активністю, мають високий афінитет до біологічних мішеней, а наявність високої реакційної здатності надає змогу поєднання з іншими фармакофорами для створення нових хімічних структур. Модифікація 4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіонового каркасу морфоліновим або піперидиновим залишком може суттєво впливати на фізико-хімічні властивості майбутніх кандидатів, що в кінцевому підсумку впливає на їх безпековий та фармакодинамічний профіль.

Віртуальний скринінг сьогодні вже увійшов до методичного арсеналу при розробці нових біологічно активних сполук і забезпечує альтернативний підхід для скринінгу сполук з маленькими витратами часу та коштів. *In silico* методи можуть прогнозувати не тільки певний вид активності, але й надати рекомендації щодо доцільності проведення експериментального скринінгу та раціонального дизайну нових кандидатів у ліки.

Мета дослідження. Використання *in silico* методів для оптимізації фармакологічного скринінгу нових піперидино- та морфоліновмісних основ Манніха в ряду заміщених 4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіонів

Матеріали та методи. Генерація об'єктів дослідження для віртуального скринінгу проводилась за допомогою програми Marvin Sketch 20.5. Прогнозування гострої токсичності, фармакологічних та побічних ефектів тестованих молекул проводились на веб-сервісі Way2Drug за допомогою online-програм «Acute rat toxicity prediction» програмного пакету GUSAR, «All Activities» та «Adverse Effects and Toxicity» програмного пакету PASS. Для рецепторно-орієнтованого гнучкого докінгу був використаний пакет програм Autodock 4.2.

Результати дослідження. Згенеровані піперидино- та морфоліновмісні 3-[(R-фенокси)метил]-4-(R-феніл)-4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіони за результатами прогнозування токсичності при внутрішньочеревному та пероральному шляху введення виявились нетоксичними або малотоксичними (4 та 5 клас токсичності за класифікацією ОЕСД), а при внутрішньовенному та підшкірному шляху введенні тільки дві сполуки віднесено до 3 класу токсичності, тому їх було виключено з подальших *in silico* досліджень. За результатами прогнозування спектру фармакологічних та побічних ефектів тестованих сполук були одержані високі показники анальгетичної активності при

ПРОДОВЖЕННЯ ДОДАТКУ А

мінімальних значеннях токсичності та побічної седативної дії. Тому цей напрямок виявився доцільним для подальшої молекулярної стиковки з відповідними біологічними мішенями, які лежать в основі виникнення запалення та болю. За результатами молекулярного докінгу були обчислені скорингові функції обраних молекул відносно ферменту ЦОГ-2 (PDB:ID 5JW1) Affinity DG від -8.9 до -9.4 kcal/mol. Одержані оціночні функції тестованих сполук перевищували препарат порівняння Целекоксиб, який був співкристалізований з кристалографічною моделлю пептиду. На рис. 1 показана візуалізація молекулярної стиковки сполуки лідера відносно ЦОГ-2 (PDB:ID 5JW1).

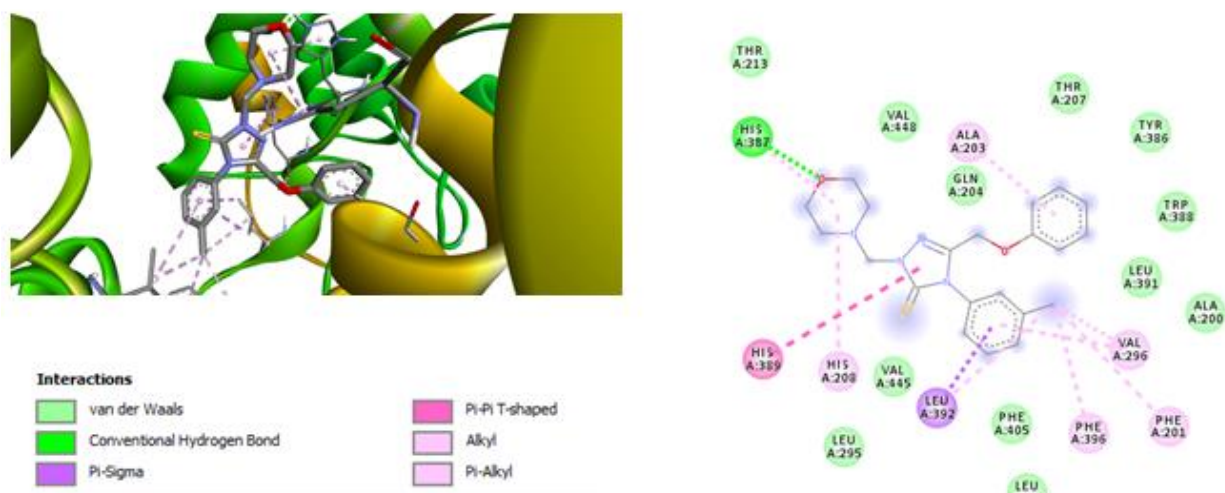


Рис. 1. Візуалізація молекулярної стиковки сполуки лідера відносно ЦОГ-2 (PDB:ID 5JW1)

Висновки. Результати комп'ютерного моделювання *in silico* ймовірних токсикологічних, фармакологічних властивостей та молекулярної стиковки нових основ Манніха свідчать, що 4 з 6 обраних основ Манніха доцільно синтезувати і піддати фармакологічному скринінгу на наявність протизапальної та анальгетичної активності.

Національний фармацевтичний університет

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

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувачка кафедри
медичної хімії

Ліна ПЕРЕХОДА
« 22 » серпня 2022 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ

Поліни КРИВОРУЧКО

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Використання *in silico* методів для оптимізації фармакологічного скринінгу нових піперидино- та морфоліновмісних основ Манніха в ряду заміщених 4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-5-тіонів»
керівник кваліфікаційної роботи: Маргарита СУЛЕЙМАН, к.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: використання *in silico* методів прогнозування активності, токсичності та методології зв'язування ліганд-мішень (молекулярного докінгу) для оптимізації фармакологічного скринінгу нових піперидино- та морфоліновмісних основ Манніха в ряду заміщених 4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-5-тіонів.
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): спрогнозувати клас токсичності за різних шляхів введення; спрогнозувати перспективний напрямок фармакологічного скринінгу; провести молекулярний докінг перспективних сполук до відповідної біологічної мішені згідно обраного напрямку; обрати сполуки з оптимальними значеннями молекулярної стиковки, токсикологічними, фармакологічними властивостями, які доцільно синтезувати і провести фармакологічні дослідження.
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): схем – 1 таблиць – 4, рисунків – 32.

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Маргарита СУЛЕЙМАН, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії	Вересень 2022	Вересень 2022
2	Маргарита СУЛЕЙМАН, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії	Листопад 2022	Листопад 2022
3	Маргарита СУЛЕЙМАН, доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії	Січень 2023	Січень 2023

7. Дата видачі завдання: « 22 » серпня 2022 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1	Теоретичне обґрунтування пошуку нових основ Манніха, що містять каркаси піперидину, морфоліну та заміщенні 1,2,4-тріазол-5-тіони (огляд літератури) Написання розділу 1	Вересень-жовтень 2022	виконано
2	Теоретичне обґрунтування вибору об'єктів та методів дослідження. Проектування дизайну роботи. Написання розділу 2	Листопад – грудень 2022	виконано
3	Прогнозування гострої токсичності та фармакологічної активності нових згенерованих похідних	Січень 2023	виконано
4	Докінгові дослідження можливої протизапальної дії досліджуваних основ з оптимальними прогнозованими фармакологічними та токсикологічними параметрами. Написання розділу 3.	Лютий-березень 2023	виконано
5	Оформлення кваліфікаційної роботи і надання в Екзаменаційну комісію.	Квітень 2023	виконано

Здобувач вищої освіти

_____ Поліна КРИВОРУЧКО

Керівник кваліфікаційної роботи

_____ Маргарита СУЛЕЙМАН

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.	Криворучко Поліна Юріївна	Використання <i>in silico</i> методів для оптимізації фармакологічного скринінгу нових піперидино- та морфоліновмісних основ Манніха в ряду заміщених 4,5-дигідро-1 <i>H</i> -1,2,4-тріазол-5-тіонів	Use of <i>in silico</i> methods to optimize the pharmacological screening of new piperidino- and morpholine-containing Mannich bases in the series of substituted 4,5-dihydro-1 <i>H</i> -1,2,4-triazole-5-thiones	доц. Сулейман М. М.	доц. Северіна Г. І.

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

Вірно: пров. фахівець деканату
Фоменко

Н. В.

ВИСНОВОК

**Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу
щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі
здобувача вищої освіти**

№ 112620 від «26» квітня 2023 р.

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Криворучко (Остапенко) Поліни Юріївни, 5 курсу, _____ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Використання *in silico* методів для оптимізації фармакологічного скринінгу нових піперидино- та морфоліновмісних основ Манніха в ряду заміщених 4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-5-тіонів / Use of *in silico* methods to optimize the pharmacological screening of new piperidino- and morpholinecontaining Mannich bases in the series of substituted 4,5-dihydro-1*H*-1,2,4-triazole-5-thiones», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копіляції).

**Голова комісії,
професор**



Інна ВЛАДИМИРОВА

4%

24%

ВІДГУК

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

Поліни КРИВОРУЧКО

на тему: «Використання *in silico* методів для оптимізації
фармакологічного скринінгу нових піперидино- та морфоліновмісних
основ Манніха в ряду заміщених 4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіонів».

Актуальність теми. Сучасні підходи пошуку нових активних молекул передбачають поєднання в одній молекулі різних фармакофорів. Такий підхід дозволяє потенціювати бажану дію, зменшувати токсичність та спрогнозувати появу нових ефектів. Тому поєднання в одній структурі синтетичних матриць 4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіонів, морфолінового та піперидинового каркасів безперечно призведе до прояву фармакологічної дії та появи аффінітету до відповідних мішеней. Така модифікація може суттєво впливати на фізико-хімічні властивості майбутніх кандидатів, що в кінцевому підсумку впливає на їх безпековий та фармакодинамічний профіль.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. За результатами прогнозування спектру фармакологічних та побічних ефектів тестованих сполук були одержані досить прийнятні показники аналгетичної активності при мінімальних значеннях токсичності, а саме побічної седативної дії. Тому цей напрямок виявився доцільним для подальшої молекулярної стиковки з відповідними біологічними мішенями, які лежать в основі виникнення запалення та болю, за результатами яких встановлено високу спорідненість до ЦОГ-2. Результати дослідження можуть бути використані при подальшому цілеспрямованому пошуку активних молекул цього ряду та експериментального скринінгу щодо встановленого ефекту.

Оцінка роботи. Робота виконана на високому науковому рівні, одержані результати надійні, висновки логічні та обґрунтовані. Загальна оцінка роботи є позитивною.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту. Кваліфікаційна робота Поліни КРИВОРУЧКО за актуальністю та об'ємом виконаних досліджень, теоретичним та практичним значенням відповідає вимогам, що висуваються до кваліфікаційних робіт та може бути рекомендована до захисту в Екзаменаційній комісії.

Науковий керівник _____ Маргарита СУЛЕЙМАН
«07» квітня 2023 р.

РЕЦЕНЗІЯ

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

Поліни КРИВОРУЧКО

**на тему: «Використання *in silico* методів для оптимізації
фармакологічного скринінгу нових піперидино- та морфоліновмісних
основ Манніха в ряду заміщених 4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіонів».**

Актуальність теми. Модифікація 4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіонового каркасу морфоліновим або піперидиновим залишком може суттєво впливати на фізико-хімічні властивості майбутніх кандидатів, що в кінцевому підсумку впливає на їх безпековий та фармакодинамічний профіль. Скринінг з використання комп'ютерних технологій увійшов до методичного арсеналу при розробці нових препаратів і забезпечує альтернативний підхід для скринінгу сполук з маленькими витратами коштів, часу та лабораторних тварин. *In silico* методи можуть спрогнозувати не тільки певний вид активності, але й надати рекомендації щодо доцільності проведення експериментального скринінгу та синтетичних досліджень.

Теоретичний рівень роботи. Кваліфікаційна робота складається зі вступної частини, огляду літератури, розділу експериментальних досліджень. Мета і завдання дослідження сформовані чітко і спрямовані на комплексне вирішення досліджуваної проблеми. У роботі чітко інтерпретовані результати дослідження і сформульовані відповідні висновки.

Пропозиції автора з теми дослідження. За результатами *in silico* прогнозування були визначені та рекомендовані перспективні сполуки для подальших синтетичних та фармакологічних досліджень.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Результати комп'ютерного моделювання *in silico* ймовірних токсикологічних, фармакологічних властивостей та молекулярної стиковки нових основ Манніха свідчать, що 4 з 6 обраних основ Манніха доцільно синтезувати і

піддати фармакологічному скринінгу на наявність протизапальної та анальгетичної активності.

Недоліки роботи. У роботі зустрічаються невелика кількість граматичних помилок. Представлені зауваження не принципові і суттєво не впливають на наукову і практичну цінність кваліфікаційної роботи.

Загальний висновок і оцінка роботи. Кваліфікаційна робота Поліни КРИВОРУЧКО на тему: «Використання *in silico* методів для оптимізації фармакологічного скринінгу нових піперидино- та морфоліновмісних основ Манніха в ряду заміщених 4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-5-тіонів» може бути рекомендована до офіційного захисту у Екзаменаційній комісії Національного фармацевтичного університету а її автор заслуговує на високу оцінку.

Рецензент _____

доц. Ганна СЕВЕРІНА

«14» квітня 2023 р.

ВИТЯГ

з протоколу засідання кафедри медичної хімії

№ 10 від 21 квітня 2023 р.

ПРИСУТНІ:

проф. Ліна ПЕРЕХОДА, проф. Андрій ФЕДОСОВ, доц. Вадим ЗУБКОВ, доц. Ірина СИЧ, доц. Віталій ЯРЕМЕНКО, доц. Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ, доц. Наталія КОБЗАР, доц. Марина РАХІМОВА, доц. Маргарита СУЛЕЙМАН, ас. Олена БЕВЗ, ас. Ольга ВІСЛОУС

ПОРЯДОК ДЕННИЙ:

Звіт про стан виконання кваліфікаційної роботи здобувача вищої освіти фармацевтичного факультету, Фс18(5,0д)-06 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Поліни КРИВОРУЧКО на тему: «Використання *in silico* методів для оптимізації фармакологічного скринінгу нових піперидино- та морфоліновмісних основ Манніха в ряду заміщених 4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіонів»

СЛУХАЛИ: доповідь здобувача вищої освіти фармацевтичного факультету, Фс18(5,0д)-06 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Поліни КРИВОРУЧКО на тему: «Використання *in silico* методів для оптимізації фармакологічного скринінгу нових піперидино- та морфоліновмісних основ Манніха в ряду заміщених 4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіонів», керівник – доцент закладу вищої освіти кафедри медичної хімії, к.фарм.н., доцент Маргарита СУЛЕЙМАН.

УХВАЛИЛИ: рекомендувати кваліфікаційну роботу Поліни КРИВОРУЧКО до офіційного захисту в Екзаменаційній комісії.

**Завідувачка кафедри медичної хімії,
професор**

Ліна ПЕРЕХОДА

**Секретар кафедри медичної хімії,
доцент**

Марина РАХІМОВА

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ПОДАННЯ ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Направляється здобувач вищої освіти Поліна КРИВОРУЧКО до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «Використання *in silico* методів для оптимізації фармакологічного скринінгу нових піперидино- та морфоліновмісних основ Манніха в ряду заміщених 4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-5-тіонів»

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Микола ГОЛІК /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Поліна КРИВОРУЧКО у повному обсязі виконала кваліфікаційну роботу. За актуальністю, теоретичним, практичним та науковим значенням, об'ємом виконаних досліджень кваліфікаційна робота відповідає вимогам і допускається до захисту в Екзаменаційній комісії.

Керівник кваліфікаційної роботи

_____ / Маргарита СУЛЕЙМАН

«07» квітня 2023 р.

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

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

Завідувачка кафедри
медичної хімії

_____ / Ліна ПЕРЕХОДА

«21» квітня 2023 року

Кваліфікаційну роботу захищено

у Екзаменаційній комісії

«15» червня 2023 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії,

доктор фармацевтичних наук, професор

_____ /Лена ДАВТЯН/