

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
факультет по подготовке иностранных граждан
кафедра медицинской химии**

КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

на тему: **«ОПТИМИЗАЦИЯ ПОИСКА НОВЫХ
ПРОТИВОМИКРОБНЫХ СРЕДСТВ ФТОРХИНОЛОНОВОГО РЯДА»**

Выполнил: соискатель высшего образования группы
Фм18(5,0д)і-11

специальности: 226 Фармация, промышленная фармация
образовательной программы Фармация

Смаил ЭССАБИИ

Руководитель: доцент заведения высшего образования
кафедры медицинской химии, к.фарм.н., доц.

Маргарита СУЛЕЙМАН

Рецензент: доцент заведения высшего образования
кафедры фармацевтической химии, д.фарм.н., доц.

Анна СЕВЕРИНА

АННОТАЦИЯ

Работа посвящена оптимизации целенаправленного поиска новых антибактериальных средств на основе замещенных фторхинолонов с помощью методологии виртуальной стыковки лиганд-мишень (молекулярного докинга). Полученные данные могут оказаться полезными не только при планировании экспериментального скрининга, но и для рационального дизайна новых антибактериальных агентов этого ряда веществ. Работа состоит из введения, трех разделов, выводов, списка использованной литературы, который содержит 105 наименования. Содержание работы изложено на 52 страницах машинописного текста и содержит 2 таблицы и 24 рисунка.

Ключевые слова: фторхинолоны, противомикробная активность, ДНК-гираза, молекулярный докинг.

ANNOTATION

The work is devoted to the optimization of a targeted search for new antibacterial agents based on substituted fluoroquinolones using the methodology of virtual ligand-target docking (molecular docking). The data obtained may be useful not only in planning experimental screening, but also for the rational design of new antibacterial agents of this series of substances. The work consists of an introduction, three sections, conclusions, and a list of references, which contains 105 items. The content of the work is set out on 52 pages of typewritten text and contains 2 tables and 24 figures.

Key words: fluoroquinolones, antimicrobial activity, DNA gyrase, molecular docking

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ.....	4
РАЗДЕЛ 1. ФТОРХИНОЛОНЫ – ЭФФЕКТИВНЫЕ МОЛЕКУЛЫ ПРОТИВОМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).	7
Выводы к разделу 1.....	27
РАЗДЕЛ 2. ХАРАКТЕРИСТИКА И АРГУМЕНТАЦИЯ ВЫБОРА ОБЪЕКТОВ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.	28
2.1. Аргументация выбора объектов исследований.....	28
2.2. Молекулярный докинг эффективный инструмент для прогнозирования активности.....	30
ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 2.....	39
РАЗДЕЛ 3. ДОКИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВОМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ ФТОРХИНОЛОНОВ	40
3.1. Молекулярный докинг: расчет оценочных значений новых фторхинолонов в отношении ДНК-гиразы <i>Staphylococcus aureus</i>	44
3.2. Визуализация образованных комплексов фторхинолонов с ДНК-гирозой <i>Staphylococcus aureus</i>	44
ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 3.....	50
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	51
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	53
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	64

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Фторхинолоны зарекомендовали себя как мощные противомикробные агенты из-за широкого использования в медицине для лечения многих инфекций. Но после нескольких лет использования одного и того же фторхинолона возникает проблема развития устойчивости или резистентности микроорганизмов. Одним из направлений борьбы с резистентностью является комбинация известных молекул друг с другом, но это не дает долгосрочного эффекта, так как микроорганизмы адаптируются к структуре молекул, и как бы не комбинировали препараты – структура молекулы не меняется. Поэтому «вести в заблуждение» микроорганизм и сделать «антибиотик» эффективным против резистентных штаммов возможно только путем модификации базовых химических структур с общепринятым набором фармакофорных фрагментов. Модификация должна проходить таким образом, чтобы обойти вниманием активный фармакофор, при этом существует потенциальная возможность ввести в молекулу фторхинолона фрагмента другого «антибиотика», что может привести к активности как по отношению к резистентным штаммам бактерий, так и расширению спектра противомикробной активности за счет синергизма фармакоформных составляющих.

Целью исследования является оптимизация поиска новых противомикробных средств фторхинолонового ряда с помощью методологии виртуальной стыковки лиганд-мишень (молекулярного докинга).

Задачи исследования:

- Провести модификацию базового фторхинолонового каркаса с целью получения новых фторхинолонов.
- Обосновать выбор метода виртуальной стыковки и кристаллографической модели микробной мишени.

- Установить ингибирующую активность полученных молекул по отношению к выбранной ДНК-гиразе с помощью вычисленных скоринговых функций, свободных энергий и констант связывания.
- Провести хемо информационный анализ результатов докинга и предоставить рекомендации к рациональному дизайну новых противомикробных агентов исследуемого ряда.

Объекты исследования. фторхинолоны, противомикробная активность, ДНК-гираза, докинговые исследования.

Предмет исследования рецепторно-ориентированный гибкий молекулярный докинг.

Методы исследования. *In silico* методы: молекулярный докинг.

Элементы научных исследований. Для целенаправленного поиска новых противомикробных агентов была проведена структурная модификация базовой структуры фторхинолонового каркаса сочетанием через положение С-4 фенилсульфон. и дополнительной модификации положения С-3 ароматическими и гетероциклическими фрагментами. В результате были сгенерированы 4 новых фторхинолонов. По результатам проведенных докинговых исследований исследуемая группа производных 4-(4-R-фенилсульфонил)-3-(4-R1-бензоил)-6-фторхинолона, проявила высокий аффинитет к исследуемой ДНК гиразы *Staphylococcus aureus*. Блокирующая активность протестированных молекул в отношении ДНК-гиразы может быть реализована путем образования между ними комплексов, устойчивость которых обеспечивается за счет энергетически благоприятного геометрического расположения лигандов в активном сайте акцепторов. Как следствие, термодинамическая вероятность такого связывания подтверждается вычисленными значениями скоринговой функции (Affinity DG, kcal/mol), свободной энергии связывания EDoc (kcal/mol) и константами связывания K_i (μM). Подробный анализ геометрического расположения перспективных молекул, в активных сайтах выбранной ДНК-гиразы

обнаружил структурные фрагменты, наличие которых способствует повышению аффинитета к данной мишени. Полученные данные могут быть полезны не только при планировании экспериментального скрининга, но и для создания рекомендаций по рациональному дизайну новых противомикробных агентов исследуемого ряда.

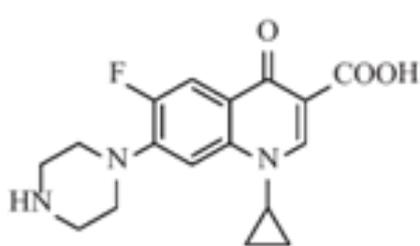
Апробация результатов исследования и публикации. Результаты исследований были представлены в виде тезисов на XXIX международной научно практической конференции молодых учёных и студентов «Актуальні питання створення нових лікарських засобів», по результатам конференции были получены Сертификат участника и Грамота за участие в секционном заседании студенческого научного общества кафедры фармацевтической химии.

Структура и объем квалификационной работы. Квалификационная работа состоит из введения, обзора литературы, раздела аналитико-исследовательской аргументации объектов и методов исследований, раздела экспериментальных исследований, выводов, списка использованной литературы. Общий объем работы составляет 52 стр. Работа иллюстрирована, 2 таблицами, 24 рисунками. Список использованной литературы включает 105 наименований.

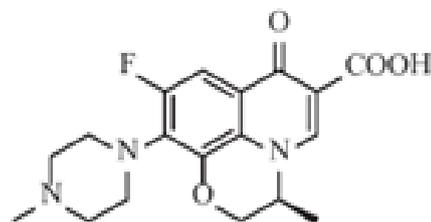
РАЗДЕЛ 1. ФТОРХИНОЛОНЫ – ЭФФЕКТИВНЫЕ МОЛЕКУЛЫ ПРОТИВОМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ).

Грамположительные (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*) и грамотрицательные (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis* и *Klebsiella pneumoniae*) являются наиболее распространенными возбудителями в общественных и больничных условиях [1,2]. Бактериальные инфекции могут вызывать широкий спектр заболеваний, включая листериоз, антракноз, инфекции мочевыводящих путей и гастроэнтерит, и примерно одна треть глобальной смертности приходится на бактериальные инфекции [3,4]. Таким образом, бактериальные инфекции представляют серьезную угрозу для здоровья человека. Антибиотикотерапия использовалась как эффективный способ лечения бактериальных инфекций, но все больше и больше устойчивых к антибиотикам бактерий стали представлять смертельную угрозу для человека из-за неправильного использования и злоупотребления антибиотиками [5,6]. Как только появляются устойчивые к антибиотикам патогены, эти организмы могут быстро распространяться по всему миру и приобретать устойчивость к дополнительным классам лекарств [7,8]. Резистентные к антибиотикам бактерии связаны с увеличением заболеваемости и смертности, и более 700 000 пациентов ежегодно умирают от резистентных инфекций из-за отсутствия эффективного лечения [9,10]. По оценкам, устойчивые к антибиотикам патогены ежегодно могут уносить 10 миллионов жизней, а совокупный ущерб для мировой экономики к 2025 году может достичь 100 триллионов долларов США [8]. Таким образом, открытие новых антибактериальных агентов играет ключевую роль в решении текущего кризиса антибиотиков. Фторхинолоны, такие как ципрофлоксацин, левофлоксацин и моксифлоксацин (рис. 1.1), могут проявлять антибактериальную активность за счет связывания с ферментами

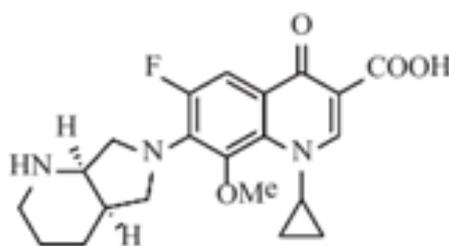
бактериальных топоизомераз типа II, ДНК-гиразой и топоизомеразой IV [11,12].



Ципрофлоксацин



Левифлоксацин



Моксифлоксацин

Рис. 1.1. Структуры известных фторхинолонов

Фторхинолоны остаются одним из наиболее важных классов антибактериальных средств для лечения различных бактериальных инфекций, включая инфекции дыхательных путей, бактериемию, гинекологические инфекции, заболевания, передающиеся половым путем, простатит, спонтанный бактериальный перитонит, инфекции мочевыводящих путей и некоторые инфекции кожи, костей, инфекции мягких тканей, а также внебольничную пневмонию [13,14]. Однако патогены уже выработали резистентность к фторхинолонам, и резистентность к этому классу антибиотиков может оказывать разнообразное, зависящее от вида воздействие на приспособленность штамма-хозяина [15,16]. В последние годы резко увеличилось количество резистентных к фторхинолонам бактерий, которые представляют большую угрозу для здоровья человека. Кроме того, некоторые фторхинолоны, такие как trovafloxacin и gatifloxacin, были исключены из клинической практики из-за их серьезных побочных эффектов. Таким образом, открытие следующей волны

фторхинолоновых антибактериальных средств с высокой эффективностью и низким уровнем побочных эффектов является жизненно важным. Целью этого обзора является описание последних достижений в области производных фторхинолонов, включая комплексы фторхинолонов с металлами, гибриды фторхинолонов и другие производные с антибактериальным потенциалом, а также обобщение зависимости структура-активность (SAR), чтобы дать представление о рациональном дизайне более активных кандидатов.

Металлоорганические комплексы обладают значительным структурным и механическим разнообразием, превосходной стабильностью, окислительно-восстановительными свойствами, низкой токсичностью и высокой эффективностью [17,18]. Исследования показали, что металлоорганические комплексы могут проявлять антибактериальную активность через окислительно-восстановительную активность, в то время как катионные комплексы переходных металлов могут вызывать окислительный стресс у бактерий и разрушать микробную клеточную мембрану [19,20]. Кроме того, включение металла во фторхинолоны является жизненно важным процессом для проявления антибактериальной эффективности. Соответственно, интеркаляция ионов металлов во фторхинолоновый фрагмент является одной из многообещающих стратегий разработки новых антибактериальных кандидатов с высокой безопасностью и эффективностью. Четыре комплекса спарфлоксацина с триорганотином (IV) 1 (рис. 1.2); минимальная ингибирующая концентрация/МИК: 0,062–2,0 мг/мл) проявляли значительную антибактериальную активность в отношении двух грамположительных бактерий (*S. aureus* и *E. faecalis*) и пяти грамотрицательных бактерий (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* и *A. baumannii*), а активность была на уровне или превосходила активность спарфлоксацина (МИК: 0,5–1,0 мг/мл), особенно в отношении *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* и *P. mirabilis* (МИК: 0,062–0,125 мг/мл для комплексов 1) [21,22]. SAR показал, что линейная алкильная группа и

фенил были благоприятными для активности, в то время как циклоалкильная группа снижала активность. Аналогичная тенденция наблюдалась и для ципрофлоксацин триоловоорганических (IV) комплексов 2 (МИК: 0,062–2,0 мг/мл), (МИК: 0,062–0,5 мг/мл), (МИК: 0,062–0,5 мг/мл) их активность была в 2–8 раз выше, чем активность комплекса ципрофлоксацина (МИК: 0,5–1,0 мг/мл) в отношении большинства исследованных патогенов [23].

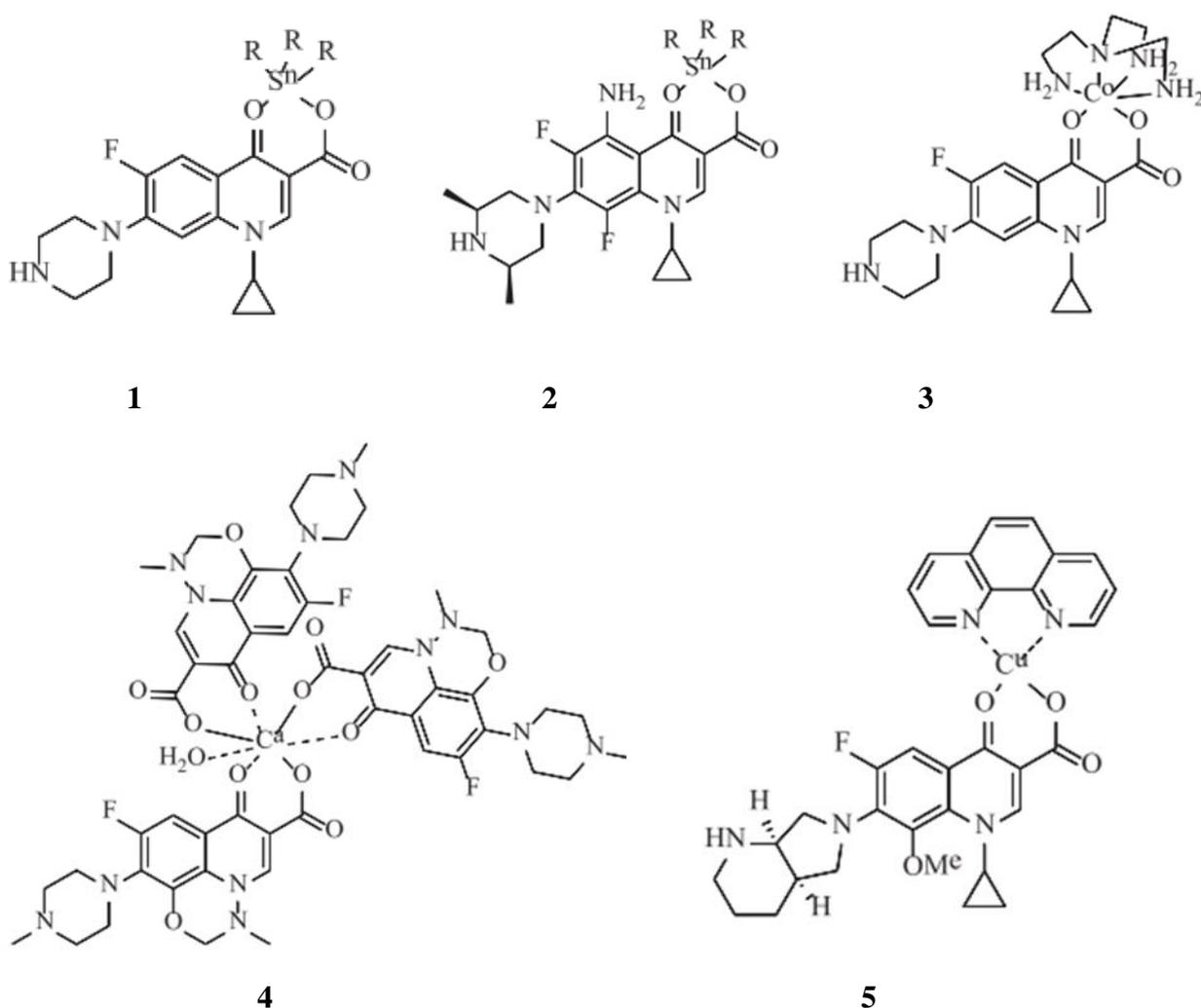


Рис. 1.2. Металлоорганические комплексы фторхинолонов

Комплексы энрофлоксацин/левофлоксацин/ципрофлоксацин/норфлоксацин/ломефлоксацин/спарфлоксацин/моксифлоксацин меди (II) не уступали свободным исходным препаратам как в отношении грамположительных, так и грамотрицательных бактерий [24–30]. Среди них комплекс энрофлоксацина меди (II) (МИК: 0,031–0,25 мг/мл)

продemonстрировал превосходную антибактериальную активность *in vitro* против ряда типичных патогенов (*P. vulgaris*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* и *S. typhi*), а активность была на том же уровне, что и у энрофлоксацина (МИК: 0,031–0,25 мг/мл) [24]. Исследование острой токсичности *in vivo* показало, что значение средней летальной дозы (LD50) комплекса составило 8148 мг/кг, что намного выше, чем у энрофлоксацина (LD50: 5312 мг/кг) и его клинически используемой натриевой соли (LD50: 1421 мг/кг). Кроме того, при гистологическом исследовании не было обнаружено явных поражений органов погибших мышей. Фармакокинетические исследования *in vivo* выявили сходную фармакокинетику комплекса энрофлоксацина с медью (II) и энрофлоксацина. Однако в модели мышей, инфицированных *E. coli*, комплекс энрофлоксацина меди (II) (800 мг/кг, внутрижелудочное введение) не смог эффективно ингибировать инфекцию мышей, и все шесть тестируемых мышей погибли в течение 72 ч., тогда как натриевая соль энрофлоксацина обеспечивала более высокую выживаемость при той же дозировке, при этом две мыши погибли, а у выживших мышей стул вернулся в норму. Комплекс моксифлоксацина с фенантролином меди (II) (МИК: 0,015–2,0 мг/мл и 1,0–64 мг/мл соответственно) обладает многообещающей активностью широкого спектра действия как против чувствительных к лекарственным средствам, так и против возбудителей с множественной лекарственной устойчивостью, включая устойчивые к метициллину *S. aureus* (MRSA) и изоляты *E. coli* и *P. aeruginosa* с множественной лекарственной устойчивостью. Исследуемый комплекс (МИК: 4,0–32 мг/мл) продемонстрировал улучшенную активность в отношении большинства протестированных изолятов MRSA по сравнению с моксифлоксацином [25]. Также исследования показали, что комплекс моксифлоксацина с фенантролином меди (II) обладает сходным с моксифлоксацином механизмом действия, действуя на топоизомеразу IV и ДНК-гиразу бактерий, а АСМ-анализ показал, что он не вызывает повреждения бактериальных мембран.

Комплексы ломефлоксацин/ пефлоксацин/ левофлоксацин/ моксифлоксацин/ципрофлоксацин/олфлоксацин-кобальт (II) обладали антибактериальной активностью на том же уровне, что и исходные препараты [31–35]. Среди них комплекс олфлоксацина кобальта (II) (зона ингибирования: 34–38 мм при концентрации 3,0 мг/мл) оказался более активным, чем олфлоксацин (зона ингибирования: 30 мм при концентрации 3,0 мг/мл) в отношении *E. coli*, *S. aureus* и *B. subtilis* [31]. Окисление кобальта (II) до кобальта (III) привело к потере активности, о чем свидетельствует комплекс цiproфлоксацин-кобальта (III) (МИК: 4,16 мг/мл) значительно уступающий цiproфлоксацину (МИК: 0,48 мг/мл) по сравнению с кишечной палочкой [36]. Комплекс марбофлоксацина кальция (II) (МИК: 0,062 и 0,05 мг/мл) проявлял антибактериальную активность, сравнимую с марбофлоксацином (МИК: 0,062 и 0,05 мг/мл) в отношении *E. coli* и *S. typhi*, но этот комплекс проявлял более высокий ингибирующий эффект в отношении ДНК-гиразы *E. coli* и *S. typhi*, чем марбофлоксацин [37]. Комплексы энрофлоксацин/гатифлоксацин/гемифлоксацин/моксифлоксацин цинк (II) [38–41], комплекс олфлоксацин оксидованадия (IV) [42], комплексы моксифлоксацина золота (III) или серебра (I) [43], комплекс гемифлоксацина марганца (II) [43, 44] и комплекс олфлоксацина палладия (II) [45] также обладали определенной антибактериальной активностью, но большинство из них проявляли меньшую активность, чем исходные препараты. Среди них комплекс цинка (II) гатифлоксацина (II) (МИК: 0,125–0,25 мг/мл) обладал высокой активностью в отношении грамположительных (*S. aureus* и *B. subtilis*) и грамотрицательных (*E. coli* и *X. campestris*) бактерий, активность не уступала гатифлоксацину (МИК: 0,062–0,25 мг/мл) [38].

Производные фторхинолонов 8-метоксифторхинолоны (рис. 1.3) (МИК: 6,25 мг/мл) проявляли значительную антибактериальную активность *in vitro* в отношении 16 респираторных патогенов, включая MRSA, резистентную к левофлоксацину *E. coli* и устойчивые к хинолонам и пенициллину штаммы *S. pneumoniae*, а также репрезентативное соединение б

(МИК: 6,25 мг/мл) и моксифлоксацин имели определенные показатели активности (МИК: 0,012->6,25 мг/мл) [46]. Исследование фармакокинетики показало, что значения максимальной концентрации лекарственного средства (C_{max}) и площади под кривой время-концентрация (AUC) соединения **6** составляют 1,28 мг/мл и 4,76 мг·ч/мл после однократного перорального введения крысам, что соответствует левофлоксацину (C_{max} : 1,47 мг/мл; AUC: 3,41 мг·ч/мл) и моксифлоксацину (C_{max} : 1,49 мг/мл; AUC: 4,46 мг·ч/мл).

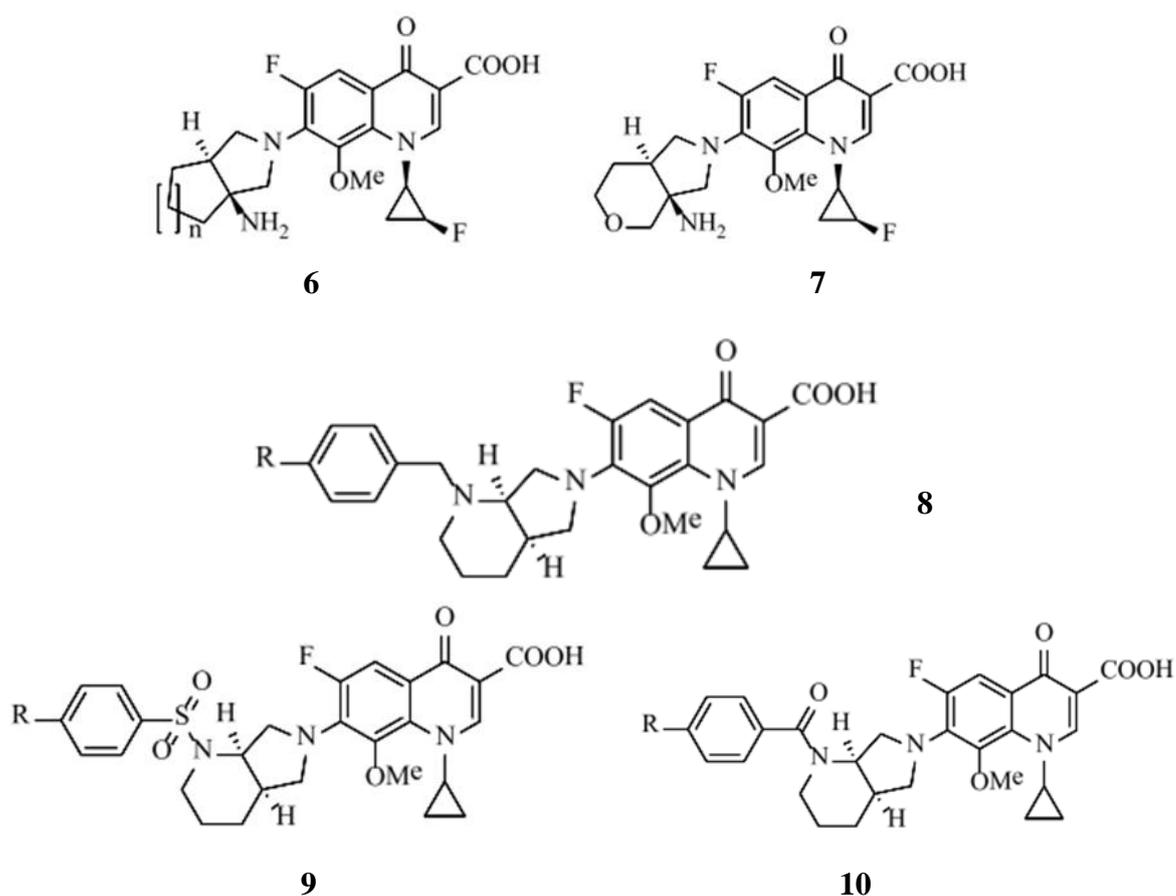


Рис. 1.3. Производные 8-метоксифторхинолонов

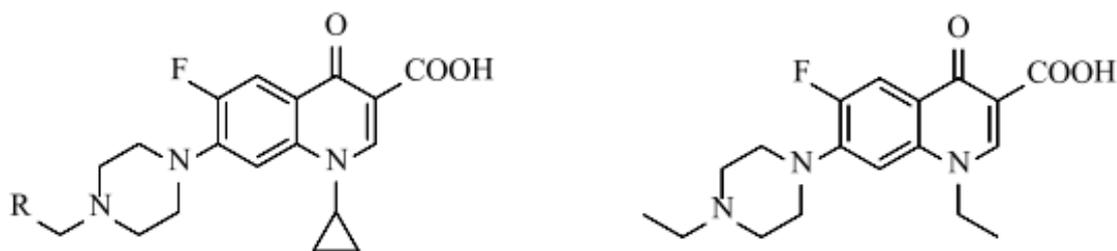
Соединение **7**, имеющее трансконденсированное пирановое кольцо в пирролидиновом фрагменте в положении C-7 хинолонового скелета, не только проявляло сильную активность *in vitro* в отношении 11 чувствительных к лекарственным средствам бактерий со значениями МИК 0,006–0,78 мг/мл, но также проявляло высокую эффективность в отношении

устойчивых к хинолонам *E. coli*, устойчивых к пенициллину *S. pneumoniae* и MRSA, включая устойчивые к левофлоксацину MRSA и 44 изолята MRSA, со значениями MIC 0,05–1,56 мг/мл [47]. Соединение 7, не обладающее ингибирующей активностью в отношении hERG, показало высокую метаболическую стабильность в микросомах человека. Значения C_{max} и AUC составляли 0,88 мг/мл и 3,14 мг·ч/мл соответственно, что было сравнимо со значениями для левофлоксацина (C_{max} : 1,47 мг/мл; AUC: 3,41 мг·ч/мл). Более того, концентрация в крови у обезьян была выше, чем у левофлоксацина и моксифлоксацина, а скорость выделения с мочой была такой же высокой, как у левофлоксацина. В модели мышинной пневмонии, инфицированной резистентным к пенициллину *S. pneumoniae* (PRSP033806), терапевтическая эффективность, вводимого подкожно (дважды в день), была выше, чем у моксифлоксацина.

Производные моксифлоксацина 8-10 (рис. 1.3) имеют электроноакцепторные группы, особенно нитрогруппа в фенильном кольце, усиливала активность. Репрезентативное соединение 9 (МИК: 1,23 мг/мл) было высокоактивным против грамположительных *S. aureus*, MRSA, *E. faecalis*, *L. monocytogenes* и *B. cereus*, но с более низкой активностью, чем у моксифлоксацина (МИК: 64 мг/мл). Установлено, что атом кислорода в положении X благоприятен для активности, а замена на оксим приводит к небольшой потере активности, в то время как метоксим и бензилоксим значительно снижали активность [48].

Основания Манниха ципрофлоксацина 11 (рис. 1.4) (МИК: 0,012–6,22 мг/мл) продемонстрировали многообещающую активность в отношении штаммов *S. aureus*, MRSA (эталонный штамм), MRSA (клинический штамм), *K. pneumoniae*, *E. coli* и *P. aeruginosa*, а SAR показал, что фенильные и нафтильные кольца в положении R способствовали эффективности, в то время, как эфир приводит к значительной потере активности [49–51]. Среди них соединения 12 (МИК: 0,080–1,82 мг/мл и 0,012–1,01 мг/мл) были более активными, чем ципрофлоксацин (МИК: 0,057–1,63 мг/мл) в отношении

большинства протестированных штаммов, и соединение 17 (МИК: 0,080 и 0,20 мг/мл) обладало высокой активностью в отношении MRSA (эталонный штамм), MRSA (клинический штамм), что свидетельствует о его способности преодолевать лекарственную устойчивость. Помимо вышеупомянутых производных фторхинолонов, производные спарфлоксацина и норфлоксацина также обладают определенной антибактериальной активностью [52, 53]. Среди них соединение 12 (МИК: 1,10–6,17 мг/мл) продемонстрировало многообещающую активность в отношении *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *E. coli*, причем активность была выше, чем у норфлоксацина (МИК: 1,85. e27,69 мг/мл) против *S. aureus*, *P. aeruginosa* и *E. coli* [53].



11 R = 2-гидрокси-нафтил-3-ил

12

R = 2-гидрокси-3-метокси-3-формил

Рис. 1.4. Основания Манниха ципрофлоксацина

Гибриды ципрофлоксацин-/норфлоксацин-1,2,3-триазола 13 (рис. 1.5; МИК: 0,12–0,24 мг/мл) проявляли высокую активность в отношении *S. aureus* и *E. coli*, среди них гибриды 19 (МИК: 0,12 мг/мл) были в 20 раз более активны, чем ципрофлоксацин (МИК: 2,4–1250 мг/мл) и норфлоксацин (МИК: 2,4–1250 мг/мл) в отношении *S. aureus*, *S. typhi* и *E. coli* [54]. SAR показал, что карбоксильная группа в положении С-3 хинолонового скелета имеет решающее значение для активности, а этерификация карбоновой кислоты приводит к значительной потере активности, что объясняется тем, что карбоновая кислота может образовывать водородные связи с

основаниями ДНК в одно цепочечных участках дуплексной ДНК, созданные под действием фермента и бактериального мембранного транспорта [54-56].

Гибриды цiproфлоксацин-тетразола 14 (рис. 1.5) (МИК: 15,6 мг/мл) проявляли активность широкого спектра против *B. subtilis*, *B. megaterium*, *Micrococcus luteus*/*M. luteus*, *E. coli* и *S. typhi*, но активность была ниже, чем у цiproфлоксацина (МИК: 7,8 мг/мл) [57, 58]. SAR показал, что заместитель в положении N-1 тетразольного остатка не влияет на активность. Интересно, что большинство гибридов (GI50: 0,1 мМ) проявляли сильную ингибирующую активность в отношении линий раковых клеток СИНА, MDA-MB-231 и PANC-1. Таким образом, эти гибриды были полезными каркасами для разработки новых антибактериальных и противораковых агентов.

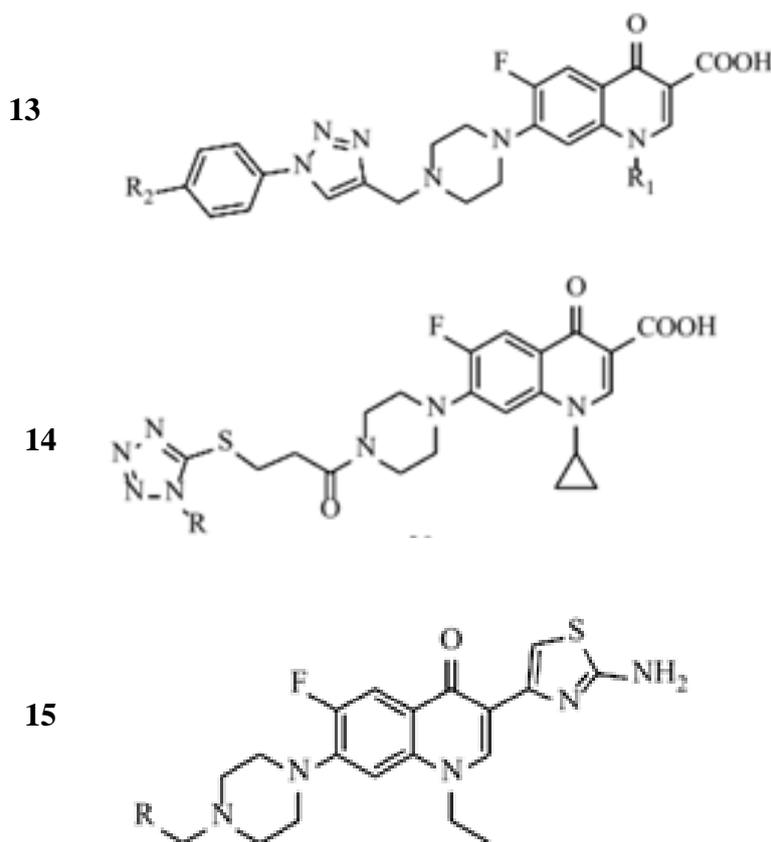


Рис. 1.5. Гибриды цiproфлоксацин-/норфлоксацин-1,2,3-триазола и тетразола

Гибриды норфлоксацин-тиазол 15 (рис. 1.5) (МИК: 5,0–997 мг/мл) в целом были менее активны, чем норфлоксацин (МИК: 2,0–50 мг/мл) в

отношении грамположительных (*E. faecalis*, 3 *S. aureus* и MRSA) и грамотрицательных (*K. pneumoniae*, 3 штамма *E. coli*, 3 *P. aeruginosa* и *A. baumannii*) [59-61]. Репрезентативный гибрид 16 (МИК: 5,0–19 мг/мл) не уступал норфлоксацину в отношении всех протестированных штаммов, а ингибирующее действие ДНК-гиразы гибрида 16 (IC₅₀: 16,7 мМ) превосходило действие норфлоксацина (IC₅₀: 18,6 мМ). Замена карбоксильной части фрагментом 2-аминотиазола может проявлять антибактериальный механизм, сходный с норфлоксацином, путем нацеливания на ДНК-гиразу.

Кроме того, гибрид 15 (IC₅₀: 180 мМ) также проявлял ингибирующую активность в отношении хитин синтазы. Явной склонности к развитию бактериальной резистентности не наблюдалось, и этот гибрид мог проявлять эффективную мембранную проницаемость и интеркалировать в ДНК *K. pneumoniae*, образуя устойчивый надмолекулярный комплекс, который мог бы блокировать репликацию ДНК, проявляя антибактериальную активность. Исследование молекулярного докинга показало, что гибрид 15 может связываться с гиразой-ДНК и топоизомеразой IV-ДНК посредством водородных связей и р-р-стекинга.

Гибриды норфлоксацин-1,3,4-оксадиазола (рис. 1.6) 16 (МИК: 0,25–4,0 мг/мл) продемонстрировали многообещающую активность против *S. aureus* и 3 клинических изолятов MRSA, а SAR показал, что -Cl в орто-положении или -OMe в мета- или пара-положении фенильного кольца были благоприятны для активности [62]. Среди них гибрид 16 (МИК: 2,0, 0,5, 0,5 и 1,0 мг/мл) был сравним с ванкомицином (МИК: 2,0 мг/мл) в отношении *S. aureus* и в 2-4 раза более эффективен, чем ванкомицин (МИК: 2,0, 1,0 и 2,0). мг/мл) против 3 клинических изолятов MRSA. Кроме того, кинетика «время-элиминация» показала, что гибрид имел преимущество перед ванкомицином в уничтожении *S. aureus* и MRSA. Кроме того, гибрид 19 может ингибировать бактерии и разрушать бактериальные мембраны за короткое время. Гибриды ципрофлоксацин-1,3,4-оксадиазол-5(4H)-тиона 17 (МПК: 0,031–0,162 мг/мл)

проявляли превосходную антибактериальную активность в отношении *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* и *P. aeruginosa*, а SAR показал, что кольцо пиридина в 1,3,4-оксадиазол-5(4H)-тионовой части полезно для активности [63]. Механистические исследования доказали, что эти гибриды могут проявлять антибактериальную активность за счет ингибирования ДНК-гиразы и топоизомеразы IV.

Помимо вышеупомянутых гибридов, гибриды фторхинолон-бензоимидазол/1,2,5-оксадиазола (рис. 1.6) также проявляли определенную антибактериальную активность, но активность была значительно ниже, чем у эталонов [64–66]. Например, гибрид цiproфлоксацин-1,2,5-оксадиазола, связанный 1,2,3-триазолом 18 (МИК: 0,06–64 мг/мл), был менее активен, чем цiproфлоксацин (МИК: 0,004–8,0 мг/мл). против всех проверенных грамположительных (*S. aureus*, *B. subtilis* и *E. faecium*) и грамотрицательных (*K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* и *E. coli*) микроорганизмов, и этот гибрид все еще нуждался в дальнейших структурных модификациях [64].

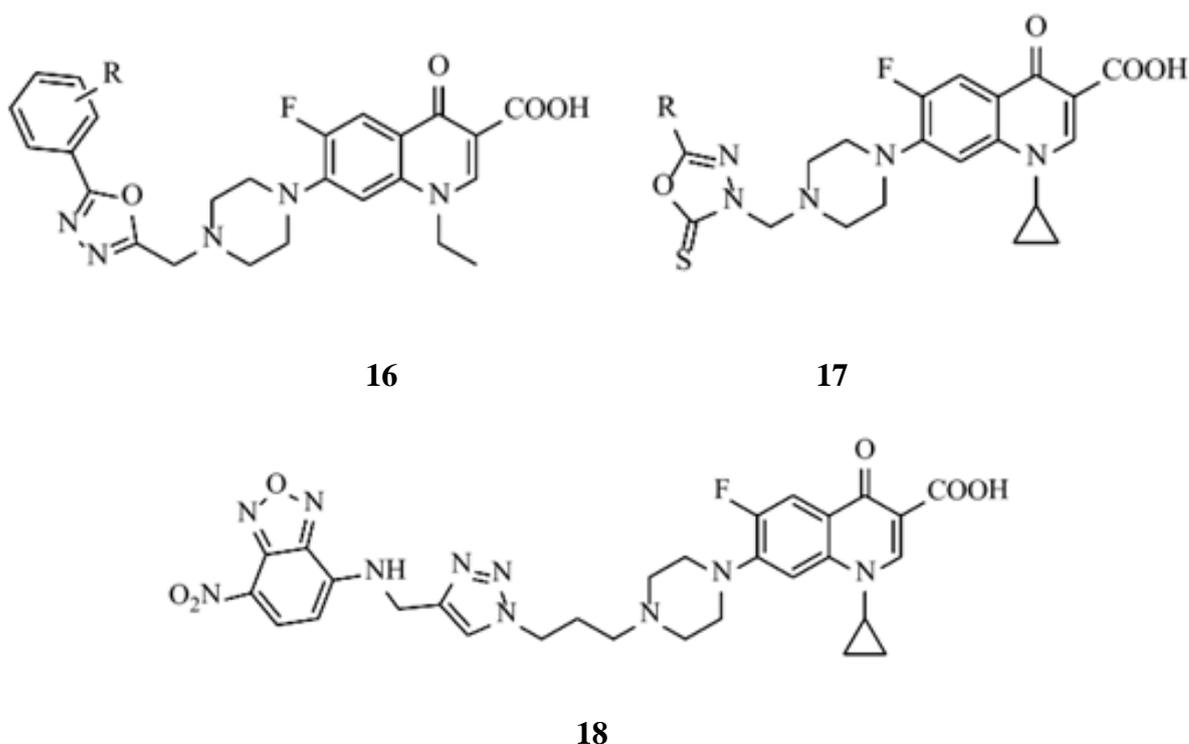


Рис. 1.6. Гибриды норфлоксацин-1,3,4-оксадиазола цiproфлоксацин-1,2,5-оксадиазола

Фармакологическое значение хинолона постоянно привлекает внимание медицинских химиков по всему миру для разработки новых производных этого ряда путем модификации основного каркаса в различных положениях и изучения взаимосвязи структура действие с помощью SAR анализа и методов *in silico* с последующим изучением их фармакологического потенциала.

Для проверки важности замещения в положение 1 в рукописи [67] сообщалось о введении положительно заряженной группы, ароматических или длинных алкильных, алкилфталимидных и алкилфенильных групп. Было обнаружено, что эта химическая манипуляция нарушает тройные комплексы ДНК-гиразы и топоизомеразы, изменяя сверхспирализационную активность ДНК. Таким образом были получены производные, приведенные на рис. 1.7 (19-22), и выявлены ингибиторные свойства топоизомеразы II человека. На данный момент продолжают проводиться дополнительные исследования для лучшего понимания уникальной активности этих соединений.

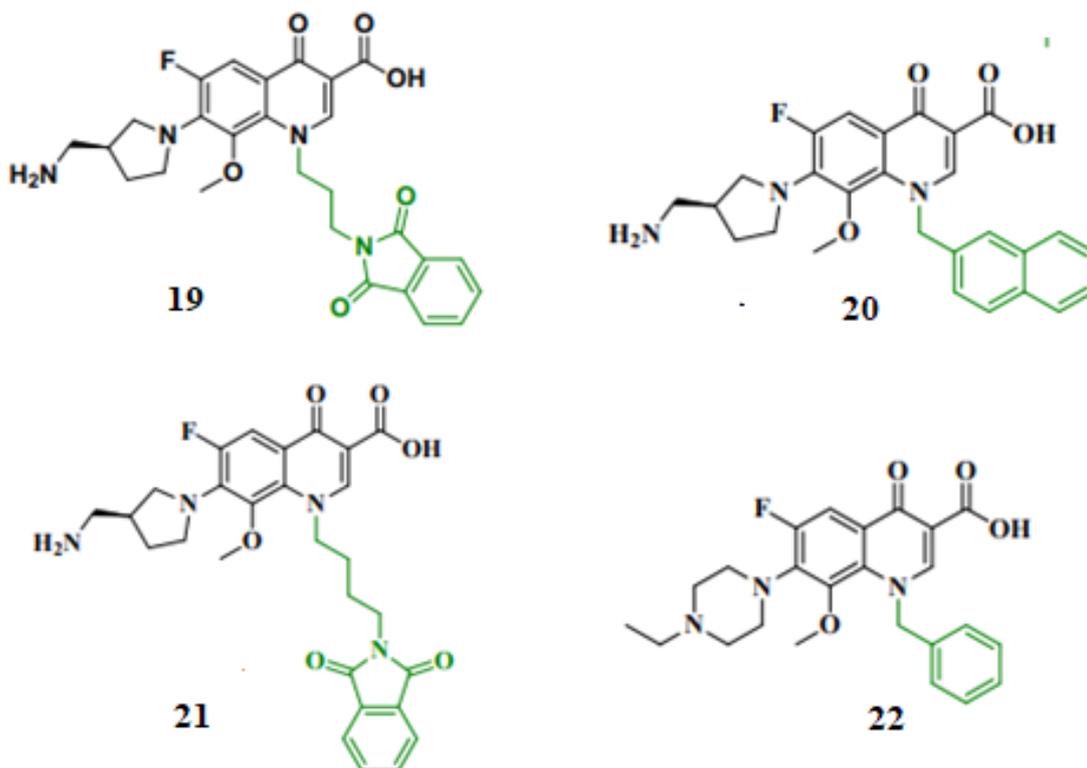


Рис. 1.7. Производные фторхинолонов с замещением в первом положении

В 2013 году учеными [68] синтезирован ряд производных эфира ципрофлоксацина с модифицированными молекулярными свойствами, такими как LogP и площадью полярной поверхности. Три алифатических эфира ципрофлоксацина (н-пропил, н-пентил и н-октил) значительно увеличили проникновение в ткани, однако имеют сопутствующую сильную репрессию на пенициллин стойкую кишечную палочку (*E. coli*) (23-25) (рис. 1.8).

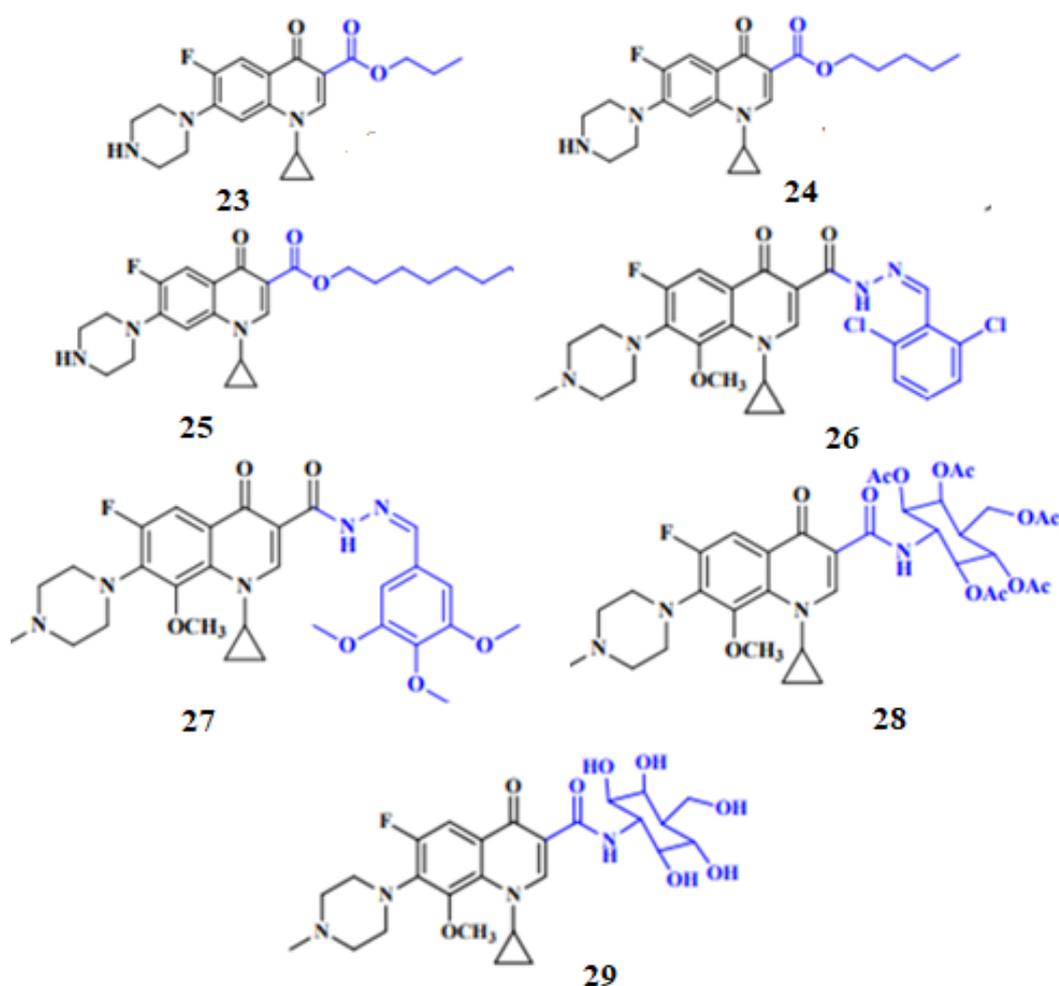


Рис. 1.8. Производные фторхинолонов с замещением в положении 3

Эти данные согласовались с предварительными исследованиями, где другие производные эфира ципрофлоксацина демонстрировали высокую блокирующую активность к метициллину устойчивого золотистого стафилококка (MRSA), чувствительного к метициллину золотистого стафилококка (MSSA) и устойчивому к ампициллину *E. Coli* [69] Позже

ученые [70] подготовили новые производные гидразон пefлоксацина (26, 27) и исследовали их аффинитет, выполнив исследование молекулярной стыковки с использованием протоколов Glide. Результаты осветили сильные несвязанные взаимодействия между синтезированными производными и бактериальной ДНК-гиразой *S. aureus*. Следует отметить, что соединения демонстрировали высокое антитуберкулезное действие *in vitro*. Это исследование подчеркнуло преимущество конъюгации гидразоновой группы [71, 72]. Недавно введение глюкозаминного фрагмента в положение 3 привело к блокирующей активности относительно устойчивых патогенных штаммов (28-29) [73] (рис. 1.8).

Подавляющее большинство публикаций, касающихся структурных модификаций фторхинолонов, касались включением азота вносящих фрагментов в положение С-7 (30-31) (рис. 1.9). Например, Zhang и соавторы [74] описали синтез различных аминокислотных и дипептидных «про лекарств» ИМВ-070593 и оценили их растворимость в воде и активность в отношении бактерий. ИМВ-070593 – это мощный антибактериальный и анти-МТВ-FQ кандидат на основе пиперидина с чрезвычайно низкой ототоксичностью, гепатотоксичностью и сердечной токсичностью [75]. Результаты продемонстрировали, что ИМВ-070593, по-видимому, имеют лучшую растворимость в воде и более высокую активность в отношении грамположительных штаммов, чувствительных к лекарственным средствам, по сравнению с исходным препаратом. Еще одно исследование ученых [76] продемонстрировало введение 4-членных азотов вносящих гетероциклические фрагменты, таких как N-(замещенный азетидин-3-карбонил) через N-метил-гидразиновый линкер при С-7, например, производные на основе азетидина. Аналоги проявили потенциальную антибактериальную активность. Кроме того, модификации норфлоксацина при С-7 с ацетилированным пиперазином, атомами галогена и замещенным гидразином хорошо демонстрировали антибактериальную активность *in vitro*. Более того, введение другого атома фтора при С-8 и

гидразина из пяти- и шестичленных гетероциклов при C-7 улучшило антибактериальную активность норфлоксацина [77-79]. В последнее время синтетики синтезировали новые (2-оксо-2Н-хромен-3-ил)замещенные. Такие бициклические производные, 6-фтор-7-(2-оксо-2Н-хромен-3-ил)-фторхинолоны 32-34 (рис. 1.9), можно считать перспективными соединениями против туберкулеза [80]. Исследования SAR для этой серии соединений также подтвердили значение этого замещения.

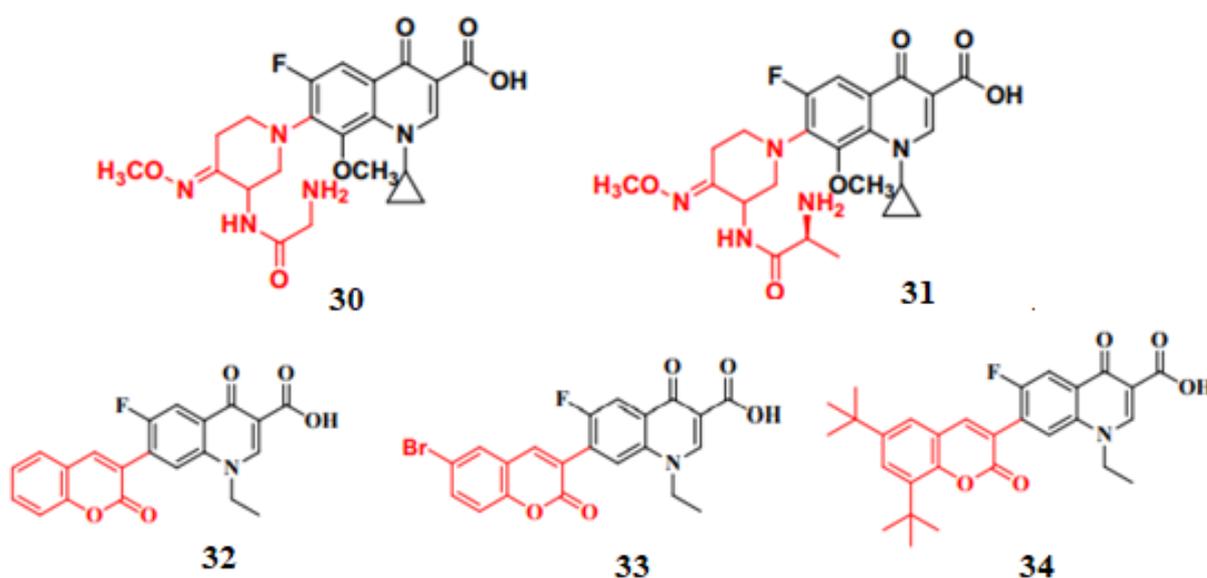


Рис. 1.9. Производные фторхинолонов с замещением в положении 7.

В статье [81] исследователями осуществлены структурные модификации положения C-8, оставляя при этом четырех-, пяти- или шестичленный гетероциклический аминный фрагмент Нитрогена с различными заместителями алкилоксильных групп в положении C-7. Соответственно, серия новых 1-[(1R,2S)-2-фторциклопропил] производных ФХ с (R)/(S)-3-алкоксиимино-2-аминометилацетидилом, 3-алкоксиимино-4-аминометил-пирролидилом была создана и оценена на наличие 4-аминопиперидильной группы в положении C-7 (35-40) (рис. 1.10). Производные обладают превосходной активностью *in vitro* в отношении MSSE и MRSE. Кроме того, соединения имели хорошую активность *in vitro* в

отношении МТВ H37Rv ATCC 27,294 (MIC: 0,25 мкг/мл) и двух клинических изолятов MDR-МТВ.

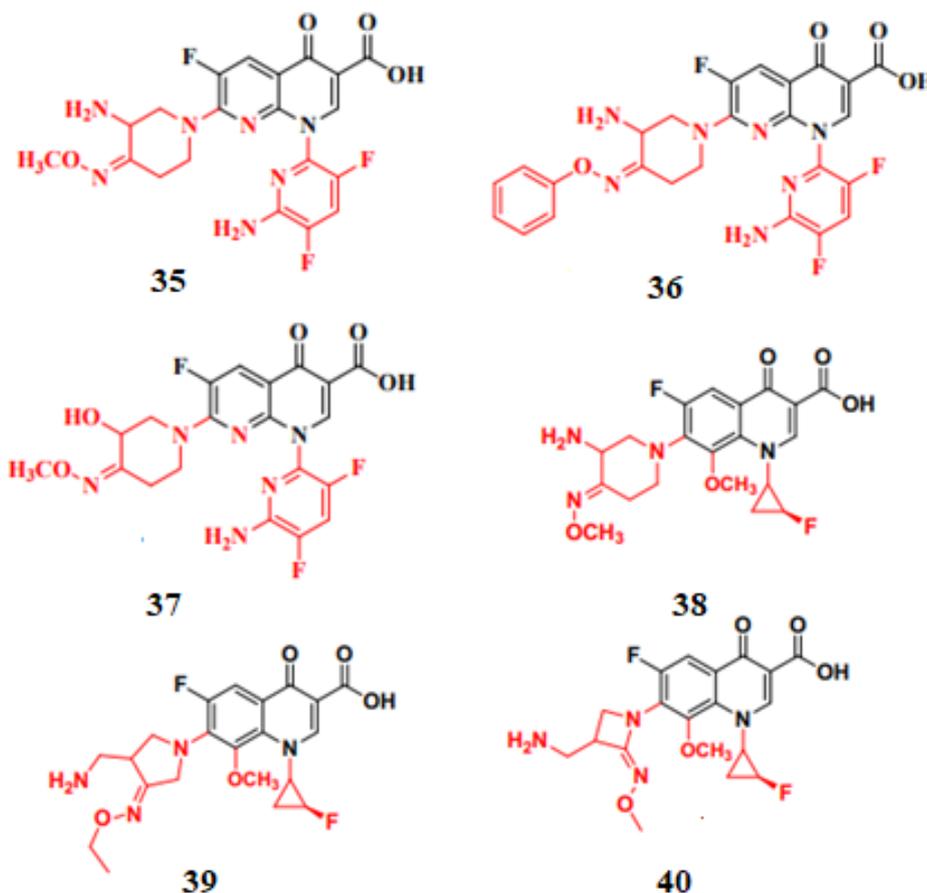


Рис. 1.10. Производные фторхинолонов с замещением в положении 1 и 7.

Большинство соединений продемонстрировали мощную активность в отношении *E. coli* и *K. pneumoniae*, за исключением штаммов, продуцирующих β -лактазы. Позже Чжан и т.д. [82] сообщали о введении 3-алкоксиимино-4-(циклопропиламино)-метилпирролидинового фрагмента в положение С-7 АМ-1954 ФХ, о котором ранее сообщалось, что он имеет потенциальную активность против грамположительных микроорганизмов, устойчивых к нескольким лекарственным средствам. Большинство целевых соединений имели потенциальную активность в отношении грамположительных штаммов за небольшими исключениями и, как правило, плохую активность в отношении грамотрицательных штаммов [83]. Группой ученых сообщалось о синтезе новых производных алкилоксиимино фторхинолонов. Наблюдалась перспективная блокирующая активность

против *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) H37Rv ATCC 27,294 для соединения 38. Более того, исследуемые молекулы проявляли потенциальную активность по отношению к испытываемому MSSA. Это исследование подчеркнуло важную роль липофильности соединений в антибактериальной активности [84-85].

В статье [86] сообщали о синтезе производных триазол-хинолон-гидроксамового амида (41-45) (рис. 1.11).

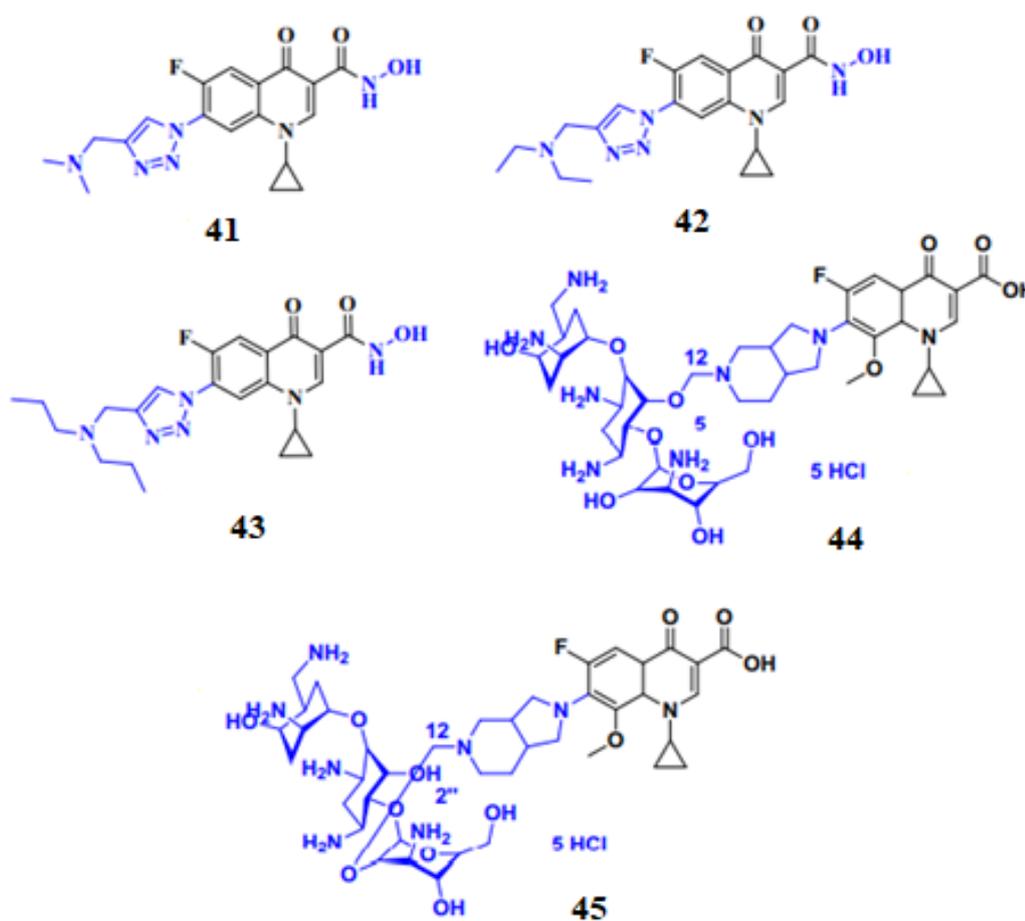


Рис. 1.11. Производные фторхинолонов с замещением в положении 3 и 7.

Концепция проекта предполагала биоизостерическую замену 3-карбоновой кислоты фторхинолона гидроксамовой кислотой. Серия производных имела умеренную активность в отношении *E. coli* и *K. pneumoniae*. Стратегия многокомпонентных антибиотиков для борьбы с резистентностью к бактериям была рассмотрена в исследовании учеными, синтезировавшими и оценившими производные тобрамицин-

моксифлоксацина (44, 45) (рис. 1.11). Результаты показали, что гибриды оказывали эффекты, влияющие на целостность *P. aeruginosa*. Как и ожидалось, гибрид 44 имеет низкую вероятность развития резистентности по сравнению с отдельными компонентами антибиотиков тобрамицином и моксифлоксацином [87]. В статье [88] описан синтез гетероциклических производных хинолон-тиазолидина и N-тиазол-амида. Результаты исследования выявили лучшую антибактериальную активность в отношении амидов тиазолидина, чем N-тиазолиламидной серии. Но ни один из синтезированных производных не имел лучшей антибактериальной активности по сравнению с исходными ципрофлоксацином и моксифлоксацином. В исследованиях [89, 92] были описаны модификации позиций C-3, существенно снижающих их антибактериальную активность.

Помимо вышеупомянутых гибридов, фторхинолонгидроксамовые кислоты [91], фторхинолонгидразиды [91–93], фторхинолонфосфаты [94–96], ципрофлоксацин-жирные кислоты [97], ципрофлоксацин-динитрокси [98], ципрофлоксацин-пиридазины [99], норфлоксацин-цитраты [100], офлоксацин-халконы [101] и фторхинолоноксимины [102] также обладали определенной антибактериальной активностью, но большинство из них проявляли только слабую или умеренную активность или были активны только против определенных штаммов. Например, норфлоксацин-оксим (МИК: 0,03 мг/мл) обладал высокой эффективностью в отношении *K. pneumoniae*, но не проявлял активности в отношении других патогенов (МИК: >50 мг/мл) [102]. Несмотря на это, эти гибриды можно использовать для борьбы с конкретными патогенами, а обогащенный SAR дал полезную информацию для дальнейшего рационального проектирования.

Патогены способны ускользать от иммунной системы хозяина и сохраняться внутри человека-хозяина и, следовательно, вызывать широкий спектр иммунных нарушений хозяина, что приводит к локальному и системному повреждению тканей. Антибактериальные агенты являются основными фармакологическими вмешательствами для лечения

бактериальных инфекций, но повышенная лекарственная устойчивость и задержка разработки новых антибиотиков привели к огромной заболеваемости и смертности. Поэтому необходимо срочно разрабатывать новые антибактериальные средства, способные решить проблему растущей резистентности бактерий. Фторхинолоны стали вторым по величине классом химиотерапевтических препаратов, используемых в клинической практике для лечения бактериальных инфекций, но почти все возбудители, особенно грамположительные штаммы, уже выработали резистентность к этому типу антибактериальных средств. Резюмируя описанные исследования можно сделать вывод, что для решения проблематики резистентности существует несколько стратегий для обнаружения новых кандидатов на роль антибактериальных фторхинолонов: включение ионов металлов, модификация имеющихся в настоящее время фторхинолоновых препаратов, гибридизация с другими антибактериальными фармакофорами.

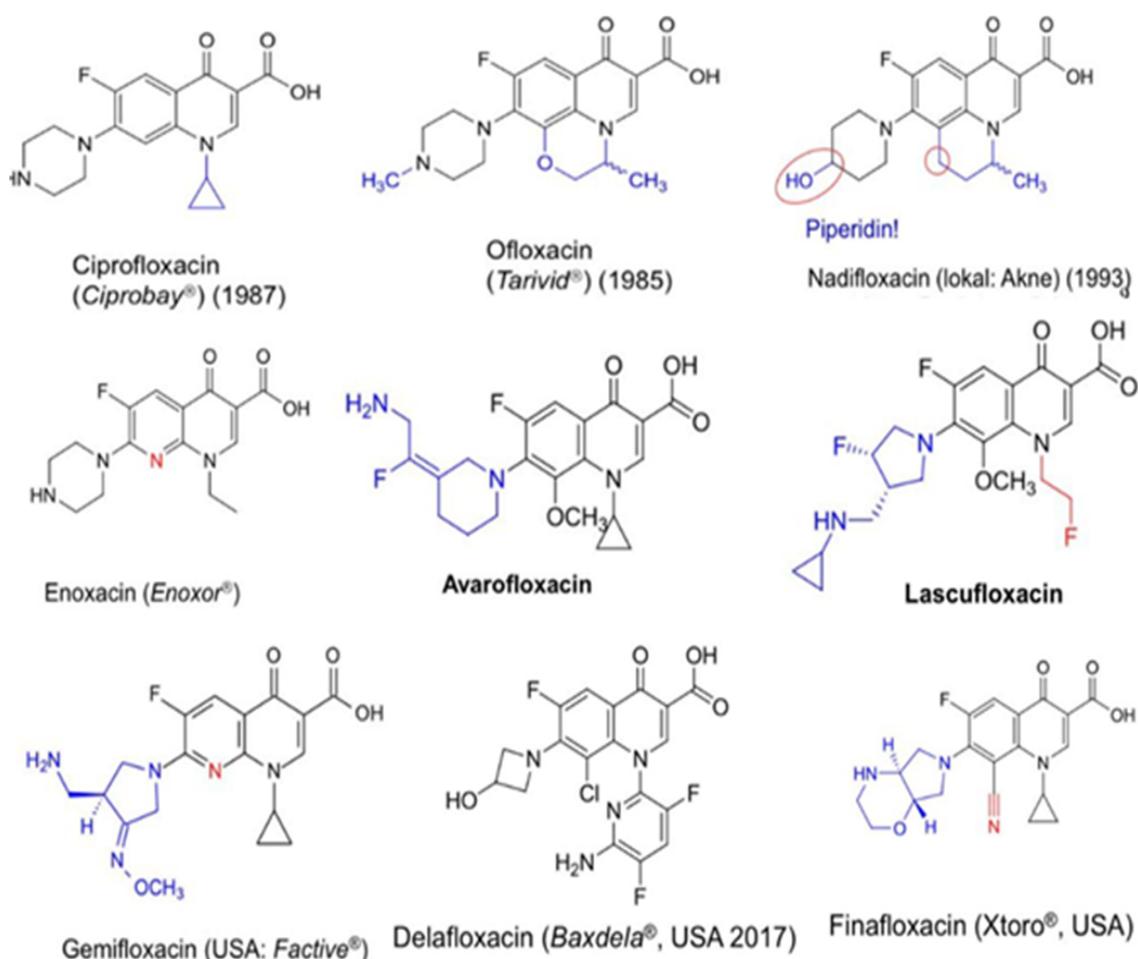
ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 1

1. Проанализированы, систематизированы и обобщены данные относительно фторхинолонов как эффективных молекул противомикробного действия.
2. В результате анализа последних достижений в области производных фторхинолонов установлено, что большинство исследований направлены на получение комплексов фторхинолонов с металлами, гибридных фторхинолонов и других производных с замещением в 1, 3, 7 и 8 положении с антибактериальным потенциалом.
3. Полученные данные фармакологического скрининга, анализа зависимости структура-активность (SAR), докинковых исследований свидетельствуют о перспективности рационального дизайне активных кандидатов.

РАЗДЕЛ 2. ХАРАКТЕРИСТИКА И АРГУМЕНТАЦИЯ ВЫБОРА ОБЪЕКТОВ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.

2.1. Аргументация выбора объектов исследований

Хинолоны были центром значительного научного и клинического интереса с момента их открытия. Это связано с тем, что они обладают высокой эффективностью, широким спектром действия, хорошей биодоступностью, высоким уровнем в сыворотке крови, большим объемом распределения, что указывает на концентрацию в тканях, и потенциально низкой частотой побочных эффектов. Многие исследования пытались сделать эти потенциальные атрибуты реальными.



**Рис. 2.1. Эволюция создания антибактериальных агентов
фторхинолонового ряда**

Была разработана первая налидиксовая кислота, но прошло более десяти лет, прежде чем дополнительные соединения, такие как флумекин, норфлоксацин и эноксацин, стали доступны для клинического использования и одними из самых привлекательных средств химиотерапии как внебольничных, так и серьезных больничных инфекций. На рис. 2.1 приведена эволюция создания антибактериальных агентов этого ряда за счет модификации основного каркаса фторхинолона.

Исходя из известных препаратов из группы фторхинолонов, существует некая зависимость влияния фармакофоров и функциональных группировок на антибактериальный профиль известных фторхинолонов. Так, замещение хинолинового каркаса в 1 и 8 положениях донорными и акцепторными заместителями может оказать существенное влияние на биодоступность. Наличие в 7 положении пиперазинового гетероцикла, как замещенного, так и незамещенного, отвечает за антибактериальную активность, спектр действия и улучшение проницаемости клеток. Наличие атома Фтора в положении 6 обуславливает наличие антибактериальной активности. Карбонильный и карбоксильный фрагменты в 3 и 4 положении способствуют стабилизации комплексов с топоизомеразами или ДНК-гиразами (через Mg^{2+}).

На сегодня глобальной проблемой антибиотиков и химиотерапевтических противомикробных агентов остается развитие резистентности микроорганизмов к уже существующим на фармацевтических рынках средствам. Чтобы бороться с этим, главной задачей остается поиск новых молекул, которые бы сохраняли аналогичность существующим, но имели некую фармакофорную модификацию в уже установленных положениях фторхинолонового каркаса.

В качестве объектов исследования были выбраны фармакофорные системы, состоящие из фторхинолонового каркаса, связанного с помощью линкера с различными фармакофорными системами алифатической и ароматической структуры (рис. 2.2). Было сгенерировано 4 молекулы с помощью химического редактора Marvin Sketch 20.5.

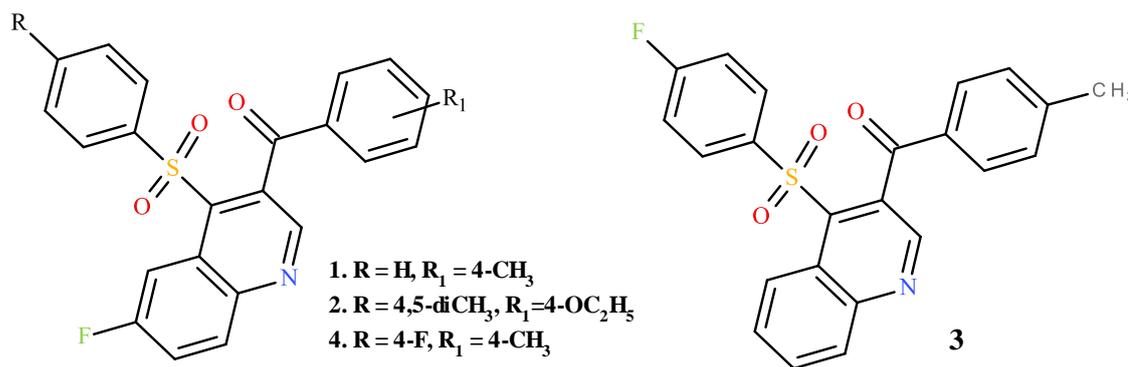


Рис. 2.2. Химические структуры полученных фторхинолонов

2.2. Молекулярный докинг эффективный инструмент для прогнозирования активности

За последнее десятилетие высокоскоростной синтез и высокопроизводительный скрининг (HTS) произвели революцию в процессе обнаружения высокоактивных молекул. Однако после ажиотажа первых лет стало ясно, что успех случайной библиотеки дизайн и HTS ограничены. В настоящее время в ходе типичной исследовательской работы исследуется до 10 соединений, что составляет лишь малую часть всего мыслимого химического пространства, для которого оценки колеблются между 10 соединения. Таким образом, перед медицинскими химиками остается главный вопрос: «Какие соединения следует изготовить и протестировать для обнаружения и оптимизации?». На сегодняшний день доступно более 100000 белковых структур. Этот значительный массив информации о трехмерной структуре с атомарным разрешением различных соответствующих лекарственных препаратов, включая ферменты, рецепторы и белки-транспортеры, обеспечивает растущую основу для структурно-ориентированного дизайна лекарств. Неудивительно, что в последние годы все чаще используется оптимизация лигандов на основе структуры. Подходы ручного и автоматизированного молекулярного докинга (вычислительные

методы, которые предсказывают трехмерную структуру комплекса белок-лиганд) являются мощными методами проектирования на основе структуры, которые были успешно использованы для обнаружения кандидатов в лекарства [103].

Оптимизация лигандов обычно выполняется в низкопроизводительном режиме. Однако, чтобы не отставать от постоянно растущей скорости методов биологического скрининга, необходимо было разработать высокопроизводительные вычислительные методы, такие как стыковка белков и лигандов и оценка для оценки тысяч соединений в день. Следовательно, методы вычислительной стыковки и подсчета очков развились для использования в высокопроизводительных протоколах виртуального скрининга *in silico*. Как и в большинстве других подходов, точность достигается за счет скорости. Сложные энергетические функции, например, методы предсказания сродства белок-лиганд, требуют слишком много времени для использования в режиме высокой пропускной способности. Поэтому были разработаны так называемые скоринговые функции, которые содержат значительные упрощения для описания взаимодействий белок-лиганд; это быстрые инструменты для определения правильной геометрии связывания комплекса белок-лиганд, а также для ранжирования различных комплексов белок-лиганд в соответствии с их сродством к связыванию [103].

Стыковка белок-лиганд представляет собой задачу геометрического поиска. Конформации белка и лиганда, а также их относительная ориентация являются соответствующими степенями свободы. В то время как данная структура белка достаточно хорошо известна (хотя есть много примеров конформационных изменений, происходящих при связывании лиганда), конформация связанного с белком лиганда обычно неизвестна. Следовательно, большинство подходов к докингу обращаются к гибкости лиганда и сохранению жесткости белка.

Для проведения вычислительных экспериментов по стыковке белок-лиганд должна быть доступна трехмерная структура целевого белка с атомарным разрешением. Наиболее надежными источниками являются структуры кристаллов и растворов, предоставленные банком данных о белках (PDB). Модели гомологии и модели псевдо рецепторов являются альтернативой в отсутствие экспериментальных структур. Следует, однако, предостеречь, что качество белковой структуры имеет решающее значение для успеха последующих экспериментов по докингу. Даже небольшие изменения в структуре могут кардинально изменить результат эксперимента по вычислительной стыковке. В идеале атомное разрешение кристаллических структур должно быть ниже $2,5 \text{ \AA}$. С другой стороны, PDB содержит множество белковых структур различных ферментов и рецепторов, которые можно использовать для моделирования гомолога. Можно ожидать, что разумные модели гомолога могут быть построены для многих белков, закодированных в геноме человека [103]. Стыковка может быть между белок-лиганд, белок-белок, белок-нуклеотид (рис. 2.3)

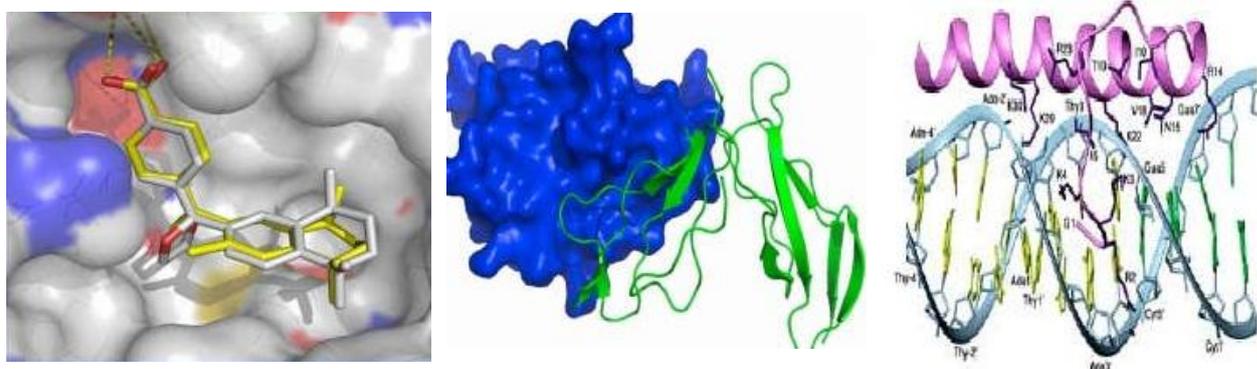


Рис. 2.3. Стыковка между белок-лиганд, белок-белок, белок-нуклеотид

Стыковка жесткого лиганда обычно не имеет отношения к стыковке белок-лиганд, потому что гибкость лиганда, а часто также гибкость белка, имеет решающее значение. Тем не менее такое упрощение часто приемлемо для докинга небольших фрагментов или ансамблей конформаций и/или молекул. Алгоритмы, такие как метод кликового поиска, могут

использоваться для поиска совместимых по расстоянию совпадений характеристик белков и лигандов. Возможные характеристики включают, например, комплементарные взаимодействия водородных связей, расстояния или объемные сегменты рецепторного участка рецептора, белка или лиганда. Более ранние версии программы DOCK были основаны на поиске совпадения по расстоянию для стыковки твердого тела. Создаются сферы, которые оптимизируют молекулярную поверхность белка и заполняют рецепторный участок. Исходные ориентации лиганда в рецепторном сайте генерируются из наборов до четырех совместимых по расстоянию совпадений. Окончательное положение лиганда достигается за счет оптимизации и подсчета очков. В DOCK версии 4.0 алгоритмы обнаружения кликов были введены в качестве алгоритма поиска совпадений, совместимых по расстоянию. Кроме того, в DOCK теперь доступен более широкий спектр функций подсчета очков. Геометрическое хеширование представляет собой альтернативу кликовому поиску совпадения характеристик белок-лиганд [103]..

Распознавание частичных совпадений особенно важно в большинстве экспериментов по докингу, потому что не все характеристики белков совпадают со всеми характеристиками лигандов. Части поверхности лиганда и белка часто находятся в контакте с объемной водой. Хеширование включает создание ключа для ввода данных, который можно использовать в качестве адреса памяти. Поскольку обычно доступно больше адресов, чем памяти компьютера, применяется функция хеширования для сопоставления адресов ввода данных с меньшим адресным пространством. В геометрическом хешировании для создания ключа хеширования используются функции расстояния. В результате к объектам с определенными геометрическими характеристиками можно получить очень быстрый доступ через геометрическую хеш-таблицу. Чтобы применить быстрое хеширование к проблеме 3-D стыковки, была использована не доопределённая система отсчета, состоящая только из двух сфер или атомов.

Кластеризация положений — это еще один метод распознавания образов, который используется, например, в программе FlexX. По совпадению первый объект может быть расположен относительно второго путем наложения треугольников. Местоположение сохраняется и группируется. Если кластер становится большим, находится место с большим количеством совпадающих признаков. FlexX использует LUDI представление молекулярных взаимодействий как характеристик. Совпадения ограничены совместимостью взаимодействия (например, донор водородной связи может взаимодействовать только с акцептором) и длиной ребер треугольника. Схема хеширования применяется для доступа и сопоставления треугольников поверхности. Алгоритм полного связывания используется для кластерных преобразований, которые накладывают два треугольника [103].

Стыковка с гибкими лигандами. Энергетические различия между альтернативными конформациями лиганда часто малы по сравнению с общей аффинностью связывания между лигандом и белком-мишенью. Кроме того, для гибких лигандов весьма характерно, что биоактивные конформации отличаются от конформаций с минимальной энергией в растворе. Небольшие молекулы, подобные лекарствам, обычно гибки; 70% лекарство подобных молекул содержат от двух до восьми вращающихся связей. Гибкость лиганда обычно решается в подходах к стыковке с помощью протоколов комбинаторной оптимизации, таких как фрагментация, ансамбли, генетические алгоритмы или методы моделирования.

В подходах фрагментации лиганд рассекается на части, которые либо являются жесткими, либо могут быть представлены небольшими конформационными ансамблями. Есть две альтернативные стратегии обработки фрагментов в процессе стыковки. Первая стратегия, также называемая «инкрементное построение», помещает первый фрагмент, который обычно представляет собой самую большую жесткую часть лиганда, в рецепторный сайт, а затем добавляет оставшиеся фрагменты в протокол наращивания. Вторая стратегия, называемая «поместить и соединить»,

размещает все или часть фрагментов независимо друг от друга и повторно соединяет их в неблагоприятных ориентациях, чтобы завершить лиганд в рецепторном сайте. В то время как размещение и соединение обычно используются в подходах к проектированию, инкрементное построение чаще используется в качестве стратегии стыковки. Во-первых, если алиганд разделен на фрагменты, не каждый фрагмент должен находиться в позиции с минимальной энергией. Во-вторых, искажения связи и валентного угла в молекулах энергетически очень затратные. Поэтому, хотя некоторые алгоритмы стыковки используют алгоритмы размещения и соединения, наиболее часто ориентируются только на алгоритмах пошагового построения. Алгоритмы пошагового построения обычно состоят из трех шагов: 1) выбор набора фрагментов привязки, 2) размещение привязки. фрагменты в активном сайте и 3) поэтапная фаза строительства [103].

Несколько фрагментов лиганда могут служить якорным фрагментом для последующего конструирования. Подмножество начальных размещений для процедуры поэтапного построения выбирается на основе нескольких факторов, в том числе количества совпадающих пар водородных связей, высокого балла за размещение якоря и низкого сходства с другими размещениями. После добавления фрагмента устраняется стерическая деформация и оптимизируется геометрия водородных связей. Окончательные размещения затем фильтруются, уточняются и оцениваются с использованием метода силового поля. Хотя процедура включает в себя несколько ручных шагов, общая применимость инкрементной конструкции для молекулярного докинга может быть успешно продемонстрирована. Полностью автоматизированные алгоритмы инкрементного построения доступны в таких программах стыковки, как DOCK, FlexX и Hammerhead. Программа Hammerhead несколько отличается от DOCK и FlexX своей стратегией построения. Вместо формирования небольших фрагментов путем разрезания лиганда по каждой вращающейся связи рассматривается набор более крупных фрагментов. На этапе построения добавляется следующий

фрагмент с перекрывающимися соединяющими атомами или связями. Углы закручивания добавленных фрагментов не замеряются [103]..

Гибкая стыковка белков. Большинство современных программ стыковки белок-лиганд рассматривают белок как жесткий. Это предположение является разумным во многих случаях, однако в других случаях было показано, что белок может регулировать свою конформацию при связывании с лигандом. Следовательно, было бы желательно смоделировать гибкость белков в исследованиях по докингу. В принципе, белковая гибкость может быть введена через MC или MD. Во время MD-моделирования только гибкие атомы рецепторного участка могут свободно двигаться. Модель включает неявные или явные модели сольватации. Хотя только часть белка подвергается движениям MD, процедура все еще очень медленная. Поэтому были разработаны подходы к фрагментации, чтобы ускорить задействование белковой гибкости.

Энергетические функции, полученные из первых принципов, обычно используются для оценки способности связывания между белками и предполагаемыми лигандами. Хотя в последнее время были предприняты некоторые попытки преодоления, сложные методы, такие как возмущение свободной энергии или теория линейного отклика, в настоящее время слишком медленны, чтобы их можно было использовать в приложениях молекулярного докинга. Были разработаны быстрые функции, которые включают большое количество упрощений и, как таковые, не описывают строго связывающую свободную энергию. Эти функции обычно называют скоринговыми функциями [103]..

Функции оценки можно разделить на несколько классов:

1) оценка, основанная на силовом поле, функции обычно полагаются на несвязанные условия взаимодействия. Иногда включают термины сольватации.

2) Также часто используются функции оценки на основе регрессии.

3) Недавно появились функции оценки, основанные на знаниях, которые используют статистические парные потенциалы атомов для расчета оценки.

4) Альтернативные протоколы оценки включают химические оценки, оценки контакта или дополнительные оценки формы. Наконец, следует упомянуть, что функции оценки в настоящее время являются ахиллесовой пятой программ стыковки, и до сих пор не разработана функция оценки, которая могла бы последовательно идентифицировать правильный способ связывания для любого данного комплекса белок-лиганд.

Суть скоринговых функций состоит в том, чтобы отделить правильные конформационные положения от неправильных или связующие вещества от неактивных соединений. Оценочные функции включают расчет аффинности связывания между белком и лигандом и с помощью этих функций принятие различных допущений и упрощений.

Самым распространенным программным пакетом для молекулярного моделирования является Autodock 4.2. Этот программный пакет предусматривает проведение гибкого рецепторно-ориентированного молекулярного докинга, создающего виртуальные условия, позволяющие максимально приблизить образование комплекса между исследуемой молекулой и рецептором к условиям, существующим в биологических системах.

Молекулярная стыковка с помощью AutoDock 4.2 происходит в несколько этапов:

- загрузка файла .pdb с координатами атомов для каждой молекулы;
- преобразование файлов .pdb в формат .pdbqt с помощью программы AutoDock Tools;
- вычисление потенциала в узлах сетки программой AutoGrid;

- Запуск AutoDock для поиска оптимальных положений лиганда в сайте мишени;
- визуализация и анализ результатов

В результате работы Autodock для одного лиганда получают dlg файл. В нем записано подробный отчет о работе программы. Он содержит результаты каждого конкретного запуска с конечным положением лиганда (структура лиганда записана в формате pdbqt) с определенной энергией. Положение лиганда в активном сайте позволяет предусматривать механизм связывания.

Результаты докинговых исследований представлены в разработанных файлах dlg и pdbqt в виде скоринговых функций (Affinity DG), конечной энергии взаимодействия ΔG или EDос ккал/моль и константы связывания K_i

Полученные результаты молекулярной стыковки могут использоваться для обоснования целесообразности проведения экспериментального скрининга и для рационального проектирования новых молекул.

ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 2

1. Анализ влияния фармакофоров и функциональных группировок на антибактериальный профиль известных фторхинолонов и концепция молекулярной гибридизации приняты как новая и привлекательная стратегия для создания виртуальной библиотеки новых модифицированных фторхинолонов

2. В качестве эффективного инструмента для прогнозирования активности и аффинности к выбранной мишени рекомендуется использование виртуальной стыковки (молекулярного докинга).

3. Для виртуальной стыковки рекомендуется программный пакет Autodock 4.2, который предусматривает проведение гибкого рецепторно-ориентированного молекулярного докинга. Гибкий докинг позволит создать условия, которые максимально приблизят образование комплекса между исследуемой лигандом и рецептором к условиям *in vivo* или *in vitro*.

РАЗДЕЛ 3. ДОКИНГОВЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОТИВОМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ ФТОРХИНОЛОНОВ

3.1. Молекулярный докинг: расчет оценочных значений новых фторхинолонов в отношении ДНК-гиразы *Staphylococcus aureus*.

Для рецепторно-ориентированного гибкого докинга использовали пакет программ Autodock 4.2. Подготовка лигандов производилась с помощью программы MGL Tools 1.5.6. Оптимизация лигандов проводилась с помощью программы Avogadro для перевода исходного лиганда в формат .mol в формат .pdb. Для расчетов в программе Autodock 4.2. исходные форматы данных рецептора и лигандов конвертировались в специальный формат .pdbqt. В качестве биологических мишени для докинга использованы активный центр макромолекулы из Protein Data Bank (PDB) ДНК-гиразы *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 2XCR). Карты рецепторов готовили в программах MGL Tools и AutoGrid. Из PDB файла ID: 2XCR были удалены ионы, молекулы воды, и лиганд. В таблице 3.1 приведены главные характеристики докинга.

Таблица 3.1. Основные параметры метода

Параметр	Значения
шаг поступательного движения	2 Å
толерантность кластера	2 Å
коэффициент торсионной свободы	0,2983
внешняя энергия решетки	1000
максимальная начальная энергия	0
максимальное количество попыток	10000
количество структур в популяции	150
максимальное количество генераций	27000
максимальное количество этапов оценки энергии	2500000
количество структур, переходящих в следующее	1

поколение	
уровень кроссовера	0.8
способ кроссовера	арифметический
β -параметр распределения Гаусса	1
α -параметр распределения Гаусса	0
уровень генной мутации	0,02

Выбор мишени для виртуальной стыковки связан с общепринятым механизмом действия фторхинолоновых агентов. Антибактериальная активность фторхинолонов достигается благодаря ингибированию ферментов бактериальной топоизомеразы II типа, ДНК-гиразы (субъединицы, кодируемые *gyrA* и *gyrB*), фермент, участвующий в репликации, рекомбинации и репарации ДНК. Они также могут связываться с топоизомеразой IV (субъединицы, кодируемые по парам C и E). Инактивация клеток связана с захватом белка топоизомеразы комплексом ДНК с целью нарушения нормальной репликации ДНК за счет повреждения ДНК. Такой клеточный механизм инактивации вызван блокировкой сверхспирализации ДНК [104]. Топоизомеразы IIА расщепляют и восстанавливают ДНК для регулирования топологии ДНК и являются основной мишенью для антибактериальных препаратов, однако не имеет хорошо разработанной структурной основы для понимания механизма действия препарата. Недавние исследования сообщили о кристаллической структуре нового класса антибактериального средства широкого спектра в комплексе с ДНК-гиразой и ДНК золотистого стафилококка, демонстрируя новый способ ингибирования, обходящий резистентность к фторхинолону в этой клинически важной лекарственной мишени (рис. 3.1).

Ингибитор "соединяет" ДНК и временный некаталитический карман на двойной оси на димерном участке *GyrA*, который расположен близко к активным центрам и сайтам связывания фторхинолона.

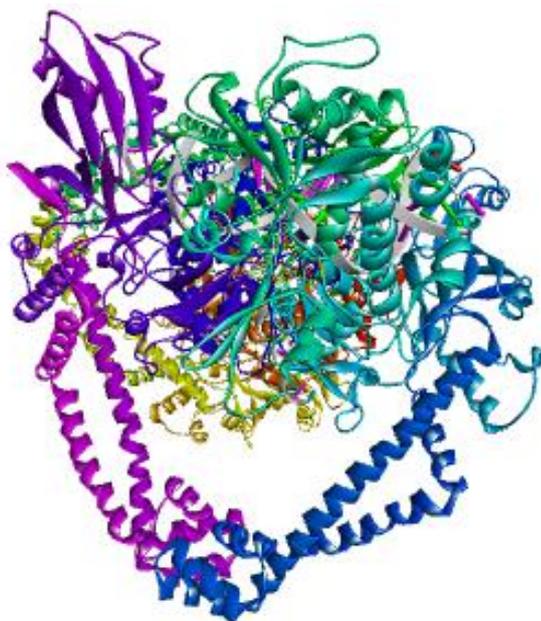


Рис. 3.1. Кристаллографическая модель ДНК-гиразы *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 2XCR)

В комплексе ингибиторов активный центр, кажется, готов расщеплять ДНК с одним ионом металла, который расположен между доменом TOPRIM и расщепляющим фосфатом. Разработка дает новое представление о новых механизмах действия и возможности создания платформы для конструирования лекарственных средств на основе структур нового класса антибактериальных средств относительно клинически проверенного и конформационно гибкого класса ферментов [105].

Рассчитанные оценочные значения молекулярного докинга указывают на то, что генерируемые молекулы обладают сродством к выбранной ДНК-гиразе, все значения превышают абсолютные значения ципрофлоксацина. Среди тестируемых молекул найден лидера (молекула 2) с результатами стыковки: Affinity DG = -7,6 ккал/моль, EDoc = -6,17 ккал/моль, Ki мкМ = 30,04 мкмоль) (рис. 3.2, табл. 3.2).

Ингибирующая активность исследуемых молекул по отношению к выбранной мишени может быть реализована за счет образования между ними комплексов, устойчивость которых обеспечивается за счет энергетически выгодного геометрического расположения испытуемых молекул в активном центре фермента ДНК-гиразы *Staphylococcus aureus*, образование

межмолекулярных взаимодействий между ними, а именно: водородных связей, донорно-акцепторных взаимодействий, электростатических и гидрофобных контактов.

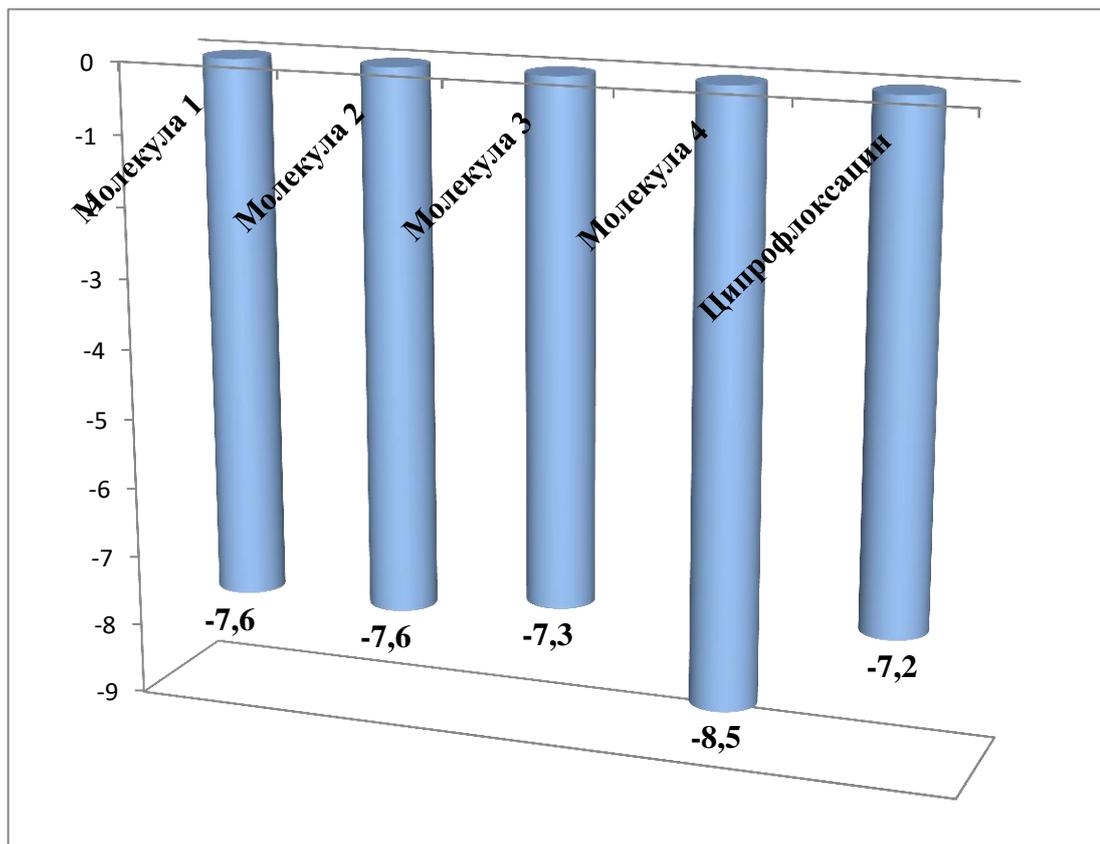


Рис. 3.2. Значения скоринговой функции (Affinity DG) с ДНК-гиразой *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 2XCR)

Таблица 3.2. Значения свободной энергии и констант связывания сгенерированных молекул по отношению к ДНК-гиразе *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 2XCR)

Молекула	Оценочные значения	
	EDoc kcal/mol	Ki uM micromolar
Молекула 1	-5.98	41.66
Молекула 2	-6.17	30.04
Молекула 3	-5.34	120.98

Молекула 4	-5.43	104.05
Ципрофлоксацин	-5.10	183.79

3.2. Визуализация образованных комплексов фторхинолонов с ДНК-гиразой *Staphylococcus aureus*

В основе результативности визуализации виртуальной стыковки лежит детальный анализ геометрического расположения лучших конформационных положений в активном сайте стыковочного фермента. Благодаря такому анализу можно количественно и качественно оценить сродство (аффинитет) исследуемых молекул к мишени.

Визуализацию стыковки образованных комплексов исследуемых фторхинолонов с ДНК-гиразой проводили с помощью программы Discovery Studio Visualizer. На рис. 3.3-3.10 наведены диаграммы межмолекулярных взаимодействий молекул (положение в геометрической плоскости 2D) и суперпозиции лучших конформационных положений исследуемых лигандов (положение в пространстве 3D) в активном сайте ДНК-гиразы *Staphylococcus aureus*.

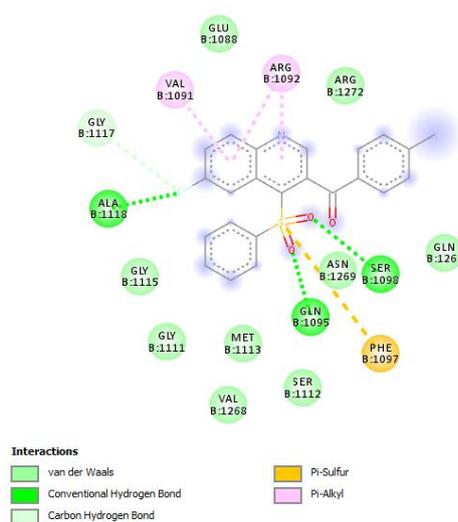


Рис. 3.3 Диаграмма межмолекулярных взаимодействий молекулы 1 в активном сайте ДНК гиразы *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 2XCR)

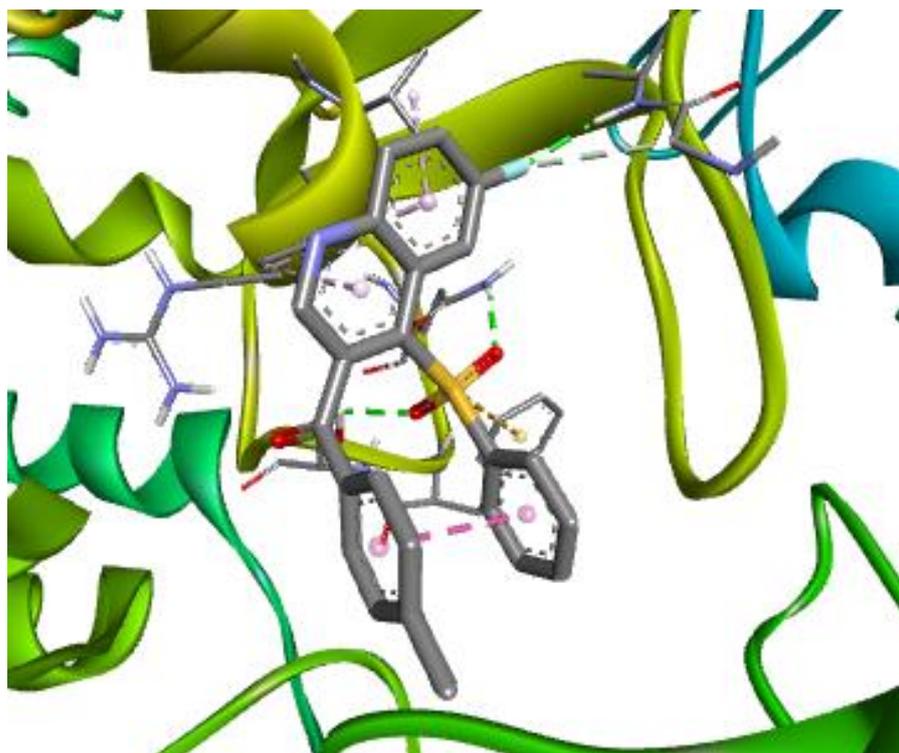


Рис. 3.4 Суперпозиция молекулы 1 в активном сайте ДНК гиразы *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 2XCR)

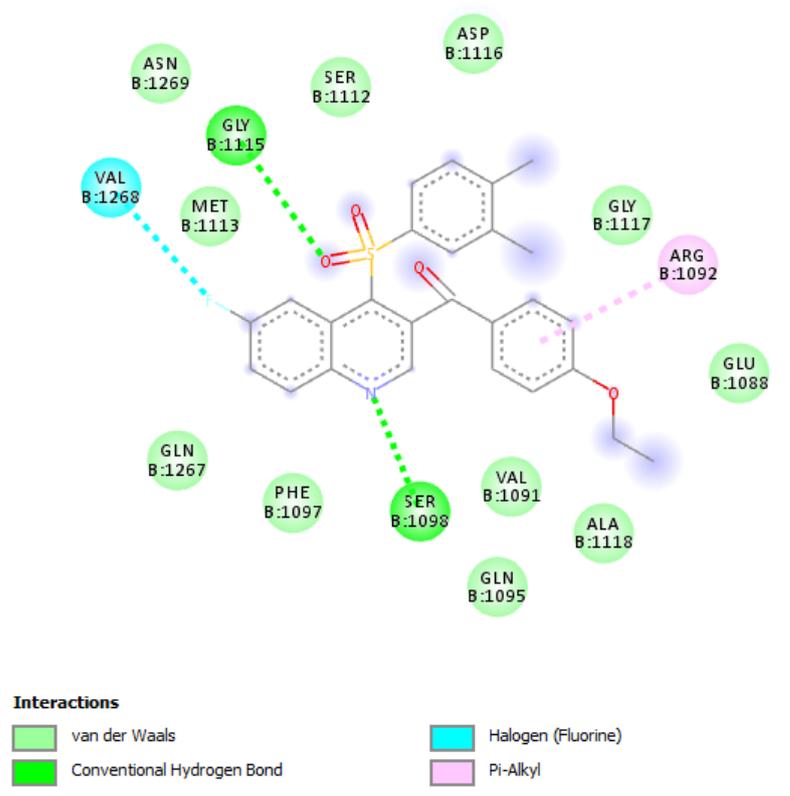


Рис. 3.5. Диаграмма межмолекулярных взаимодействий молекулы 2 в активном сайте ДНК гиразы *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 2XCR)

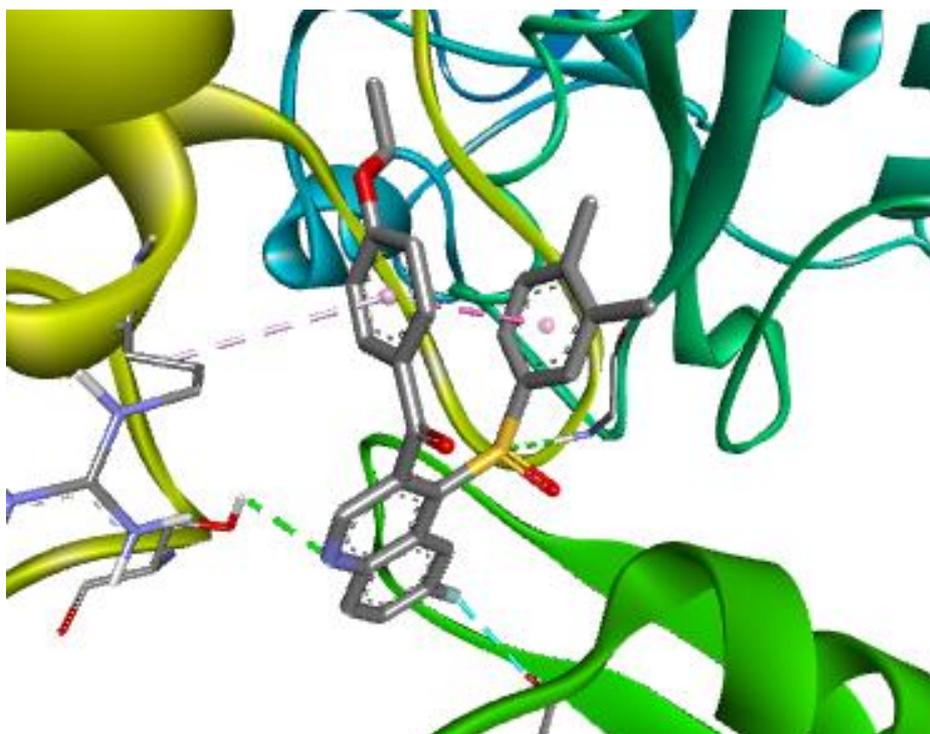


Рис. 3.6. Суперпозиция молекулы 2 в активном сайте ДНК гиразы *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 2XCR)

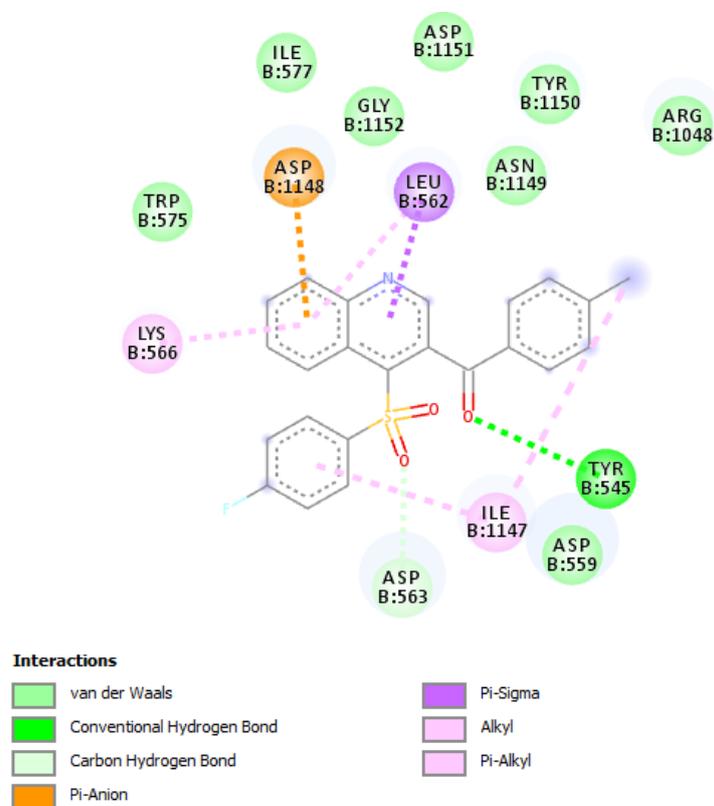


Рис. 3.7. Диаграмма межмолекулярных взаимодействий молекулы 3 в активном сайте ДНК гиразы *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 2XCR)

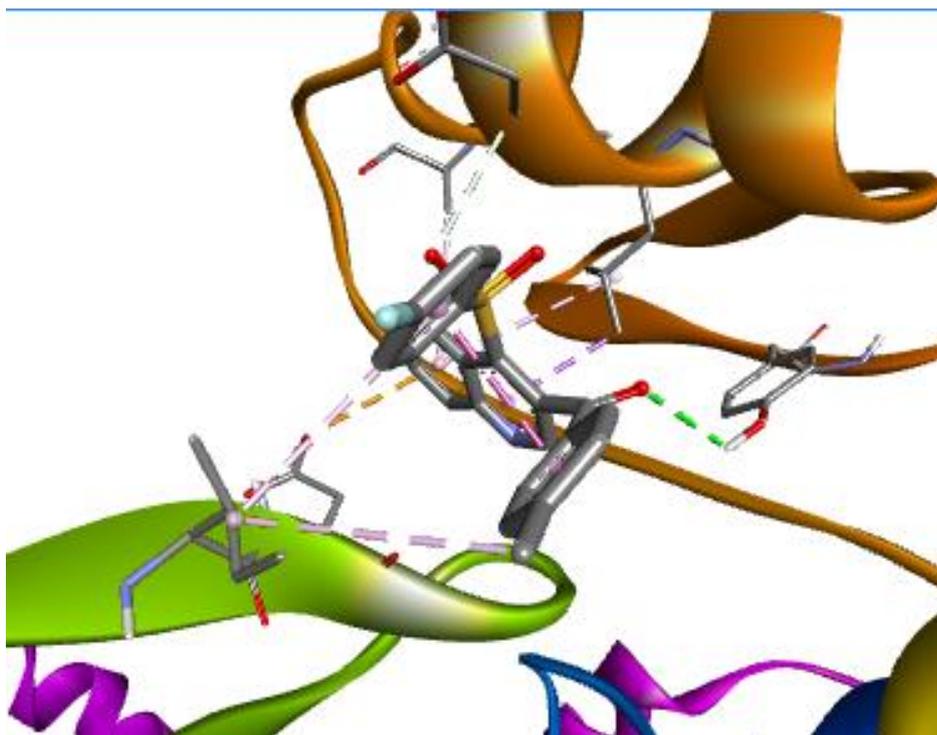


Рис. 3.8. Суперпозиция молекулы 3 в активном сайте ДНК гиразы *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 2XCR)

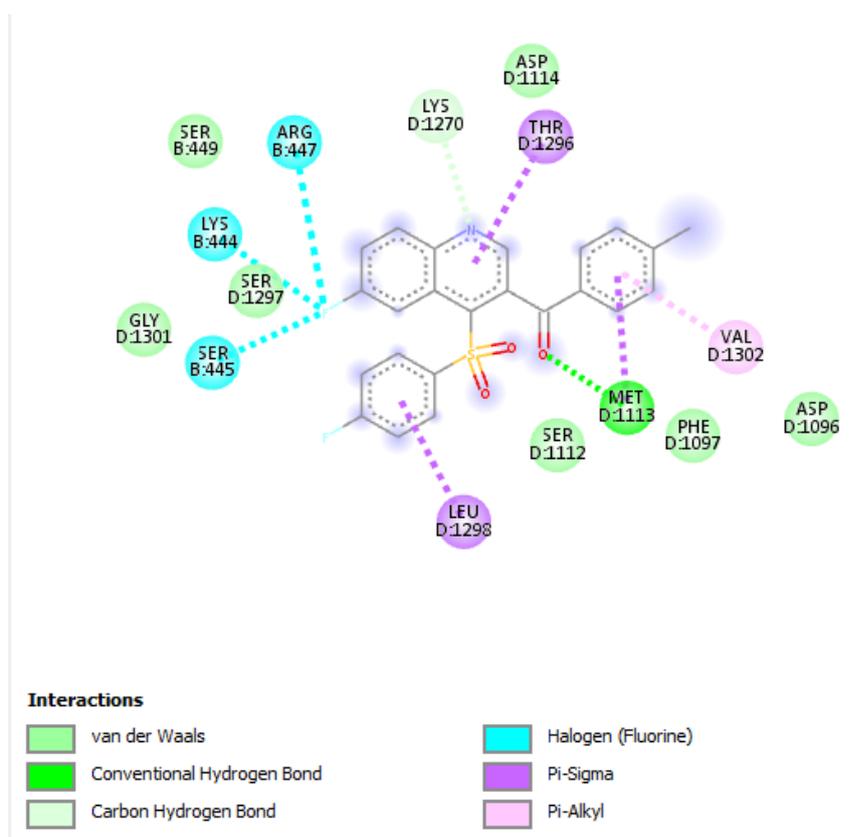


Рис. 3.9. Диаграмма межмолекулярных взаимодействий молекулы 4 в активном сайте ДНК гиразы *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 2XCR)

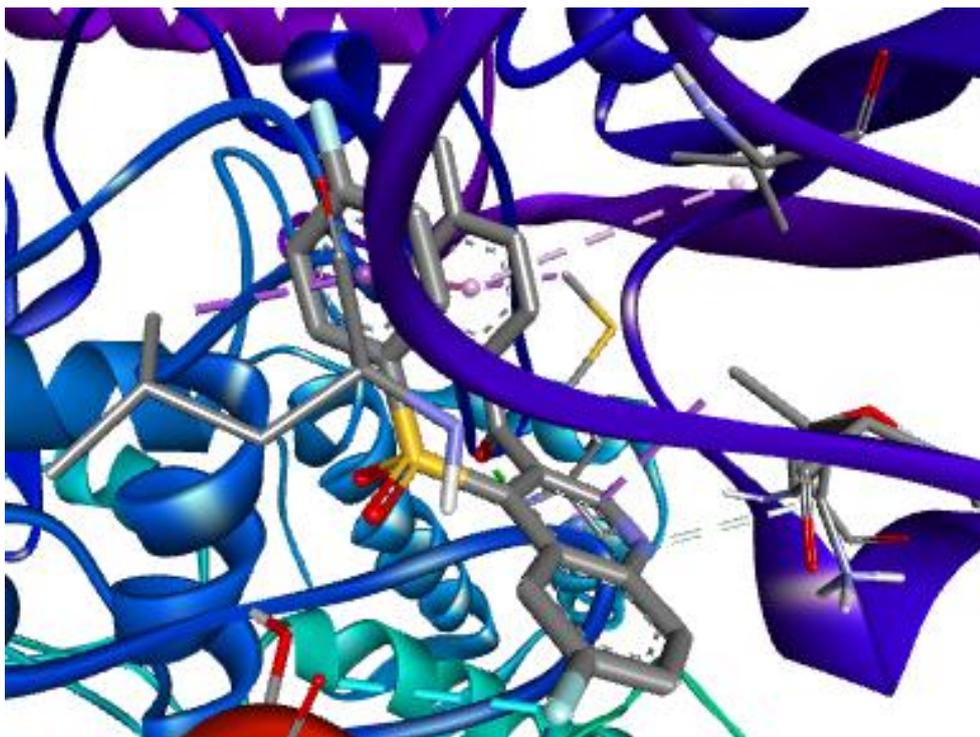


Рис. 3.10. Суперпозиция молекулы 4 в активном сайте ДНК гиразы *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 2XCR)

Исходя из структурных предпосылок, сохранение атома Флуора в 6 положении, введение фенил-1-карбонильного фрагмента в 3 положения, модификация молекулы фенилсульфонильным остатком в 4 положении хинолинового каркаса и дополнительное насыщение молекул как донорными так и акцепторными заместителями в фенилсульфонильном фрагменте молекул способствовало улучшению аффинитета по сравнению с классическими фторхинолонами, которые имеют существенные замещения преимущественно в положения 1 и 7. Визуализация стыковки четко указывает типы межмолекулярных взаимодействий, которые образуются между фрагментами молекул и остатками аминокислот сайта ДНК-гиразы.

На основании такой визуализации с учетом вычисленных оценочных значений можно дать рекомендации для будущей проектировки молекул фторхинолонового ряда:

- наличие хинолинового гетеро цикла и атома Фтора в положении 6;

- введение ароматических или гетероциклических включений в 3 положения и модификация молекулы фенилсульфонильным остатком в 4 положении хинолинового каркаса;

- насыщение молекул как донорными, так и акцепторными заместителями в фенилсульфонильном остатке молекул будет способствовать повышению активности.

ВЫВОДЫ К РАЗДЕЛУ 3

1. Рассчитанные оценочные значения молекулярного докинга указывают на то, что генерируемые молекулы обладают сродством к выбранной ДНК-гиразе, все значения превышают абсолютные значения ципрофлоксацина. Среди тестируемых молекул найден лидера (молекула 2) с результатами стыковки: Affinity DG = -7,6 ккал/моль, EDос = -6,17 ккал/моль, Ki мкМ = 30,04 мкмоль)
2. Ингибирующая активность исследуемых молекул по отношению к ДНК-гиразе *Staphylococcus aureus* может быть реализована за счет образования между ними устойчивых комплексов. Такая вероятность подтверждаются вычисленными значениями скоринковых функций, свободных энергий и констант связывания.
3. Визуализация стыковки четко указывает типы межмолекулярных взаимодействий, которые образуются между фрагментами молекул и остатками аминокислот сайта ДНК-гиразы.
4. Исходя из структурных предпосылок и результатами молекулярного докинга следует, что сохранение атома Фтора в 6 положении, введение фенил-1-карбонильного фрагмента в 3 положение, модификация молекулы фенилсульфонильным остатком в 4 положении хинолинового каркаса и дополнительное насыщение молекул как донорными так и акцепторными заместителями в фенилсульфонильном фрагменте молекул способствовало улучшению афинитета по сравнению с классическими фторхинолонами, которые имеют существенные замещения преимущественно в положения 1 и 7.
5. Полученные результаты исследования и проведенная структурная модификации базовых каркасов фторхинолонов могут быть полезны при планировании фармакологического скрининга и для оптимизации поиска новых аналогов фторхинолонов.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Проанализированы, систематизированы и обобщены данные относительно фторхинолонов как эффективных молекул противомикробного действия. Полученные данные фармакологического скрининга, анализа зависимости структура-активность (SAR), докинковых исследований свидетельствуют о перспективности рационального дизайна активных кандидатов.
2. Анализ влияния фармакофоров и функциональных группировок на антибактериальный профиль известных фторхинолонов и концепция молекулярной гибридизации приняты как новая и привлекательная стратегия для проектирования новых модифицированных фторхинолонов.
3. В качестве эффективного инструмента для прогнозирования активности и аффинности к выбранной мишени рекомендуется использование виртуальной стыковки (молекулярного докинга). Для исследований рекомендуется программный пакет Autodock 4.2, который предусматривает проведение гибкого рецепторно-ориентированного молекулярного докинга
4. Рассчитанные оценочные значения молекулярного докинга указывают на то, что генерируемые молекулы обладают сродством к выбранной ДНК-гиразе, все значения превышают абсолютные значения ципрофлоксацина. Среди тестируемых молекул найден лидера (молекула 2) с результатами стыковки: Affinity DG = -7,6 ккал/моль, EDoc = -6,17 ккал/моль, Ki мкМ = 30,04 мкмоль.
5. Ингибирующая активность исследуемых молекул по отношению к ДНК-гиразе *Staphylococcus aureus* может быть реализована за счет образования между ними устойчивых комплексов. Такая вероятность подтверждается вычисленными значениями скоринговых функций, свободных энергий и констант связывания.

6. Визуализация стыковки четко указывает типы межмолекулярных взаимодействий, которые образуются между фрагментами молекул и остатками аминокислот сайта ДНК-гиразы.
7. Исходя из структурных предпосылок и результатами молекулярного докинга следует, что сохранение атома Фтора в 6 положении, введение фенил-1-карбонильного фрагмента в 3 положение, модификация молекулы фенилсульфонильным остатком в 4 положении хинолинового каркаса и дополнительное насыщение молекул как донорными так и акцепторными заместителями в фенилсульфонильном фрагменте молекул способствовало улучшению аффинитета по сравнению с классическими фторхинолонами, которые имеют существенные замещения преимущественно в положения 1 и 7.
8. Полученные результаты исследования и проведенная структурная модификации базовых каркасов фторхинолонов могут быть полезны при планировании фармакологического скрининга и для оптимизации поиска новых аналогов фторхинолонов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Roles of long noncoding RNAs in bacterial infection / Y. Wen, H. Chen, F. Luo et al. *Life Sci.* 2020. 263. P. e118579.
2. Barker B.L., Brightling C. Pharmacological treatment of bacterial infections of the respiratory tract, *Anaesth. Intensive Care Med.* 2018. 19 (2). P. 72-75.
3. Deusenbery C., Wang Y., Shula A. Recent innovations in bacterial infection detection and treatment, *ACS Infect. Dis.* 2021. 7 (4). P. 695-720.
4. Photodynamic antimicrobial chemotherapy with cationic phthalocyanines against *Escherichia coli* planktonic and biofilm cultures / M. Li, B. Mai, A. Wang et al. *RSC Adv.* 2017. 7. P. 40734-40744.
5. van Duin D., Paterson D.L. Multidrug-resistant bacteria in the community: an update, *Infect. Dis. Clin.* 2020. 34 (4). P. 709-722.
6. van Duin D., Paterson D.L. Multidrug-resistant bacteria in the community: Trends and lessons learned, *Infect. Dis. Clin.* 2017. 30 (2). P. 7377-7390.
7. O'Neill J. Tackling Drug-Resistant Infections Globally: Final Report and Recommendations (The Review on Antimicrobial Resistance. 2016. Assess, <https://apo.org.au/sites/default/files/resource-files/2016-05/apo-nid63983.pdf>.
8. Levy S.B., Marshall B. Antibacterial resistance worldwide: Causes, challenges and responses, *Nat. Med.* 2004. 10. P. S122-S129.
9. Jansen K.U., Knirsch C., Anderson A.S. The role of vaccines in preventing bacterial antimicrobial resistance, *Nat. Med.* 2018. 24. P. 10-19.
10. Near-infrared light brightens bacterial disinfection: recent progress and perspectives / Q. Han, J.W. Lau, T.C. Do et al. *ACS Appl. Bio. Mater.* 2021. 4 (5). P. 3937-3961.
11. Ezelarab H.A.A., Abbas S.H., Hassan H.A. Recent updates of fluoroquinolones as antibacterial agents, *Arch. Pharm.* 2018. 351 (9). P. e1800141.
12. Jiang D. 4-Quinolone derivatives and their activities against Gram-negative pathogens, *J. Heterocycl. Chem.* 2018. 55 (9). P. 2003-2018.

13. Hu Y.Q., Zhang S., Xu Z. Feng, 4-Quinolone hybrids and their antibacterial activities, *Eur. J. Med. Chem.* 2017. 141. P. 335-345.
14. Recent developments of quinolone-based derivatives and their activities against *Escherichia coli* / F. Gao, P. Wang, H. Yang et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2018. 157. P. 1223-1248.
15. Suaifan G.A.R.Y., Mohammed A.A.M. Fluoroquinolones structural and medicinal developments (2013-2018): where are we now? *Bioorg. Med. Chem.* 2019. 27 (14). P. 3005-3060.
16. Quinolone derivatives and their activities against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) / C. Gao, Y.L. Fan, F. Zhao et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2018. 157. P. 1081-1095.
17. Biological activity of amphiphilic metal complexes Coordin / C. Schattschneider, S. Doniz Kettenmann, S. Hinojosa et al. *Chem. Rev.* 2019. 385. P. 191-207.
18. Chellan P., Sadler P.J. Enhancing the activity of drugs by conjugation to organometallic fragments, *Chem. Eur J.* 2020. 26 (40). P. 8676-8688.
19. Nandanwar S.K., Kim H.J. Anticancer and antibacterial activity of transition metal complexes, *Chemistry.* 2019. 4 (5). P. 1706-1721.
20. Metal complexes as promising agents for biomedical applications / N.V. Loginova, H.I. Harbatsevich, N.P. Osipovich et al. *Curr. Med. Chem.* 2020. 27 (31). P. 5213-5249.
21. New triorganotin(IV) complexes of quinolone antibacterial drug sparfloxacin: synthesis, structural characterization, DFT studies and biological activity / R. Joshi, N. Pandey, R. Tilak et al. *Appl. Organomet. Chem.* 2018. 32 (5). P. E4324.
22. Combined experimental and theoretical studies on the diorganotin(IV) complexes of sparfloxacin: synthesis, spectroscopic and DFT studies, and biological activity / R. Joshi, S.K. Yadav, N. Pandey et al. *J. Mol. Struct.* 2018. 1167. P. 44-56.

23. Interaction of triorganotin(IV) moiety with quinolone antibacterial drug ciprofloxacin: synthesis, spectroscopic investigation, electronic structure calculation, and biological evaluation / R. Joshi, S.K. Yadav, H. Mishra et al. *Heteroat. Chem.* 2018. 29 (4). P. E21433.
24. Liang, Structural characterization and pharmacological assessment in vitro/in vivo of a new copper(II)-based derivative of enrofloxacin / R.F. Guo, H.T. Yan, R.X. Liu et al. *Metall.* 2020. 12 (12). P. 2145-2160.
25. Fluoroquinolone metalloantibiotics: a promising approach against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* / L.J. Bessa, D. Bongiorno, F. Campanile et al. *Int. J. Environ. Res. Publ. Health.* 2020. 17 (9). P. e3127.
26. Antibacterial activity and action mode of Cu(I) and Cu(II) complexes with phosphines derived from fluoroquinolone against clinical and multidrug-resistant bacterial strains / M. Cal, K. Guz-Regner, U.K. Komarnicka et al. *J. Inorg. Biochem.* 2020. 210. P. e111124.
27. Synthesis, characterization, antimicrobial activity, 3D-QSAR, DFT, and molecular docking of some ciprofloxacin derivatives and their copper(II) complexes / T.E. Khalil, A. El-Dissouky, D. Al-Wahaib et al. *Appl. Organomet. Chem.* 2020. 34 (12). P. E5998.
28. Kumar M., Kumar G., Dadure K.M. Copper(II) complexes based on levofloxacin and 2N-donor ligands: synthesis, crystal structures and in vitro biological evaluation. *New J. Chem.* 2019. 43 (38). P. 15462-15481.
29. Sultana N., Arayne M.S., Siddiqi A.Z. Synthesis and antibacterial studies of ciprofloxacin-metal complexes, *J. Chin. Pharmaceut. Sci.* 2019. 28 (6). P. 422-429.
30. Ciprofloxacin-metal complexes stability and toxicity tests in the presence of humic substances / A. Cuprys, R. Publicharla, J. Lecka et al. *Chemosphere.* 2018. 202. P. 549-559.
31. New bioactive Co(II) and Ni(II) complexes with ofloxacin mixedligand / A. Reiss, R.A. Mitran, C. Babeanu et al. *Rev. Chem.* 2020. 71 (10). P. 11-27.

32. Shen G.Z., Zou G.H., Li H.Y. Crystal structure and antibacterial activity of polyoxometalate cobalt-ciprofloxacin complex, *J. Mol. Struct.* 2019. 1198. P. e126831.
33. Refaat H.M., Noor El-Din D.A. Chemical and biological evaluation of moxifloxacin-benzimidazole mixed ligands complexes: anti-cancer and antioxidant activities, *J. Mol. Struct.* 2018. 1163. P. 103-113.
34. Al-Saif F.A., Alibrahim K.A., Alfurhood J.A. Synthesis, spectroscopic, thermal, biological, morphological and molecular docking studies of the different quinolone drugs and their cobalt(II) complexes. *J. Mol. Liquids* 2018. 249. P. 438-453.
35. Introduction of the antibacterial drugs norfloxacin and Ciprofloxacin into a polyoxometalate structure: synthesis, characterization, and antibacterial activity / Y.L. Zou, H.Y. Li, W. Zhou et al. *J. Mol. Struct.* 2020. 1205. P. e127584.
36. Synthesis, characterization and biological evaluation of Co(III) complexes with quinolone drugs / M. Kozsup, E. Farkas, A.C. Benyei et al. *J. Inorg. Biochem.* 2019. 193. P. 94-105.
37. A new calcium(II) complex of marbofloxacin showing much lower acute toxicity with retained antibacterial activity / Y.J. Xie, M.X. Yu, Q.Z. Yang et al. *J. Inorg. Biochem.* 2020. 203. P. e110905.
38. Kakoulidou C., Kalogiannis S., Angaridis P. Synthesis, characterization and biological activity of Zn coordination compounds with the quinolone gatifloxacin. *Polyhedron.* 2019. 166. P. 98-108.
39. Elshafie H.S., Sakr S.H., Sadeek S.A. Biological investigations and spectroscopic studies of new moxifloxacin/glycine-metal complexes, *Chem. Biodivers.* 2019. 16 (3). P. E1800633.
40. Luneau, New model of metalloantibiotic: synthesis, structure and biological activity of a zinc(II) mononuclear complex carrying two enrofloxacin and sulfadiazine antibiotics / A. Boughoual, F.Z. Cherchali, A. Messai et al. *New J. Chem.* 2018. 42 (18). P. 15346-1535.

41. Synthesis, spectroscopic, and biological studies of mixed ligand complexes of gemifloxacin and glycine with Zn(II), Sn(II), and Ce(III) / S.H. Sakr, H.S. Elshafie, I. Camele et al. *Molecules*. 2018. 23. P. e1182.
42. Spectral, structural, biological and molecular docking studies of a new mixed-valence V(IV)/V(V) ofloxacin complex / M. Alikhani, M. Dusek, V. Eigner et al. *J. Mol. Struct.* 2020. 1216. P. e128300.
43. Synthesis of moxifloxacin-Au (III) and Ag (I) metal complexes and their biological activities / K. Seku, A.K. Yamala, M. Kancherla et al. *J. Anal. Sci. Technol.* 2018. 9 (1). P. e14.
44. Asadi Z., Firuzabadi F.D. Experimental and computational studies of the interaction of gemifloxacin and manganese (II) gemifloxacin complex with DNA, *J. Mol. Struct.* 2021. 1224. P. e129248.
45. Synthesis, thermogravimetric, and spectroscopic characterizations of three palladium metal(II) ofloxacin drug and amino acids mixed ligand complexes as advanced antimicrobial materials / A.M.A. Adam, M.A. Al-Omar, N.S. Al-Shakliah. *J. Mol. Struct.* 2021. 1225. P. e129102.
46. Design, synthesis, and biological evaluation of novel 8-methoxyquinolones bearing fused pyrrolidinyl moieties at the C-7 position with potent antibacterial activity against respiratory pathogens / T. Odagiri, H. Inagaki, M. Nagamochi et al. *Heterocycles*. 2018. 96 (5). P. 858-881.
47. Design, synthesis, and biological evaluation of novel 7-[(3aS, 7aS)-3-aminohexahydropyrano[3,4-c]pyrrol-2(3H)-yl]-8-methoxyquinolines with potent antibacterial activity against respiratory pathogens / T. Odagiri, H. Inagaki, M. Nagamochi et al. *J. Med. Chem.* 2018. 61 (16). P. 7234-7244.
48. N-Substituted piperazinyl sarafloxacin derivatives: synthesis and in vitro antibacterial evaluation / A. Asadipour, M.H. Moshafi, L. Khosravani et al. *DARU J. Pharm. Sci.* 2018. 26 (2). P. 199-207.
49. Novel Mannich bases of ciprofloxacin with improved physicochemical properties, antibacterial, anticancer activities and caspase-3 mediated

- apoptosis / I.M. Abdel-Rahman, M. Mustafa, S.A. Mohamed et al. *Bioorg. Chem.* 2021. 107. P. e104629.
50. Mahdavi M., Mostafavi H., Shahbazi A. Novel N-4-piperazinyl ciprofloxacin-ester hybrids: synthesis, biological evaluation, and molecular docking studies, *Russ. J. Gen. Chem.* 2020. 90 (8). P. 1558-1565.
51. Bansal M., Kaur G., Kaur M. Theoretical biomolecular predictions and antimicrobial activities of newly synthesized molecular hybrids of norfloxacin and ciprofloxacin, *J. Heterocycl. Chem.* 2020. 57. P. 225-237.
52. Synthesis, antimicrobial activity and QSAR studies of some new sparfloxacin derivatives / A. Kumar, A.S. Grewal, V. Singh et al. *Pharm. Chem. J.* 2018. 52 (5). P. 444-454.
53. N-4 piperazinyl derivatives of norfloxacin: design, synthesis, and correlation of calculated physicochemical parameters with antibacterial activity / G.E.D. Abuo-Rahma, S. Abbas, M. Shoman et al. *Turk. J. Chem.* 2018. 42 (4). P. 1072-1085.
54. Synthesis, antibacterial properties and 2D-QSAR studies of quinolone-triazole conjugates / H.M. Faidallah, A.S. Girgis, A.D. Tiwari et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2018. 143. P. 1524-1534.
55. Synthesis of bioactive complex small molecule-ciprofloxacin conjugates and evaluation of their antibacterial activity / R. Upadhyay, R. Kumar, M. Jangra et al.. *ACS Comb. Sci.* 2020. 22 (9). P. 440-445.
56. Pham T.D.M., Ziora Z.M., Blaskovich M.A.T. Quinolone antibiotics, *MedChemComm.* 2019. 10 (10). P. 1719-1739.
57. Synthesis of novel tetrazole containing hybrid ciprofloxacin and pipemidic acid analogues and preliminary biological evaluation of their antibacterial and antiproliferative activity / K. Dileep, S. Polepalli, N. Jain et al.. *Mol. Divers.* 2018. 22 (1). P. 83-93.
58. Elavarasan T., Sivakumar D., Gopalakrishnan M. Tetrazoles-ciprofloxacin hybrids as antibacterial and antifungal agents. 2018. *J. Pharm. Res.* 12 (5). P. 749-757.

59. Design and synthesis of aminothiazolyl norfloxacin analogues as potential antimicrobial agents and their biological evaluation / L.L. Wang, N. Battini, R.R.Y. Bheemanaboina et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2019. 167. P. 105-123.
60. A new exploration towards aminothiazolquinolone oximes as potentially multi-targeting antibacterial agents: design, synthesis and evaluation acting on microbes, DNA, HSA and topoisomerase IV / L.L. Wang, N. Battini, R.R.Y. Bheemanaboina et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2019. 179. P. 166-181.
61. Design, synthesis, molecular docking, and antibacterial activity evaluation of some novel norfloxacin analogues / S. Oniga, M. Palage, C. Araniciu et al. *FARMACIA.* 2018. 66 (6). P. 1048-1058.
62. Design and synthesis of new norfloxacin-1,3,4-oxadiazole hybrids as antibacterial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) / Y. Guo, T. Xu, C. Bao et al. *Eur. J. Pharmaceut. Sci.* 2019. 136. P. e104966.
63. Design, synthesis, and antibacterial screening of some novel heteroaryl-based ciprofloxacin derivatives as DNA gyrase and topoisomerase IV inhibitors / L.H. Al-Wahaibi, A.A. Amer, A.A. Marzouk et al.. *Pharmaceuticals* 2021. 14 (5). P. e399.
64. Fluoroquinolone-derived fluorescent probes for studies of bacterial penetration and efflux / M.R.L. Stone, M. Masi, W. Phetsang et al.. *MedChemComm.* 2019. 10 (6). P. 901-906.
65. Discovery of benzimidazole-quinolone hybrids as new cleaving agents toward drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* DNA / Y.N. Wang, R.R.Y. Bheemanaboina, W.W. Gao et al.. *ChemMedChem.* 2018. 13 (10). P. 1004-1017.
66. Akula R.K., Pamulaparthi S.R., Koochana P.K. Synthesis and in vitro antibacterial, antitubercular studies of novel fluoroquinolones analogs containing 4-substituted sec amine. *Curr. Bioact. Compd.* 2019. 15 (6). P. 656-664

67. Design, synthesis, and evaluation of novel N-1 fluoroquinolone derivatives: probing for binding contact with the active site tyrosine of gyrase / T.R. Towle, C.A. Kulkarni, L.M et al.. Oppegard et al.. *Bioorg Med Chem Lett*. 2018. 28. P. 1903-1910.
68. Bartzatt R., Cirillo S.L., Cirillo J.D. Antibacterial Derivatives of Ciprofloxacin to Inhibit Growth of Necrotizing Fasciitis Associated Penicillin Resistant *Escherichia coli*. *J Pharm*. 2013.
69. Aguilar L, Gimenez M, Garcia-Rey C. New strategies to overcome antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae* with β -lactam antibiotics. *J Antimicrob Chemoth*. 2002. 50. P. 93-100.
70. Design, synthesis and biological activity evaluation of novel pefloxacin derivatives as potential antibacterial agents / TR Allaka, N Polkam, P Rayam et al.. *Med Chem Res*. 2016. 25. P. 977-993.
71. Mamatha N., Babu N.S, Mukkanti K. 2-(6-Methoxynaphthalen-2-yl) propionic acid (1, 3-dimethylbutylidene) hydrazide. *Molbank*. 2011. M741.
72. Rollas S., Küçükgül S.G. Biological activities of hydrazone derivatives. *Molecules*. 2007. 12. P. 1910-1939.
73. Mohammed A.A., Suaifan G.A., Shehadeh M.B. Okechukwu PNJDr, Design, synthesis, and biological evaluation of 1, 8-naphthyridine glucosamine conjugates as antimicrobial agents. *Drug Dev Res*. 2018. 80. P. 179-186.
74. Synthesis and antibacterial activity of amino acid and dipeptide prodrugs of IMB-070593, a fluoroquinolone candidate / T. Zhang, J. Wu, S. Chen et al.. *Molecules*. 2014. 19. P. 6822-6837.
75. Gui H., Liu M., Liu B. Application of 7-(4-alkoxyimino-3-aminopiperidin-1-yl) fluoroquinolones and their combinations. *CN Patent*. 2010. 101863876. 20.
76. New azetidine-3-carbonyl-N-methyl-hydrazino derivatives of fluoroquinolones: synthesis and evaluation of antibacterial and anticancer

- properties / G.G. Rajulu, H.S.B. Naik, G.C. Kumar et al.. *Med Chem Res.* 2014. 23. P. 2856-2868.
77. Synthesis of new quinolone antibiotics utilizing azetidine derivatives obtained from 1-azabicyclo [1.1. 0] butane. *Chem Table 12 (continued)*
 Position Previous review 200195 Up-to-date prospects in fluoroquinolone modifications Recommendations C-7 • Enhances the number of intracellular targets for antimicrobial action • Optimal substituents have been found to be a minimum, a 5- or 6-membered nitrogen heterocycle⁹⁷. • Overwhelming majority of publications concern modifications at this position including compounds with promising activity against *M. tuberculosis* and MDR organisms. • The introduction of various amino acids led to improvement in activity²¹. • Worthy position for the synthesis of hybrid conjugates to combat resistant bacteria. C-8 • Substituents affect planar configuration and target affinity⁹⁸ • Halogen (F or Cl), methyl or methoxy substituent enhances antimicrobial potency^{97,100}. • C-7 and C-8 cyclization showed potential enhancement of antibacterial activity^{65–66}. • Modifications favors the production of potential antimycobacterial derivatives. Summary Selected substituents that have been useful additions to the quinolone molecule are shown in figure below N H O COOC₂H₅ O F NO₂ Substituents at N-1, C-3, C-7 and C-8 seen in tables (1–3) how potential antibacterial, antimycobacterial, anticancer and antifungal activity. R₁ NH₂ CH₃ R₅ or R₇ H N N H N or N O R₈ G.A.R.Y / Y. Ikee, K. Hashimoto, M. Kamino, et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* 2019. 27. P. 3005-3060
78. Ring substitution with 4-membered nitrogen-containing heterocycle, piperazinyl, halogen atoms, substituted hydrazinyl moieties or bicyclic substitution resulted in potential antibacterials / Y. Ikee, K. Hashimoto, M. Kamino et al.. *Pharm Bull.* 2008. 56. P. 346-356.
79. Azetidine-based inhibitors of dipeptidyl peptidase IV (DPP IV) / D. Ferraris, S. Belyakov, W. Li et al. *Curr Top Med Chem.* 2007. 7. P. 597-608.

80. Leyva-Ramos S., de Loera D., Cardoso-Ortiz J. In vitro antibacterial activity of 7- substituted-6-fluoroquinolone and 7-substituted-6, 8-difluoroquinolone derivatives. *Chemotherapy*. 2017. 62. P. 194-198.
81. Synthesis and antimycobacterial evaluation of new (2-oxo-2H-chromen-3-yl) substituted fluoroquinolones / V.N. Charushin, N.N. Mochulskaya, F.V. Antipin et al.. *J Fluor Chem*. 2018. 208. P. 15-23.
82. Synthesis, antimycobacterial and antibacterial evaluation of 1-[(1R, 2S)-2-fluorocyclopropyl] fluoroquinolone derivatives containing an oxime functional moiety / H. Liu, J. Huang, J. Wang et al.. *Euro J Med Chem*. 2014. 86. P. 628-638.
83. Synthesis, antimycobacterial and antibacterial activity of fluoroquinolone derivatives containing an 3-alkoxyimino-4-(cyclopropylamino) methylpyrrolidine moiety / T. Zhang, W. Shen, M. Liu et al.. *Euro J Med Chem*. 2015. 104. P. 73-85.
84. Asahina Y., Takei M., Kimura T. Synthesis and antibacterial activity of novel pyrido [1, 2, 3-de][1, 4] benzoxazine-6-carboxylic acid derivatives carrying the 3-cyclopropylaminomethyl-4-substituted-1-pyrrolidinyl group as a C-10 substituent. *J Med Chem*. 2008. 51. P. 3238-3249.
85. Synthesis, antimycobacterial and antibacterial activity of 1-(6-amino-3, 5-difluoropyridin-2-yl) fluoroquinolone derivatives containing an oxime functional moiety / J. Huang, M. Wang, B. Wang et al.. *Bioorg Med Chem Lett*. 2016. 26. P. 2262-2267.
86. Sriram D., Aubry A., Yogeewari P. Gatifloxacin derivatives: synthesis, antimycobacterial activities, and inhibition of Mycobacterium tuberculosis DNA gyrase. *Bioorg Med Chem Lett*. 2006. 16. P. 2982-2985.
87. New hydroxamic acid derivatives of fluoroquinolones: synthesis and evaluation of antibacterial and anticancer properties / G.G. Rajulu, H.S.B. Naik, A. Viswanadhan et al.. *Chem Pharm Bull*. 2014. 62. P. 168-175.

88. Hybrid antibiotic overcomes resistance in *P. aeruginosa* by enhancing outer membrane penetration and reducing efflux / B.K. Gorityala, G. Guchhait, S. Goswami et al.. *J Med Chem.* 2016. 59. P. 8441-8455.
89. Synthesis and Evaluation of Thiazolidine Amide and N-Thiazolyl Amide Fluoroquinolone Derivatives / I. Garza, M.J. Wallace, D. Fernando et al. *Arch Pharm.* 2017. 350. P. 201700029.
90. Patel N.B., Patel S.D. Synthesis and antimicrobial study of fluoroquinolone-based 4- thiazolidinones. *Med Chem Res.* 2010. 19. P. 757-770.
91. Chu D., Fernandes P., Claiborne A. Structure-activity relationships in quinolone antibacterials: design, synthesis and biological activities of novel isothiazoloquinolones. *Drugs Exp Clin Res.* 1988. 14. P. 379-383.
92. Kassab A.E., Ehab M. Gedawy, Novel ciprofloxacin hybrids using biology oriented drug synthesis (BIODS) approach: anticancer activity, effects on cell cycle profile, caspase-3 mediated apoptosis, topoisomerase II inhibition, and antibacterial activity. *Eur. J. Med. Chem.* 2018. 150. P. 403-418.
93. Design, stnthesis of Schiff base ciprofloxacin-vanillin derivatives as potent bacterial and gyrase inhibitors / S.S. Sekhar, S.C. Ranjan, S. Jyotirmaya et al.. *Indian Drugs.* 2020. 57. P. 21-26.
94. Synthesis, antitumor, antibacterial and urease inhibitory evaluation of new piperazinyl N-4 carbamoyl functionalized ciprofloxacin derivatives / M.A.A. Abdel-Aal, M.S.A. Shaykoon, G.E.D.A.A. Abuo-Rahma et al.. *Pharmacol. Rep.* 2021. 73. P. 891-906.
95. Polymeric bisphosphonate derivative of ciprofloxacin-synthesis, structural analysis and antibacterial activity of the prospective conjugate / M. Sobczak, U. Luchowska, U. Piotrowska et al.. *Int. J. Polym. Mater.* 2020. 69 (11). P. 691-702.
96. Synthesis and antibacterial activity of novel 7-phosphoryl quinolone derivatives / J.Q. Yang, W.L. Che, W. Wang et al. *Chin. Pharmaceut. J.* 2019. 54. (2). P. 86-90.

97. Membranetargeting triphenylphosphonium functionalized ciprofloxacin for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) / J.K. Hur, Y. Jung, S. Kang et al. *Antibiotics*. 2020. 9 (11). P. e758.
98. Anticancer and antimicrobial effects of novel ciprofloxacin fatty acids conjugates / A. Chrzanowska, P. Roszkowski, A. Bielenica et al.. *Eur. J. Med. Chem.* 2020. 185. P. e111810.
99. Eradicating uropathogenic *Escherichia coli* biofilms with a ciprofloxacin dinitroxide conjugate / A.D. Verderosa, J. Harris, R. Dhouib et al.. *MedChemComm*. 2019.10 (5). P. 699-711.
100. Antibiotic resistance and drug modification: synthesis, characterization and bioactivity of newly modified potent ciprofloxacin derivatives / A. Alsughayer, A.Z.A. Elassar, A.A. Hasan et al.. *Bioorg. Chem.* 2021. 108. P. e104658.
101. Allaka T.R., Anireddy J.S. Novel 7-substituted fluoroquinolone citrate conjugates as powerful antibacterial and anticancer agents: synthesis and molecular docking studies, *Curr. Org. Chem.* 2019. 23 (18). P. 1992-2003.
102. Synthesis and antibacterial evaluation of new ofloxacin-chalcone derivatives conjugates as possible mutual prodrugs / S.A. Hasan, N.H. Nasser, A.K. Hussein et al.. *J. Pharmaceut. Sci. Res.* 2018. 10 (12). P.3061-3065.
103. Jan P. *Computational Medicinal Chemistry for Drug Discovery*. Edited By Patrick Bultinck, Hans De Winter, Wilfried Langenaeker, Tollenare Copyright, MMarcel, Dekker, Inc. New York – Basel. 2004. P. 829.
104. Anderson V.E., Osheroff N. Type II topoisomerases as targets for quinolone antibacterials: turning Dr. Jekyll into Mr. Hyde. *Curr. Pharm. Des.* 2001. 7. P. 337-353.
105. Type Iia Topoisomerase Inhibition by a New Class of Antibacterial Agents / B.D. Bax, P.F. Chan, D.S. Chan et al. Eggleston. *Nature*. 2010. 466. P. 935. DOI: 10.1038/nature09197.

ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ А



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ГРАМОТА

нагороджується

Ессабі Смаіл

у секційному засіданні студентського
наукового товариства кафедри
медичної хімії

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

В.о. ректора
Національного фармацевтичного
університету



Алла КОТВИЦЬКА

19-21 квітня 2023 р.
м. Харків



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ



СЕРТИФІКАТ УЧАСНИКА

Цим засвідчується, що

Essabii S., Kobzar N.P., Perekhoda L.O.
Scientific supervisor: Suleiman M.M.

брав(ла) участь у роботі

XXIX Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів
«АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»

В.о. ректора
Національного фармацевтичного
університету



Алла КОТВИЦЬКА

19-21 квітня 2023 р, м. Харків



ПРОДОЛЖЕНИЕ ПРИЛОЖЕНИЯ А
OPTIMIZING THE SEARCH FOR NEW FLUOROQUINOLONE
ANTIMICROBIAL AGENTS

Essabii S., Kobzar N.P., Perekhoda L.O.

Scientific supervisor: assoc. prof. Suleiman M.M.

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

suleiman.nfau@outlook.com

Introduction. Fluoroquinolones have proven themselves as powerful antibacterial agents, which is why they are widely used in medical and pharmaceutical practice. But after several years of using the same fluoroquinolone, the problem of developing resistance of microorganisms arises. One way to combat resistance is the combination of known molecules with each other, but this does not give a long-term effect, since microorganisms adapt to the structure of molecules, and no matter how we mix drugs, the structure of the molecule does not change. Therefore, it is possible to "mislead" a microorganism and make an antibiotic effective against resistant strains only by modifying the chemical structure. The modification should take place in such a way as to ignore the active pharmacophore, while there is a potential opportunity to introduce a fragment of another antibiotic into the fluoroquinolone molecule, which can lead to activity both against resistant strains of bacteria and to the expansion of the spectrum of antibacterial activity due to the synergism of pharmacophores.

Aim. Optimizing the search for new fluoroquinolone antimicrobial agents by modifying existing frameworks and further using molecular docking methodology for generated derivatives.

Materials and methods. New derivatives of fluoroquinolones, which were generated using the Marvin Sketch 20.5 program, were chosen as objects of study. Active center of macromolecule from the Protein Data Bank (PDB) DNA gyrase of *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 2XCR), was used as biological targets for docking. The Autodock 4.2 software package was used for receptor-oriented flexible docking.

Results and discussion. Pharmacophore systems consisting of a fluoroquinolone framework linked by means of a linker to various pharmacophore systems of aliphatic and aromatic structure were chosen as research objects. (Fig. 1)

The calculated estimated molecular docking values indicate that the generated molecules have an affinity for the selected DNA gyrase, all values exceed the absolute values of ciprofloxacin. (Tab. 1).

ПРОДОЛЖЕНИЕ ПРИЛОЖЕНИЯ А

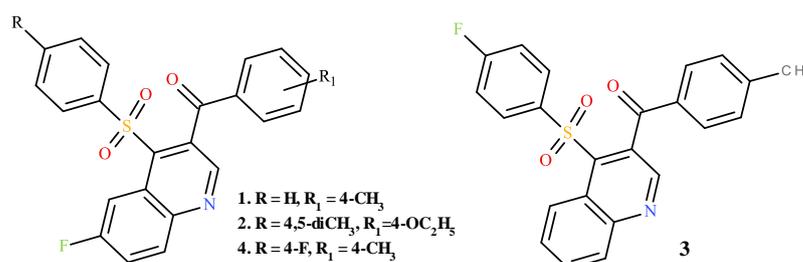
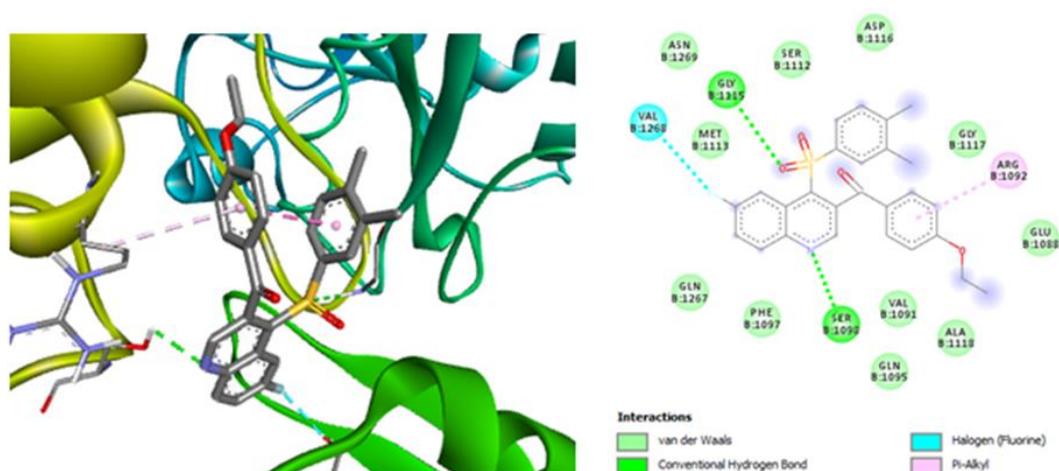


Fig. 1. Chemical structures of generated fluoroquinolones

Tab. 1. Estimated molecular docking values of generated molecules relative to DNA gyrase of *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 2XCR)

№	Affinity DG	EDoc	Ki μ M
2	-7.6	-5.98	41.66
4	-7.6	-6.17	30.04
5	-7.3	-5.34	120.98
6	-8.5	-5.43	104.05
Ciprofloxacin	-7.2	-5.10	183.79

The inhibition activity of the studied molecules in relation to the selected target can be realized due to the formation of complexes between them, the stability of which is ensured due to the energetically advantageous geometric arrangement of the tested molecules in the active site of the enzyme, the formation of intermolecular interactions between them, namely: hydrogen bonds, electrostatic and hydrophobic interactions. Visualization of the formed intermolecular contacts of the leader compound (2) (Affinity DG = -7.6 kcal/mol, EDoc = -6.17 kcal/mol, Ki μ M = 30.04 micromolar) shown in Fig. 2.

Fig. 2. Visualization of the molecular docking of the leader compound in complex with the DNA gyrase of *Staphylococcus aureus* (PDB ID: 2XCR)

ПРОДОЛЖЕНИЕ ПРИЛОЖЕНИЯ А

Conclusions. In order to find new molecules with antibacterial action, fluoroquinolone derivatives were generated by modifying the C4 position with a phenylsulfonyl residue and additional modification of the C3 position with aromatic fragments. The results of molecular docking indicate the prospects of such a modification and may be useful in the search for new fluoroquinolone analogs.

Национальный фармацевтический университет

Факультет по подготовке иностранных граждан
Кафедра медицинской химии
Уровень высшего образования магистр
Специальность 226 Фармация, промышленная фармация
Образовательная программа Фармация

УТВЕРЖДАЮ
Заведующая кафедрой
медицинской химии

Лина ПЕРЕХОДА
“22” августа 2022 года

ЗАДАНИЕ
НА КВАЛИФИКАЦИОННУЮ РАБОТУ
СОИСКАТЕЛЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

Смаил ЭССАБИИ

1. Тема квалификационной работы: «Оптимизация поиска новых противомикробных средств фторхинолонового ряда»,
руководитель квалификационной работы: Маргарита СУЛЕЙМАН, к.фарм.н., доцент,
утвержденный приказом НФаУ от “06” февраля 2023 года № 35
2. Срок подачи соискателем высшего образования квалификационной работы: апрель 2023 г.
3. Исходящие данные к квалификационной работе: оптимизация поиска новых противомикробных средств фторхинолонового ряда с помощью методологии виртуальной стыковки лиганд-мишень (молекулярного докинга).
4. Содержание расчетно-пояснительной записки (перечень вопросов, которые необходимо разработать): 1) провести модификацию базового фторхинолонового каркаса с целью получения новых фторхинолонов; 2) обосновать выбор метода виртуальной стыковки и кристаллографической модели микробной мишени; 3) установить ингибирующую активность полученных молекул по отношению к выбранной ДНК-гиразе с помощью вычисленных скоринговых функций, свободных энергий и констант связывания; 4) провести хемо информационный анализ результатов докинга и предоставить рекомендации к рациональному дизайну новых противомикробных агентов исследуемого ряда.
5. Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):
таблиц – 2 , рисунков – 24.

6. Консультанты разделов квалификационной работы

Раздел	Имя, ФАМИЛИЯ, должность консультанта	Подпись, дата	
		задание выдал	задание принял
1	Маргарита СУЛЕЙМАН, доцент заведения высшего образования кафедры медицинской химии	сентябрь 2022	сентябрь 2022
2	Маргарита СУЛЕЙМАН, доцент заведения высшего образования кафедры медицинской химии	декабрь 2022	декабрь 2022
3	Маргарита СУЛЕЙМАН, доцент заведения высшего образования кафедры медицинской химии	февраль 2023	февраль 2023

7. Дата выдачи задания: «22» августа 2022 года

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН

№ п/п	Название этапов квалификационной работы	Срок выполнения этапов квалификационной работы	Примечание
1	Фторхинолоны – эффективные молекулы противомикробного действия (обзор литературы). Написание раздела 1.	сентябрь-ноябрь 2022 г.	выполнено
2	Характеристика и аргументация выбора объектов и методов исследования. Написание раздела 2.	декабрь 2022 г.- январь 2023г.	выполнено
3	Молекулярный докинг: расчет оценочных значений новых фторхинолонов в отношении ДНК-гиразы <i>Staphylococcus aureus</i> .	февраль 2023 г.	выполнено
4	Визуализация образованных комплексов фторхинолонов с ДНК-гиразой <i>Staphylococcus aureus</i> .	март 2023 г.	выполнено
5	Написание раздела 3 и выводов. Оформление квалификационной работы и представление в ЭК.	апрель 2023 г.	выполнено

Соискатель высшего образования _____ Смаил ЭССАБИИ

Руководитель квалификационной работы _____ Маргарита СУЛЕЙМАН

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 35
По Національному фармацевтичному університету
від 06 лютого 2023 року

нижченаведеним студентам 5-го курсу 2022-2023 навчального року, навчання за освітнім ступенем «магістр», галузь знань 22 охорона здоров'я, спеціальності 226 – фармація, промислова фармація, освітня програма – фармація, денна форма здобуття освіти (термін навчання 4 роки 10 місяців та 3 роки 10 місяців), які навчаються за контрактом, затвердити теми кваліфікаційних робіт:

Прізвище студента	Тема кваліфікаційної роботи		Посада, прізвище та ініціали керівника	Рецензент кваліфікаційної роботи
• по кафедрі медичної хімії				
Ессабіі Смаїл	Оптимізація пошуку нових протимікробних засобів фторхінолонового ряду	Optimizing the search for new fluoroquinolone antimicrobial agents	доц. Сулейман М.М.	доц. Северіна Г.І.

Підстава: подання декана, згода ректора

Ректор

Вірно. Секретар



ВИСНОВОК

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

№ 112735 від « 29 » квітня 2023 р.

Проаналізувавши випускну кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Ессабії Смаїл, 5 курсу, _____ групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Оптимізація пошуку нових протимікробних засобів фторхінолонового ряду / Optimizing the search for new fluoroquinolone antimicrobial agents», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копіювання).

**Голова комісії,
професор**



Ірина ВЛАДИМИРОВА

2%

31%

ОТЗЫВ

научного руководителя на квалификационную работу уровня высшего образования магистр специальности 226 Фармация, промышленная фармация

Смаил ЭССАБИИ

на тему: «Оптимизация поиска новых противомикробных средств фторхинолонового ряда».

Актуальность темы. Одним из направлений борьбы с резистентностью является комбинация известных молекул друг с другом, что как оказалось не дает долгосрочного эффекта, и химическая модификация основного каркаса. Модификация должна проходить таким образом, чтобы обойти вниманием активный фармакофор, при этом существует потенциальная возможность ввести в молекулу фторхинолона фрагмента другого «антибиотика», что может привести к активности как по отношению к резистентным штаммам бактерий, так и расширению спектра противомикробной активности за счет синергизма фармакоформных составляющих.

Практическая ценность выводов, рекомендаций и их обоснованность. Ингибирующая активность исследуемых молекул по отношению к ДНК-гиразе *Staphylococcus aureus* может быть реализована за счет образования между ними устойчивых комплексов, что подтверждается вычисленными оценочными значениями. Визуализация стыковки четко указывает типы межмолекулярных взаимодействий между молекулами и аминокислотами сайта ДНК-гиразы. Полученные результаты исследования и проведенная структурная модификация базовых каркасов фторхинолонов могут быть полезны при планировании фармакологического скрининга и для оптимизации поиска новых аналогов фторхинолонов.

Оценка работы. Соискателем самостоятельно осуществлен обзор научной литературы относительно фторхинолонов как эффективных молекул

противомикробного действия. Под руководством руководителя выполнена экспериментальная часть работы: проведен молекулярный докинг потенциальных новых противомикробных агентов фторхинолонового ряда, на основании полученных результатов дана оценка относительно сродства к испытываемой биомишени. Автор самостоятельно интерпретировал результаты исследования и формулировал соответствующие выводы.

Общий вывод и рекомендации о допуске к защите. Работа выполнена на высоком уровне с практической значимостью полученных результатов. Работа по тематике, уровню выполнения, обоснованностью выводов соответствует требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам, и может быть представлена к защите в Экзаменационной комиссии.

Научный руководитель _____ Маргарита СУЛЕЙМАН

«07» апреля 2023 г.

РЕЦЕНЗИЯ

на квалификационную работу уровня высшего образования магистр специальности 226 Фармация, промышленная фармация

Смаил ЭССАБИИ

на тему: «Оптимизация поиска новых противомикробных средств фторхинолонового ряда».

Актуальность темы. После нескольких лет использования одного и того же фторхинолона возникает проблема развития устойчивости или резистентности микроорганизмов. Одним из направлений борьбы с резистентностью является комбинация известных молекул друг с другом, но это не дает долгосрочного эффекта, так как микроорганизмы адаптируются к структуре молекул, и как бы не комбинировали препараты – структура молекулы не меняется. Поэтому «ввести в заблуждение» микроорганизм и сделать «антибиотик» эффективным против резистентных штаммов возможно только путем модификации базовых химических структур с общепринятым набором фармакофорных фрагментов.

Теоретический уровень работы. Выпускная работа состоит из всех разделов, которые регламентированы соответствующие Положением по выполнению квалификационных работ. Цель и задачи исследования сформированы четко и направлены на комплексное решение исследуемой проблемы. Был проведен молекулярный докинг потенциальных противомикробных агентов фторхинолонового ряда, на основании полученных результатов дана оценка относительно сродства к испытываемой биомишени. В работе четко интерпретированы и проанализированы результаты исследования и сформулированы соответствующие выводы.

Предложения автора по теме исследования. Полученные оценочные значения и подробная визуализация образования комплексов может быть использована для оптимизации поиска новых аналогов фторхинолонов и при планировании фармакологического скрининга.

Практическая ценность выводов, рекомендаций и их обоснованность.

Ингибирующая активность исследуемых молекул по отношению к ДНК-гиразе *Staphylococcus aureus* может быть реализована за счет образования между ними устойчивых комплексов. Такая вероятность подтверждается вычисленными значениями скоринковых функций, свободных энергий и констант связывания. Визуализация стыковки четко указывает типы межмолекулярных взаимодействий, которые образуются между фрагментами молекул и остатками аминокислот сайта ДНК-гиразы.

Недостатки работы. В работе представлена слишком подробная методология стыковки и встречаются небольшое количество грамматических ошибок. Представленные замечания не принципиальны и существенно не влияют на практическую ценность квалификационной работы.

Общий вывод и оценка работы. Квалификационная работа Смаил ЭССАБИИ на тему: «Оптимизация поиска новых противомикробных средств фторхинолонового ряда» может быть рекомендована к официальной защите в экзаменационной комиссии Национального фармацевтического университета, а ее автор заслуживает положительной оценки.

Рецензент _____

доц. Анна СЕВЕРИНА

«14» апреля 2023 г.

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 факультету з підготовки іноземних громадян Фм18(5,0д)і-11 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Смаіл ЕССАБІІ на тему: «Оптимізація пошуку нових протимікробних засобів фторхінолонового ряду»

СЛУХАЛИ: доповідь здобувача вищої освіти факультету з підготовки іноземних громадян Фм18(5,0д)і-11 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Смаіл ЕССАБІІ на тему: «Оптимізація пошуку нових протимікробних засобів фторхінолонового ряду»

УХВАЛИЛИ: рекомендувати кваліфікаційну роботу Смаіл ЕССАБІІ 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 Смаіл ЕССАБІ до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «Оптимізація пошуку нових протимікробних засобів фторхінолонового ряду».

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Світлана КАЛАЙЧЕВА /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Смаіл ЕССАБІ у повному обсязі виконав кваліфікаційну роботу. За актуальністю, методичним рівнем, теоретичним та практичним 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 Смаіл ЕССАБІ допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри
медичної хімії

Ліна ПЕРЕХОДА

«21» квітня 2023 р.

Квалификационную работу защищено
в Экзаменационной комиссии

« ____ » _____ июня _____ 2023 г.

С оценкой _____

Председатель Экзаменационной комиссии,
доктор фармацевтических наук, профессор

_____ /Владимир ЯКОВЕНКО /