

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

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: «**Визначення перспективності нових похідних 1,3-діазаспіро[4.5]декан-2,4-діону для лікування хвороби Альцгеймера**»

Виконала: здобувачка вищої освіти групи Фм19(4,10д)-03
спеціальності: 226 Фармація, промислова фармація
освітньої програми Фармація

Тетяна ЛАГУНЕЦЬ

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

Ганна СЕВЕРІНА

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

Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ

Харків – 2024 рік

АНОТАЦІЯ

Після проведення аналізу згенерованої бази сполук – похідних 1,3-діазаспіро[4.5]декан-2,4-діону за параметрами ADMET, а також здійснення віртуального прогнозу таргетованого впливу обраних молекул, і врешті за результатами молекулярного докінгу до активного сайту ацетилхолінестерази визначено три сполуки з найліпшими показниками афінності та параметрами конформаційного розміщення, серед яких «лідирує» 3-[[1-(m-толілметил)-5-оксо-піролідин-3-іл]метил]-8-оксо-1,3-діазоспіро[4.5]декан-2,4-діон (3461).

Робота складається зі вступу, 3 розділів, загальних висновків і списку використаної літератури, який містить 86 джерел. Робота викладена на 54 сторінках і містить 7 таблиць, 25 малюнків.

Ключові слова: хвороба Альцгеймера, гідантоїн, ацетилхолінестераза, 1,3-діазаспіро[4.5]декан-2,4-діон, таргет, докінг.

ANNOTATION

After analyzing the generated database of compounds - derivatives of 1,3-diazaspiro[4. 5]decan-2,4-dione by ADMET parameters, as well as the virtual prediction of the targeted effect of the selected molecules, Finally, based on the results of molecular docking to the active site of acetylcholinesterase, three compounds with the best affinity and conformational parameters were identified, among which the "leader" is 3-[[1-(m-tolylmethyl)-5-oxo-pyrrolidin-3-yl]methyl]-8-oxo-1,3-diazospiro[4. 5]decan-2,4-dione (3461).

The work consists of an introduction, 3 chapters, general conclusions and a list of references containing 86 sources. The work is set out on 54 pages and contains 7 tables and 25 figures.

Keywords: Alzheimer's disease, hidantoin, acetylcholinesterase, 1,3-diazaspiro[4.5]decan-2,4-dione, targeting, docking.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень	4	
Вступ	6	
РОЗДІЛ 1	АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ ТА ТЕРАПІЇ ХВОРОБИ АЛЬЦГЕЙМЕРА, ПОХІДНІ ГІДАНТОЇНУ ЯК ЦНС-АГЕНТИ	9
1.1	Визначення, етіологія та епідеміологія хвороби Альцгеймера	9
1.2	Патогенез та континуум хвороби Альцгеймера	15
1.3	Сучасні методи медикаментозної терапії	20
1.4	Похідні гідантаїну як ЦНС-агенти	22
1.4.1	Похідні гідантоїну як протисудомні засоби	26
1.4.2	Похідні гідантоїну як анагоністи 5-НТ-рецепторів	28
	Висновки до розділу 1	29
РОЗДІЛ 2	ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ЛІКОПОДІБНОСТІ ТА ПРОГНОЗУВАННЯ ТАРГЕТОВАНОГО ВПЛИВУ ПОХІДНИХ 1,3-ДІАЗАСПІРО[4.5]ДЕКАН-2,4-ДІОНУ	30
2.1	Розрахунок параметрів абсорбції, розподілу, метаболізму, виведення та токсичності прогнозованих сполук	30
2.2	Прогнозування таргетованого впливу похідних 1,3-діазаспіро[4.5]декан-2,4-діону	38
	Висновки до розділу 2	44
РОЗДІЛ 3	ПРОГНОЗУВАННЯ АФІННОСТІ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЛІГАНДІВ ДО САЙТУ ІНГІБІТОРА АЦЕТИЛХОЛІНЕСТЕРАЗИ	45
3.1	Ацетилхолінестераза як мішень для агентів, які можна застосувати у лікуванні хвороби Альцгеймера	45
3.2	Молекулярний докінг досліджуваних лігандів до сайту ацетилхолінестерази	46
	Висновки до розділу 3	53
ВИСНОВКИ		54
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ		55
ДОДАТКИ		64

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ХА	хвороба Альцгеймера
SAR	взаємозв'язок «структура-активність»
цАМФ	циклічний аденозинмонофосфат
АРОЕ	аполіпротеїн Е
СМР	спинномозкова рідина
ПЕТ	позитронно-емісійна томографія
ЛКП	легкі когнітивні порушення
АХ	ацетилхолін
АХЕ	ацетилхолінестераза
ARIA	амілоїд-асоційовані порушення візуалізації
APP	білок-попередник амілоїду
PSEN1	пресенілін 1
PSEN2	пресенілін 2
ЗКА	задня коркова атрофія
Aβ-пептид	амілоїд бета-пептид
ЦНС	центральна нервова система
БЦЛЗ	багатоцільові лікарські засоби
FDA	Управління з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів США
NMDA	N-метил-D-аспартат

III	штучний інтелект
ГЕБ	гематоенцефалічний бар'єр
см/с	сантиметрів за секунду
ккал/моль	кілокалорія на моль
CYP	цитохром р450
TRP	триптофан
PHE	фенілаланін
TYR	тирозин
HIS	гістидин
GLY	гліцин
SER	серин
ASP	аспарагінова кислота, аспартат

ВСТУП

Актуальність теми.

Проблема пошуку ліків від хвороби Альцгеймера наразі стоїть дуже гостро.

По-перше, хвороба Альцгеймера – це найпоширеніша форма деменції, на яку страждає понад 55 мільйонів людей у всьому світі. Очікується, що до 2050 року ця кількість зросте до 139 мільйонів.

По-друге, на сьогодні не існує жодних ліків, які б могли вилікувати або навіть сповільнити прогресування хвороби Альцгеймера. Існуючі методи лікування лише допомагають полегшити симптоми.

По-третє, хвороба Альцгеймера є одним з найдорожчих захворювань у світі. Витрати на догляд за хворими на цю хворобу становлять сотні мільярдів доларів щороку.

Лікування наразі не дає бажаної ефективності, тому пошук нових агентів для запобігання нейродегенерації є вкрай актуальним.

Мета дослідження. Оцінка перспективності нових згенерованих похідних 1,3-діазаспіро[4.5]декан-2,4-діону як можливих агентів для лікування хвороби Альцгеймера.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- Проаналізувати та узагальнити літературні дані щодо патогенезу та фармакотерапії хвороби Альцгеймера;
- За результатами логіко-структурного аналізу відібрати для подальшого дослідження віртуально згенеровані структур-кандидати як перспективні агенти для лікування хвороби Альцгеймера;
- Для згенерованої бази структур-кандидатів здійснити ADMET-аналіз та оцінити перспективність сполук для подальшого дослідження як потенційних лікарських засобів;

- Здійснити віртуальний прогноз таргетованого впливу згенерованих структур програмою SwissTargetPrediction;
- На основі прогнозу та аналізу терапевтичної важливості біомішеней відібрати найперспективніші для *in silico* досліджень;
- Здійснити процедуру валідації методології докінгу для обраних мішеней за нативним референс-лігандом;
- Провести докінгові дослідження згенерованих похідних 1,3-діазаспіро[4.5]декан-2,4-діону до обраних біомішеней;
- Сформулювати висновки щодо можливого механізму дії структур-кандидатів та відібрати сполуки для подальшого синтезу та *in vitro/in vivo* експерименту.

Об'єкт дослідження – молекулярне моделювання та таргет-орієнтований молекулярний докінг.

Предмет дослідження – похідні 1,3-діазаспіро[4.5]декан-2,4-діону, ацетилхолінестераза.

Методи дослідження. Для конструювання сполук використовували програму BIOVIA Draw 2021. Для розрахунку параметрів ADMET застосували сайт SwissADME. *In silico* дослідження – віртуальний молекулярний докінг за допомогою програми AutoDockVina, AutoDock Tool, BIOVIA Draw 2021, Discovery Studio Visualizer 2021, VMD1.9.3.

Практичне значення отриманих результатів. Використання комп'ютерного моделювання (*in silico*) для дослідження та визначення найперспективніших речовин з потенційними властивостями для лікування хвороби Альцгеймера дозволить: а) оптимізувати подальші лабораторні (*in vitro*) та клінічні (*in vivo*) дослідження, економлячи час, ресурси та кошти; б) збільшити ймовірність виявлення речовини з сильними інгібувальними властивостями щодо ацетилхолінестерази. Таким чином, комп'ютерне моделювання може стати потужним інструментом для розробки нових, ефективних методів лікування хвороби Альцгеймера.

Елементи наукових досліджень. На кафедрі фармацевтичної хімії НФаУ під керівництвом проф. Северіної на основі гібридно-фармакофорної концепції розробили нові похідні 8-тіо/оксо-1,3-діазаспіро[4.5]декан-2,4-діону як можливі агенти для лікування хвороби Альцгеймера. Досліджено їх параметри ADMET, спрогнозовано ймовірні біомішені впливу, а також валідовані та проведені докінгові дослідження. Визначено найбільш перспективні речовини та обґрунтована здатність до інгібування ацетилхолінестерази.

Апробація результатів дослідження і публікації. Результати випускної кваліфікаційної роботи доповідалися на секційному засіданні студентського наукового товариства кафедри фармацевтичної хімії в рамках XXX Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (19 квітня 2024 р.). Тези доповіді опубліковані у збірнику конференції. Також результати дослідження у вигляді тез були опубліковані на міжнародній конференції у Литві.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи. Кваліфікаційна робота складається зі вступу, трьох розділів, загальних висновків, списку літератури. Робота викладена на 54 сторінках, ілюстрована 7 таблицями, 25 рисунками. Список використаних літературних джерел містить 86 найменувань, з яких – іноземних авторів 81.

РОЗДІЛ 1

АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ ТА ТЕРАПІЇ ХВОРОБИ АЛЬЦГЕЙМЕРА, ПОХІДНІ ГІДАНТОЇНУ ЯК ЦНС-АГЕНТИ (огляд літератури)

1.1 Визначення, етіологія та епідеміологія хвороби Альцгеймера

Хвороба Альцгеймера є найпоширенішим типом деменції і може бути визначена як повільно прогресуюче нейродегенеративне захворювання, що характеризується невротичними бляшками та нейрофібрилярними клубками внаслідок накопичення амілоїд-бета-пептиду (A β) в найбільш ураженій ділянці мозку - медіальній скроневій частці та неокортикальних структурах [1].

Деменція - це медичний стан, при якому спостерігається погіршення когнітивних здібностей людини порівняно з кількома місяцями або роками раніше. Людина з деменцією має труднощі з кількома видами когнітивних здібностей, найчастіше з пам'яттю, але також і з іншими здібностями, такими як мова, увага, орієнтація, судження і планування [2]. Це не окрема хвороба. Це загальний термін, що описує сукупність симптомів, які людина може відчувати, якщо вона живе з різними захворюваннями, в тому числі з хворобою Альцгеймера. Захворювання, згруповані під загальним терміном "деменція", викликані аномальними змінами мозку. Симптоми деменції спричиняють зниження навичок мислення, також відомих як когнітивні здібності, досить серйозне, щоб погіршити повсякденне життя і незалежне функціонування. Вони також впливають на поведінку, почуття та стосунки [3].

Наразі понад 55 мільйонів людей у світі страждають на деменцію, понад 60% з них живуть у країнах з низьким та середнім рівнем доходу. Щороку реєструється майже 10 мільйонів нових випадків.

Деменція є наслідком різноманітних захворювань і травм, які впливають на мозок. Хвороба Альцгеймера є найпоширенішою формою деменції і може бути причиною 60-70% випадків.

Наразі деменція є сьомою основною причиною смерті та однією з головних причин інвалідності та залежності серед людей похилого віку в усьому світі [4] (рис.1.1.).

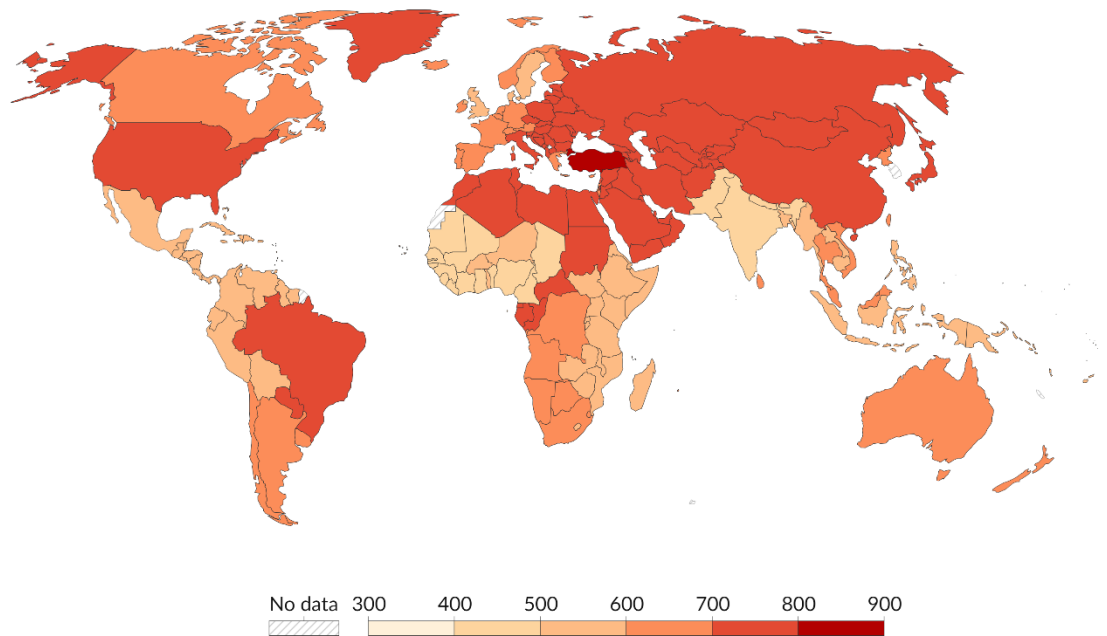


Рис.1.1 Поширеність хвороби Альцгеймера, 2019 рік (к-ть хворих на 100тис населення) [5]

Офіційної статистики щодо поширеності хвороби Альцгеймера серед українців немає. Але за даними дослідження, опублікованого в авторитетному британському наукового журналу The Lancet, у 2019 році в Україні проживало близько 651 тисячі людей з деменцією. А до 2050 року цей показник має вирости до мільйона! [6]

Хвороба Альцгеймера входить в десятку захворювань, при яких хворі потребують паліативної допомоги. І хоча в цілому відсоток смертності від дисфункції нервової системи в Україні знижується, смертність від хвороби Альцгеймера демонструє динаміку в бік збільшення. Швидше за все, тут існує ймовірність неточної методології розрахунків, оскільки в офіційну статистику йде досить мало причин смерті, таких як хвороба Альцгеймера. Україна займає 136 місце (між Ботсваною та Камеруном) за кількістю смертей від хвороби Альцгеймера [7].

Хвороба названа на честь доктора Алоїза Альцгеймера. У 1906 році доктор Альцгеймер помітив зміни в тканинах мозку жінки, яка померла від незвичного психічного захворювання. Її симптоми включали втрату пам'яті, проблеми з мовою та непередбачувану поведінку. Після її смерті він дослідив її мозок і виявив багато аномальних згустків (тепер їх називають амілоїдними бляшками) і заплутаних пучків волокон (тепер їх називають нейрофібрилярними, або тау-клубками)[8].

Ці бляшки і клубки в мозку досі вважаються одними з основних ознак хвороби Альцгеймера. Іншою ознакою є втрата зв'язків між нервовими клітинами (нейронами) в мозку. Нейрони передають повідомлення між різними частинами мозку, а також від мозку до м'язів і органів тіла. Вважається, що багато інших складних змін у мозку також відіграють певну роль у розвитку хвороби Альцгеймера [8].

Зазвичай ХА поділяють на два типи: спорадичну (SAD) та сімейну (FAD/ADAD). Спорадична ХА вражає людей старше 65 років і часто називається пізнім початком ХА (LOAD). Сімейні форми ХА розвиваються під впливом генетичних факторів і спадковості, уражена група знаходиться у віці 30-65 років і називається ранньою формою ХА (EOAD). Сімейний тип ХА виникає через рідкісну аутосомно-домінантну мутацію, що виникає в трьох генах: Білок-попередник амілоїду (APP), пресенілін 1 (PSEN1) та пресенілін 2 (PSEN2) [9].

У деяких людей з хворобою Альцгеймера проблеми з пам'яттю – це не перші симптоми хвороби. Це називається атиповою хворобою Альцгеймера. Вона також викликана бляшками і клубками, але перша частина мозку, яка уражається – це не гіпокамп. Атипова хвороба Альцгеймера не характерна для людей, яким поставлений діагноз у віці старше 65 років. Вона діагностується у більш ранньому віці.

До атипових форм хвороби Альцгеймера відносяться:

- задня коркова атрофія – розвивається при ураженні областей в задній частині головного мозку. Ці області обробляють сигнали очей людини

і допомагають з просторовим сприйняттям. Це означає, що ранніми симптомами ЗКА часто є проблеми з розпізнаванням предметів або читанням, навіть якщо очі людини здорові (рис.1.2);

- афазія – розвивається при ураженні ділянок у лівій частині мозку, які відповідають за мовлення. У людини можуть виникнути проблеми з пошуком потрібного слова або тривалі паузи під час розмови;

- фронтальний варіант хвороби Альцгеймера – розвивається при ураженні області у передній частині мозку. Симптоми включають проблеми з плануванням і прийняттям рішень. Людина також може вести себе соціально неприйнятним чином (наприклад, говорити речі, які інші люди можуть вважати грубими) [10].

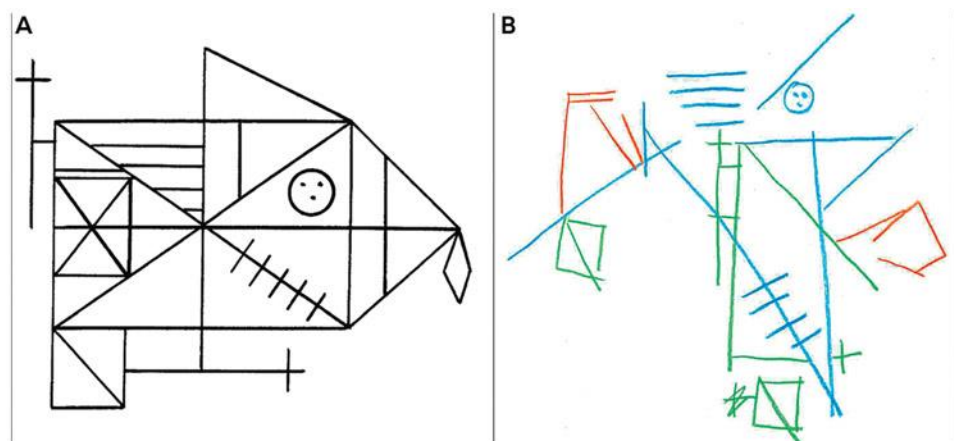


Рис.1.2 Оригінальне зображення комплексу Рей-Остеррієта (А) показано поруч із "вибухнувшою" копією (Б), яку можна побачити при задній коркової атрофії. Хоча деякі окремі компоненти зображені точно, загальна концепція відсутня, а інтеграція різних компонентів повністю відсутня [11]

Згідно з сучасними дослідженнями, етіологією ХА є багатофакторні генетичні та екологічні фактори ризику, які можна класифікувати на модифіковані та немодифіковані фактори.

I. Немодифіковані фактори ризику

Кілька досліджень вказують на те, що найбільшими немодифікованими факторами ризику розвитку ХА є вік, особлива форма e4 гена аполіпопротеїну Е (APOE), сімейний анамнез та стать [12].

Основним фактором ризику розвитку SAD є вік. Дійсно, збільшення тривалості життя корелює з вищою ймовірністю розвитку нейродегенеративних захворювань, включаючи ХА. При нормальному старінні структура головного мозку змінюється в мембранній плинності та ліпідному складі, регіональному об'ємі мозку, щільності, товщині кори, мікроструктурі білої та сірої речовини. Відбувається прогресуюча втрата нейронних синапсів, що призводить до зменшення щільності нейронів [12].

Відсоток людей з деменцією Альцгеймера різко зростає з віком. 5% людей у віці від 65 до 74 років, 13,1% людей у віці від 75 до 84 років і 33,3% людей у віці 85 років і старше мають деменцію Альцгеймера. Однак важливо зазначити, що деменція Альцгеймера не є нормальною частиною старіння, і лише похилого віку недостатньо, щоб викликати деменцію Альцгеймера.

У той час як ADAD викликається мутацією одного з генів, що беруть участь у метаболізмі амілоїду, включаючи білок-попередник амілоїду (APP), пресенілін 1 (PSEN1) або пресенілін 2 (PSEN2), основним генетичним фактором ризику при SAD є ген APOE. APOE пов'язаний з транспортом ліпідів, в тому числі холестерину, в периферичних тканинах і в центральній нервовій системі [12].

Завдяки своїй ролі в транспорті холестерину з астроцитів до нейронів, він забезпечує доставку ліпідів до нейронів і, таким чином, мембранний гомеостаз, що є критично важливим процесом у відновленні нейронів і мозку після ушкоджень. Ген APOE має три алелі: $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ та $\epsilon 4$. Кожна людина успадковує одну з трьох форм (алелей) гена APOE - $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ або $\epsilon 4$ - від кожного з батьків, в результаті чого утворюється шість можливих пар APOE: $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 4$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$ і $\epsilon 4/\epsilon 4$ [13].

Алель $\epsilon 4$ є генетичним фактором ризику SAD, пов'язаним з високим ризиком розвитку ХА, що асоціюється з атрофічним об'ємом гіпокампу, аномальним накопиченням білка $A\beta$ і збільшенням відкладень амілоїду, а також церебральним гіпометаболізмом [14].

ε4 пов'язаний зі змінами нейротоксичних і нейропротекторних механізмів, включаючи метаболізм Aβ-пептиду, агрегацію, токсичність, тауопатію, синаптичну пластичність, транспорт ліпідів, цілісність судин і нейрозапалення [15]. Показано, що наявність алеля ε4 збільшує ризик розвитку ХА в чотири рази, тоді як алель ε2 знижує ризик ХА; алель ε3 має нейтральний вплив на ризик ХА. Однак у деяких носіїв алелі ε4 ніколи не проявляється ХА, що вказує на те, що в розвитку ХА можуть бути задіяні інші, ще не ідентифіковані детермінанти (генетичні або інші) [16].

При синдромі Дауна людина народжується з трьома копіями 21 хромосоми замість двох. Люди з синдромом Дауна народжуються з додатковою копією хромосоми 21, яка несе ген, що виробляє специфічний білок, який називається білок-попередник амілоїду (APP). Надлишок білка APP призводить до накопичення білкових згустків, які називаються бета-амілоїдними бляшками в мозку. Наявність бета-амілоїдних бляшок є однією з ознак хвороби Альцгеймера [17].

Наявність сімейного анамнезу хвороби Альцгеймера не є обов'язковою умовою для розвитку хвороби. Однак люди, які мають або мали батьків або братів чи сестер (родичів першого ступеня спорідненості) з хворобою Альцгеймера, мають більший ризик розвитку захворювання, ніж ті, хто не має родичів першого ступеня спорідненості з хворобою Альцгеймера. Ті, хто має більше одного родича першого ступеня спорідненості з хворобою Альцгеймера, піддаються ще більшому ризику [12].

Поширеність захворювання на ХА та прогресування симптомів непропорційно вищі у жінок. Крім того, існують різні фактори ризику для жінок і чоловіків (генотип APOE, серцево-судинні захворювання, депресія, гормональне виснаження, соціокультурні фактори, статеві фактори ризику для жінок і показники вербальної пам'яті), які можуть сприяти цій різниці. Щоб зрозуміти вплив гендерних відмінностей, необхідні дослідження для визначення впливу гендеру на еволюцію біомаркерів протягом життя, включаючи когнітивні здібності, нейровізуалізацію, спинномозкову рідину та

біомаркери ХА в крові, особливо в більш ранньому віці. Крім того, необхідні доклінічні та клінічні дослідження з розробки терапії ХА для обох статей [12].

II. Модифіковані фактори ризику

Модифіковані фактори ризику становлять значний інтерес, оскільки вони є важелем для дії профілактичних стратегій. Пошкодження серцево-судинної системи є фактором ризику нейродегенеративних захворювань, а оскільки мозок забезпечується великою мережею кровоносних судин, здорову серцево-судинну систему можна вважати нейропротекторною. Це може пояснити, чому частина факторів ризику серцево-судинних захворювань є спільними для ХА, включаючи гіпертензію, дисліпідемію, діабет, ожиріння, дієтичні фактори, куріння та фізичну активність. Іншими факторами також можуть бути рівень освіти, погана якість сну, стрес, забрудненість повітря, черепно-мозкові травми, втрата слуху тощо. Таким чином, спосіб життя також є важливим фактором ризику, де інтелектуальна, фізична та соціальна активність, а також дієта можуть допомогти запобігти ХА [12].

1.2. Патогенез та континуум хвороби Альцгеймера

Здоровий мозок дорослої людини має мільярди нейронів, кожен з яких має довгі розгалужені відростки. Ці відростки дозволяють окремим нейронам формувати зв'язки з іншими нейронами. У таких з'єднаннях, які називаються синапсами, інформація передається крихітними сплесками хімічних речовин, які вивільняються одним нейроном і приймаються іншим нейроном. Мозок містить трильйони синапсів. Вони дозволяють сигналам швидко подорожувати мозком. Ці сигнали створюють клітинну основу спогадів, думок, відчуттів, емоцій, рухів і навичок [18].

Накопичення фрагмента білка бета-амілоїду в грудочки (так звані бета-амілоїдні бляшки) *поза нейронами* і накопичення аномальної форми білка тау (так звані тау-зв'язки) *всередині нейронів* - це дві з декількох змін мозку, пов'язаних з хворобою Альцгеймера. Ці зміни супроводжуються пошкодженням і руйнуванням нейронів, що називається нейродегенерацією (N), яка разом з накопиченням бета-амілоїду (A) і тау (T) є ключовою ознакою

хвороби Альцгеймера. Разом ці зміни відомі як АТ(N) структура хвороби Альцгеймера.

Бета-амілоїд і тау відіграють різні ролі при хворобі Альцгеймера. Бляшки та менші скупчення бета-амілоїду можуть пошкоджувати нейрони, порушуючи зв'язок між нейронами в синапсах. Всередині нейронів тау-трубочки блокують транспортування поживних речовин та інших молекул, необхідних для нормального функціонування і виживання нейронів. Хоча повна послідовність подій незрозуміла, бета-амілоїд може почати накопичуватися раніше, ніж аномальний тау, а підвищене накопичення бета-амілоїду пов'язане з подальшим збільшенням тау. Інші зміни мозку, пов'язані з хворобою Альцгеймера, включають запалення і атрофію (зменшення об'єму мозку) (рис.1.3) [18].

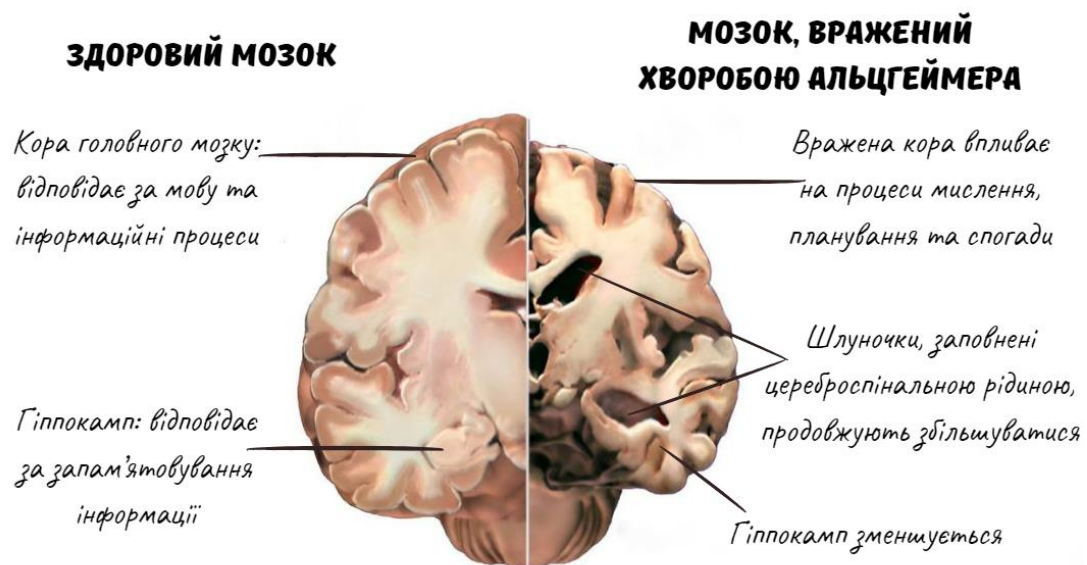


Рис. 1.3 Зміни головного мозку при хворобі Альцгеймера

Вважається, що наявність токсичного бета-амілоїду і білків тау активує клітини імунної системи в мозку, які називаються мікроглією (від давньогрец. Mikros – маленький, glia – клей) [19].

Вони являють собою сукупність дрібних подовжених зірчастих клітин (мікрогліоцитів) зі щільною цитоплазмою і порівняно короткими розгалуженими відростками, які, як правило, розташовуються вздовж капілярів центральної нервової системи (ЦНС). Вони утворюються безпосередньо

з моноцитів (білих клітин крові, необхідних для імунітету) або навколосудинних макрофагів і належать до так званої макрофагально-моноцитарної системи. Разом із макрофагами вказані клітини є активними учасниками імунного захисту центральної нервової системи, тобто мікроглія намагається очистити мозок від токсичних білків, а також поширених залишків відмерлих і відмираючих клітин [20].

Хронічне запалення може розпочатися, коли мікроглія не може впоратися з усім тим, що потрібно очистити. Атрофія відбувається через втрату клітин. Нормальна робота мозку ще більше порушується через зниження здатності мозку метаболізувати глюкозу, його основне паливо [18].

У вимірюванні цих змін у мозку досягнуто значного прогресу. Наприклад, тепер ми можемо визначити аномальні рівні бета-амілоїду і тау в спинномозковій рідині (СМР; рідина, що оточує мозок), а техніка сканування, відома як позитронно-емісійна томографія (ПЕТ), може створювати зображення, що показують, де накопичилися бета-амілоїд і тау. Накопичення бета-амілоїду і тау є біомаркерами хвороби Альцгеймера. Біомаркери - це біологічні зміни, які можна виміряти, щоб вказати на наявність чи відсутність захворювання або ризик розвитку хвороби [18].

Прогресування хвороби Альцгеймера від непомітних для хворої людини змін у мозку до змін, які спричиняють проблеми з пам'яттю і, зрештою, фізичну недієздатність, називається континуумом хвороби Альцгеймера.

У цьому континуумі виділяють три великі фази: доклінічна хвороба Альцгеймера, легкі когнітивні порушення (ЛКП) внаслідок хвороби Альцгеймера і деменція внаслідок хвороби Альцгеймера, яку також називають деменцією Альцгеймера. Фаза деменції Альцгеймера також поділяється на легку, помірну і важку деменцію [18].

Хоча ми знаємо, що континуум хвороби Альцгеймера починається з доклінічної хвороби Альцгеймера (без симптомів) і закінчується важкою деменцією Альцгеймера (з вираженими симптомами), тривалість перебування людей на кожній частині континууму варіюється. На тривалість кожної

частини континууму впливають вік, генетика, біологічна стать та інші фактори [18]. Тривалість хвороби від перших симптомів до смерті становить від 2 до 20 років (в середньому 12 років) [21].

а. Доклінічна хвороба Альцгеймера

На цій стадії у людей можуть бути помітні зміни в мозку, які вказують на ранні ознаки хвороби Альцгеймера (біомаркери), але у них ще не розвинулися такі симптоми, як втрата пам'яті. Коли виникають ранні зміни при хворобі Альцгеймера, мозок компенсує їх, дозволяючи людям продовжувати нормально функціонувати.

Хоча дослідницькі центри мають інструменти та досвід для виявлення деяких ранніх змін мозку при хворобі Альцгеймера, необхідні додаткові дослідження для уточнення точності інструментів, перш ніж вони стануть доступними для широкого використання в лікарнях, лікарських кабінетах та інших клінічних установах. Важливо зазначити, що не у всіх людей з ознаками змін мозку, пов'язаних з хворобою Альцгеймера, розвиваються симптоми легких когнітивних порушень або деменції внаслідок хвороби Альцгеймера. Наприклад, деякі люди мають бета-амілоїдні бляшки на момент смерті, але не мали проблем з пам'яттю або мисленням за життя [18].

б. Легкі когнітивні порушення (ЛКП) внаслідок хвороби Альцгеймера

Люди з ЛКП внаслідок хвороби Альцгеймера мають біомаркери, що свідчать про зміни мозку, спричинені хворобою Альцгеймера, а також нові, але малопомітні симптоми, такі як проблеми з пам'яттю, мовою та мисленням. Ці когнітивні проблеми можуть бути помітними для самої людини, членів сім'ї та друзів, але не для оточуючих, і вони можуть не впливати на здатність людини виконувати повсякденну діяльність, а виникають тоді, коли мозок більше не може компенсувати пошкодження та загибель нейронів, спричинені хворобою Альцгеймера.

Кожен, у кого розвивається деменція Альцгеймера, спочатку переживає ЛКП. Серед тих, хто переніс ЛКП, близько 15% розвивають деменцію через

два роки. Близько третини розвивають деменцію внаслідок хвороби Альцгеймера протягом п'яти років. Однак у деяких людей з ЛКП не спостерігається додаткового зниження когнітивних функцій або вони повертаються до нормального рівня когнітивних функцій. Серед популяційних досліджень систематичний огляд і мета-аналіз показали, що частота реверсії становить 26%. Визначення того, у кого з пацієнтів з ЛКП найімовірніше розвинеться деменція, є основною метою поточних досліджень [18].

с. Деменція внаслідок хвороби Альцгеймера

Деменція внаслідок хвороби Альцгеймера, або деменція Альцгеймера, характеризується помітними порушеннями пам'яті, мови, мислення або поведінки, які погіршують здатність людини функціонувати в повсякденному житті, в поєднанні з біомаркерами, що свідчать про пов'язані з хворобою Альцгеймера зміни мозку. У міру прогресування хвороби Альцгеймера люди зазвичай відчувають кілька типів симптомів, які змінюються з часом. Ці симптоми відображають ступінь пошкодження нейронів у різних ділянках мозку. Швидкість, з якою симптоми деменції розвиваються від легких до помірних і важких, відрізняється від людини до людини [18].

■ Легка стадія деменції Альцгеймера

На легкій стадії деменції Альцгеймера більшість людей здатні функціонувати незалежно в багатьох сферах, але, ймовірно, потребують допомоги в деяких видах діяльності, щоб максимально зберегти незалежність і залишатися в безпеці. Особливо складними можуть бути управління фінансами та оплата рахунків, і їм може знадобитися більше часу для виконання звичайних повсякденних завдань. Вони все ще можуть бути в змозі керувати автомобілем, працювати і брати участь в улюблених заходах.

■ Помірна деменція Альцгеймера

На помірній стадії деменції Альцгеймера, яка часто є найтривалішою стадією, люди відчувають більше проблем з пам'яттю і мовою, частіше плутаються і їм важче виконувати багатоетапні завдання, такі як купання і

одягання. У них може початися нетримання сечі, а також зміни в особистості та поведінці, включаючи підозрілість і збудження. У них також можуть виникнути проблеми з впізнаванням близьких.

- **Важка стадія деменції Альцгеймера**

На важкій стадії деменції Альцгеймера здатність людини до вербального спілкування значно знижується, і вона, швидше за все, потребуватиме цілодобового догляду. Через пошкодження ділянок мозку, що відповідають за рух, люди стають прикутими до ліжка. Прикутість до ліжка робить їх вразливими до фізичних ускладнень, включаючи тромби, шкірні інфекції та сепсис, який викликає запалення всього організму, що може призвести до відмови органів. Пошкодження ділянок мозку, які контролюють ковтання, ускладнює прийом їжі та пиття. Це може призвести до того, що люди ковтають їжу в трахею (дихальне горло), а не в стравохід (харчову трубу). Через це частинки їжі можуть осідати в легенях і викликати легеневу інфекцію. Цей тип інфекції називається аспіраційною пневмонією і є основною причиною смерті багатьох людей з хворобою Альцгеймера [18].

1.3. Сучасні методи медикаментозної терапії

ХА має складну багатофакторну патофізіологію, що зумовлює важкий перебіг захворювання. Патогенез ХА пов'язаний з кількома складними шляхами, включаючи дефіцит холінергічної нейротрансмісії, порушення метаболізму бета-амілоїдного (A β) білка (агрегація A β), відкладення і фосфорилування тау-білка (NFT), а також залучення запальних і оксидативних шляхів [22]. Затверджені на сьогоднішній день препарати діють на одну мішень (one drug – one target; ODOT), але останнім часом увага приділяється множинним терапевтичним стратегіям, спрямованим на розробку препаратів, здатних впливати на більш ніж одну мішень [23, 24]. Багатоцільові лікарські засоби (БЦЛЗ) створюються шляхом поєднання в одній молекулі двох або більше фармакофорних структурних особливостей біологічно активних речовин, що діють на різні мішені.

На момент написання цієї статті Управління з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів і медикаментів США (FDA) схвалило сім препаратів для лікування хвороби Альцгеймера. П'ять з цих препаратів - донепезил, ривастигмін, галантамін (інгібітори холінестерази), мемантин (антагоніст N-метил-D-аспартата (NMDA)) і мемантин у поєднанні з донепезилом - спрямовані на поліпшення симптомів. Вони не впливають на основні зміни мозку, які викликають симптоми, і не змінюють перебіг хвороби. За винятком мемантину, вони покращують симптоми, збільшуючи кількість хімічних речовин, які називаються нейромедіаторами в мозку. Мемантин захищає мозок від надмірного рівня нейромедіатора глутамату, який надмірно стимулює нейрони і може їх пошкодити [18].

Інгібітори холінестерази сприяють центральній холінергічній активності шляхом зменшення фізіологічного розщеплення ацетилхоліну (AX) ферментом ацетилхолінестеразою (AXE) в синаптичній щілині.

Антагоніст N-метил-D-аспартата використовується для регулювання рівня глутамату шляхом неконкурентного антагоністичного впливу на N-метил-D-аспартатні (NMDA) рецептори. Глутамат - це нейромедіатор, який відіграє важливу роль у функціях мозку, пов'язаних з навчанням і запам'ятовуванням. Високий рівень глутамату може викликати патологічні ефекти, що призводять до загибелі нейронів.

Два препарати, схвалені FDA - адуканумаб і леканемаб - спрямовані на зміну основної біології хвороби. Вони видаляють бета-амілоїд з мозку і сповільнюють когнітивне та функціональне зниження у людей, які живуть з ранньою стадією хвороби Альцгеймера. Вони не є ліками від хвороби Альцгеймера і не підходять для всіх людей, які живуть з хворобою Альцгеймера [18].

У деяких людей може виникнути поширений побічний ефект, який називається амілоїд-асоційованими порушеннями візуалізації (ARIA). Зазвичай, хоча і не у всіх випадках, ARIA - це тимчасовий набряк мозку, який не викликає симптомів і з часом минає. Він може супроводжуватися

невеликими крововиливами в мозку або на його поверхні. Люди повинні перебувати під ретельним наглядом і регулярно проходити обстеження головного мозку, щоб швидко виявити та безпечно лікувати ARIA, якщо вона виникне.

Інші методи лікування, спрямовані на основну біологію хвороби Альцгеймера, знаходяться в стадії розробки [25]. Вони спрямовані на багато змін у мозку, пов'язаних з хворобою Альцгеймера, включаючи, але не обмежуючись цим, накопичення тау, змінений клітинний метаболізм і запалення. Лікування, яке охоплює всю біологію хвороби Альцгеймера, а не лише бета-амілоїд, має вирішальне значення [18].

1.4. Похідні гідантоїну як ЦНС-агенти

Гідантоїн, імідазолідин-2,4-діон, є неароматичним п'ятичленним гетероциклом, який вважається цінним, привілейованим каркасом у медичній хімії. Важливість гідантоїну у створенні ліків було підтверджено кількома лікарськими засобами, що застосовуються в клінічній практиці, такими як фенітоїн, нітрофурантоїн та ензалутамід [26].

Гідантоїн має п'ять потенційних замісників, у тому числі двох акцепторів водневих зв'язків і двох донорів водневих зв'язків. Двома додатковими привабливими особливостями гідантоїну є можливість його синтезу за допомогою відомих реакцій циклізації та легкість приєднання різних замісників [27].

Через ці характеристики багато похідних гідантоїну з різними замісниками було розроблено та синтезовано, і вони демонструють широкий спектр біологічної та фармакологічної активності, наприклад, проти раку, мікробних інфекцій, метаболічних захворювань та епілепсії [26].

Гідантоїн (1), загальна назва імідазолідин-2,4-діону, - це п'ятичленний гетероцикл, який є однією з окислених форм імідазолідину з циклічним уреїдом. Взагалі, термін "гідантоїни" відноситься до певних груп сполук, тому зазвичай мається на увазі клас сполук, що містять гідантоїнову субструктуру

як каркас. 2-Тіогідантоїн (2) та 2-Селеногідантоїн (3) є ізостеричними аналогами гідантоїну (Рис. 1.4) [26].

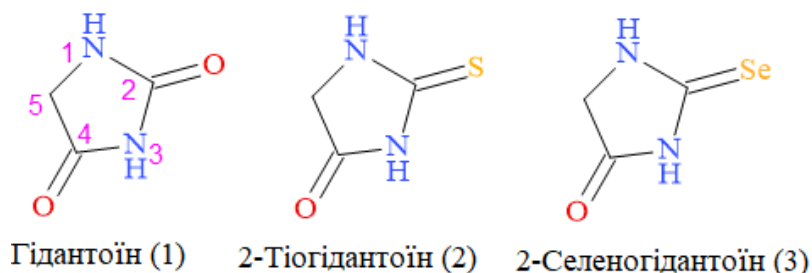
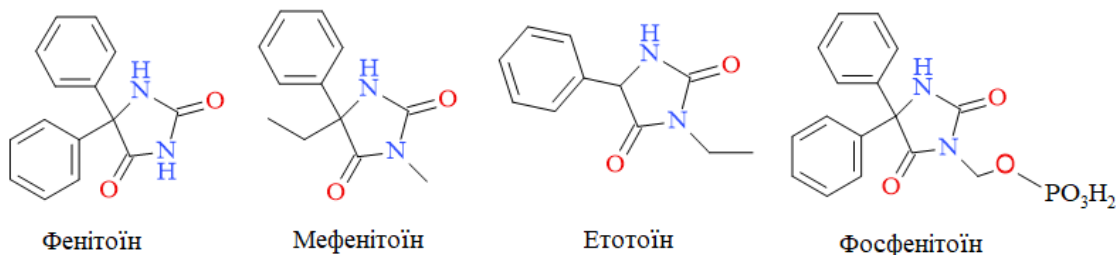


Рис. 1.4 Будова гідантоїну, 2-тіогідантоїну та 2-селеногідантоїну

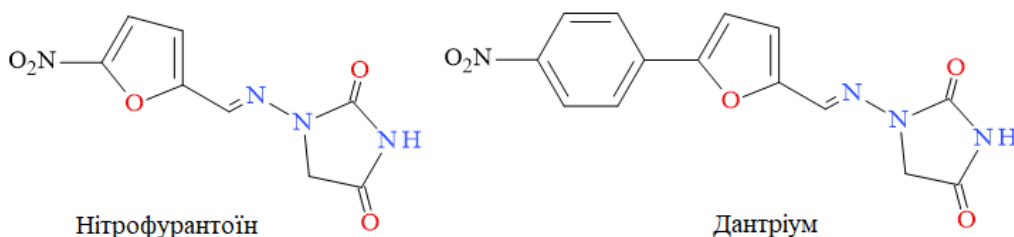
Термін "гідантоїн" походить від поєднання хімічної реакції та субстрату (тобто, *гідрування* + *алантоїн*), оскільки група Байєра спочатку синтезувала його шляхом гідрування алантоїну.

Гідантоїни широко досліджуються через їх універсальне медичне та промислове застосування як ключових фармакофорних фрагментів або скелетних компонентів. Дійсно, незважаючи на невеликий розмір гідантоїну, він має чотири деривативних положення і чотири донори/акцептори водню. Клінічно схвалені такі препарати, як фенітоїн, мефенітоїн, етотоїн і фосфенітоїн як протисудомні препарати; нітрофурантоїн і дантрій як міорелаксанти; і нілутамід та ензалутамід як антагоністи андрогенних рецепторів є репрезентативними фармакологічними сполуками (Рис. 1.5) [26]. Гідантоїновмісні сполуки мають широкий спектр фармакологічної та біологічної активності, таких як протиракова [27-32], протизапальна [33,34], протидіабетична [35], антимікробна [36,37], адреноміметичну [38-40], протисудомну [41,42], антиагрегантну [43] та анти-ВІЛ активність [44-46]. Крім того, ці сполуки діють як алостеричні антагоністи клітинної адгезії лейкоцитів шляхом зв'язування з функціонально-асоційованим антигеном-1 лімфоцитів та порушуючи білок-білкову взаємодію [47].

Протисудомні препарати



Постсинаптичні міорелаксанти



Антагоністи андрогенних рецепторів

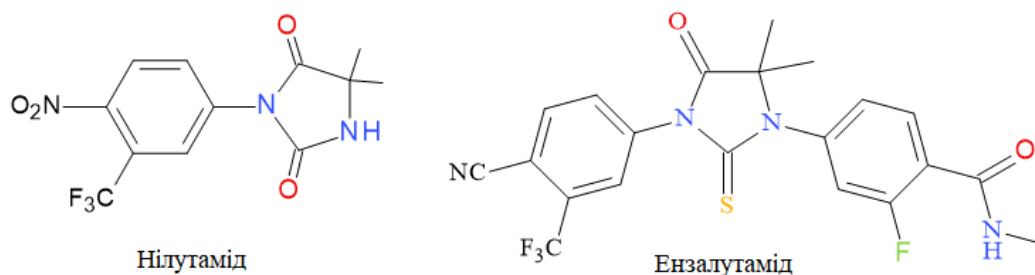


Рис. 1.5 Гідантоїни та тіогідантоїн, що продаються на ринку

У 1861 році група Байєра вперше синтезувала гідантоїн, а його структурна ідентифікація була завершена Штрекером у 1870 році. Через їх потенційне застосування в різних медичних, промислових, сільськогосподарських та санітарних цілях, гідантоїни були розроблені та оцінені за допомогою різних синтетичних методів. Не так давно Коннерт та ін. [48-50] опублікували всебічний огляд, в якому вони класифікували методи синтезу похідних гідантоїнів відповідно до їхніх атомів заміщення та положень. Двома репрезентативними синтетичними підходами для циклічного синтезу гідантоїну (Рис. 1.6) є реакція Бюхерера-Бергса, яка являє собою одностадійне утворення гідантоїну з використанням кетонів як субстратів і ціаніду калію та карбонату амонію як реагентів, та послідовне приєднання та циклізація похідних α -амінокислот та ізоціанатів або

ізотіоціанатів. Крім того, конденсація (тіо)сечовини і 1,2-дикарбонільних сполук дає (тіо)гідантоїни. Ця стратегія добре проілюстрована кількома дослідницькими групами. Бліц та ін. повідомили про ефективний синтез фенітоїну шляхом перегрупування бензилу, в якому R і R' є арильними групами. Гліюксаль або α -кетоестер також конденсували з сечовиною, щоб отримати гідантоїн з регіоізомерними сумішами. Нещодавно метод з використанням мікрохвиль покращив виходи та ефективність реакції [51-54].

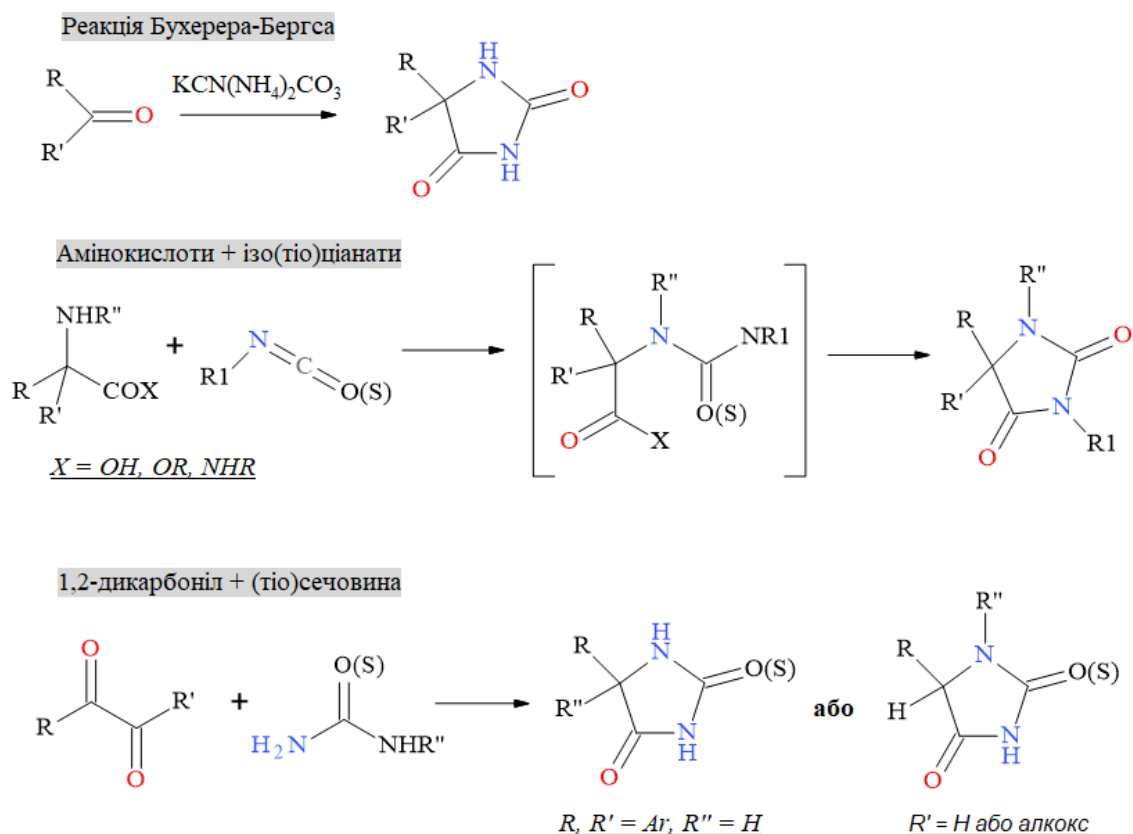


Рис. 1.6 Репрезентативні методи синтезу гідантоїнів

Незважаючи на його важливість як привілейованої платформи для відкриття ліків, лише в небагатьох оглядах описано медичне застосування гідантоїновмісних похідних (Рис. 1.7).

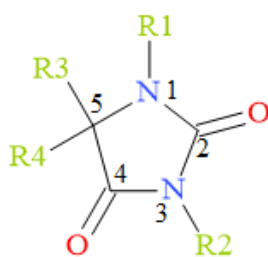


Рис. 1.7 Гідантоїн та місця його дериватизації

1.4.1. Похідні Гідантоїну як протисудомні засоби

У 2015 році Хабіб та його колеги повідомили про серію нових гібридів бензиліденгідантоїну з фенілпіперазином як потенційних протисудомних засобів. Гібриди були розроблені на основі двох раніше відомих активних лігандів, сполуки 2-тіогідантоїну, (3-(алкіл/арил)-5,5-дифеніл-2-тіоксоімідазолідин-4-он) та сукциніміду піперазину, (N-[(4-арилпіперазин-1-іл)-метил]-3-арилпіролідин-2,5-діон). Сполуки були синтезовані за допомогою двостадійного процесу, а саме утворення бензилідену та введення N-фенілпіперазинілметильної групи з отриманням 18 аналогів.

Протисудомну активність оцінювали за допомогою двох різних тестів. Результати першого показали, що синтезовані бензиліденгідантоїни мають тенденцію до подовження часу виживання порівняно зі стрихніном, а сполука «А» виявилася найпотужнішою і схожою з фенітоїном. У другому – продемонстрували від помірного до відмінного захисного ефекту (від 33% до 100%), а сполука «В» була на 100% ефективною проти індукованих судом.

Часткове дослідження SAR виявило, що ліпофільні галогени, такі як Cl або Br в 4-му положенні бензиліденової групи підвищують активність в обох тестах, а орто-оксигеновані фенільні похідні, такі як OH та OMe, забезпечують оптимальну активність (Рис. 1.8) [55].

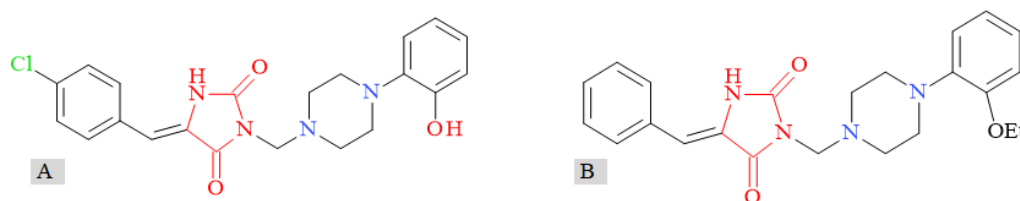
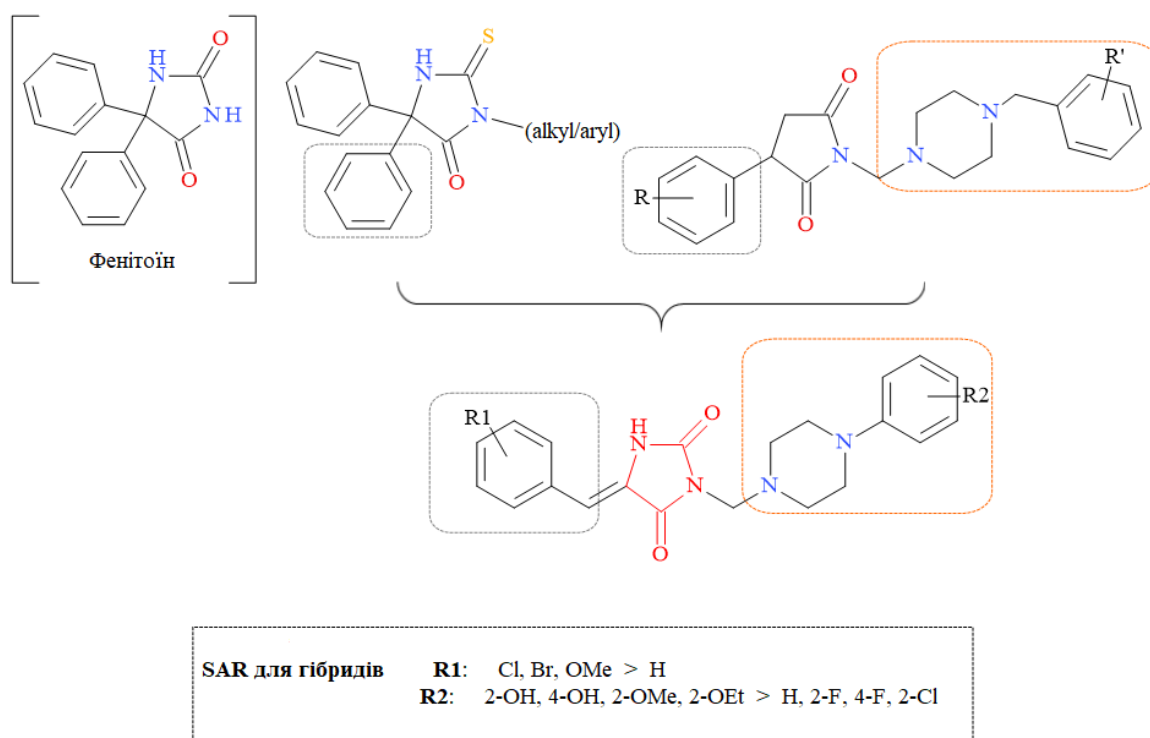


Рис. 1.8 Дизайн та SAR бензиліденгідантоїн-фенілпіперазинових гібридів на основі відомих лігандів

Хімічна деривативність у 5-му положенні гідантоїну забезпечує неабияку користь у медичній хімії та пошуку ліків. У 2011 році HB10 був відкритий як потенційний протисудомний засіб Біртусом з колегами. У 2016 році Чопек та колеги опублікували дизайн і синтез β -тетраліногідантоїнів, нових хемотипів на основі гідантоїнів, та оцінку їхніх протисудомних властивостей [32,56]. Дев'ять похідних β -тетраліногідантоїнів було синтезовано у двостадійній послідовності, що складається з реакції Бюхерера-Бергса з 3,4-дигідронафталін-2(1H)-оном та реакції типу Манніха для приєднання піперазину.

Синтезовані сполуки оцінювали на предмет їхньої протисудомної активності за допомогою тестів на максимальний електрошоковий напад (MES) та підшкірних PTZ-тестів на судоми (scPTZ).

Результати показали, що лише одна сполука («А») показала значну активність як в тестах scPTZ, так і в тестах MES, тоді як інші сполуки були неактивними. Введення амідного зв'язку усунуло протисудомну активність, як показано на прикладі сполук «В» та «С» (Рис. 1.9) [57].

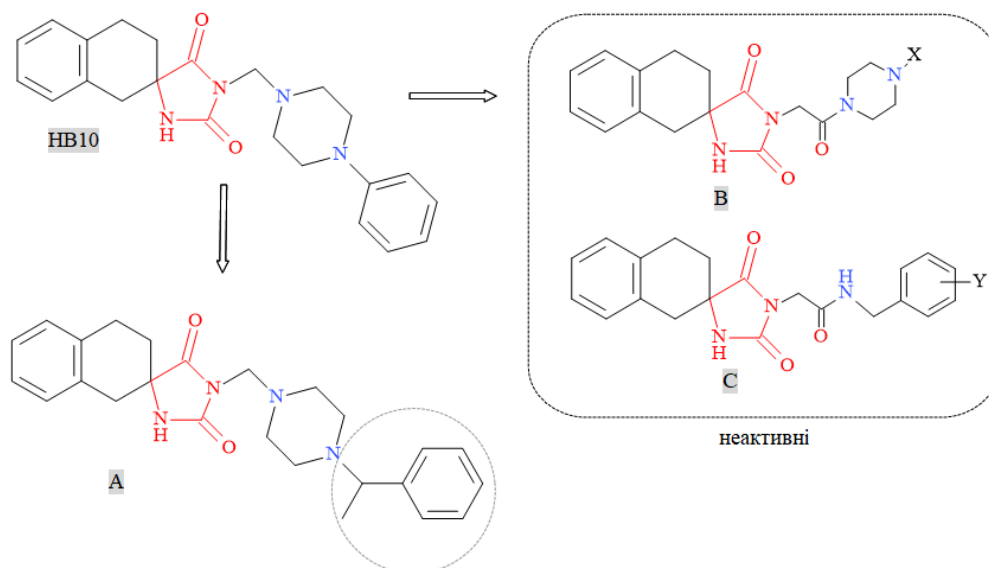


Рис. 1.9 Протисудомна активність β -тетраліногідантоїнів

1.4.2. Гідантоїни як антагоністи 5-HT-рецепторів

У 2014 році Handzlik та його колеги повідомили про 5,5-дизаміщені гібриди гідантоїну та фенілпіперазину (II-IV) (рис. 1.10) як антагоністи серотонінових рецепторів. Дизайн цих трьох сполук базувався на раніше відомому ліганді I. Це дослідження є переконливим, оскільки, залежно від замісників, виявлено селективні антагоністи альфа-1-адренергічних рецепторів ($\alpha 1$ -AR), 5-HT_{1A}, 5-HT₆ та 5-HT₇, що свідчить про потенційну можливість відкриття нових лікарських засобів з високою рецепторною селективністю.

Синтезовані сполуки можна розділити на три групи: 5,5-дифеніл (II), 5-метил-5-феніл (III) та 5,5-диметил (IV), відповідно до замісників у 5-му положенні.

Зв'язування радіолігандів для синтезованих сполук показали, що більшість з них виявляють помірну або добру спорідненість до $\alpha 1$ -AR, 5-HT_{1A} та 5-HT₇, але слабку інгібіторну активність щодо 5-HT₃ та 5-HT₆ [58].

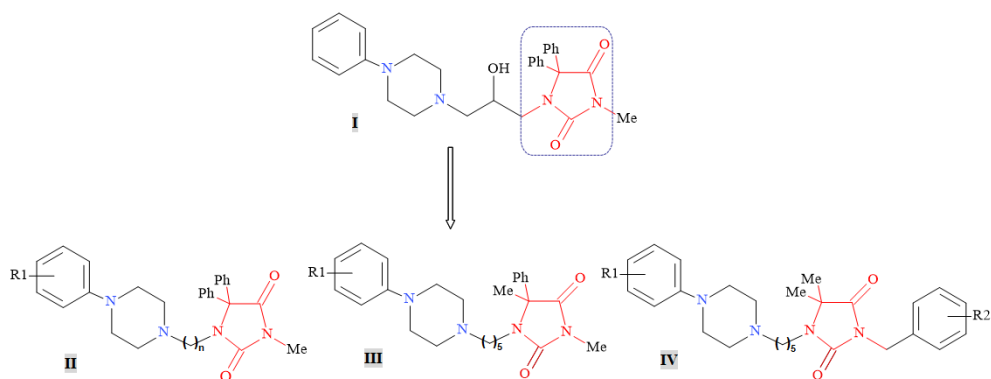


Рис. 1.10 5,5-дизаміщені гібриди гідантоїну з фенілпіперазином

У 2016 р. цією ж групою було здійснено синтез арилпіперазин 5-(4-фторфеніл)-5-метилгідантоїнів (II і III), які зв'язані 2-гідроксипропіловим лінкером (рис. 1.11), та оцінили їхню афінність до рецептора 5-HT₇ (5-HT₇R). Було урізноманітнено замісники на фенільному кільці в піперидині. Окремі дані свідчать про високу селективність інгібування 5-HT₇R щодо дофамінових D₂-рецепторів та 5-HT_{1A}R порівняно зі значеннями референтних сполук, причому сполуки IIa та IId переважали сполуку I за рівнем селективності [59].

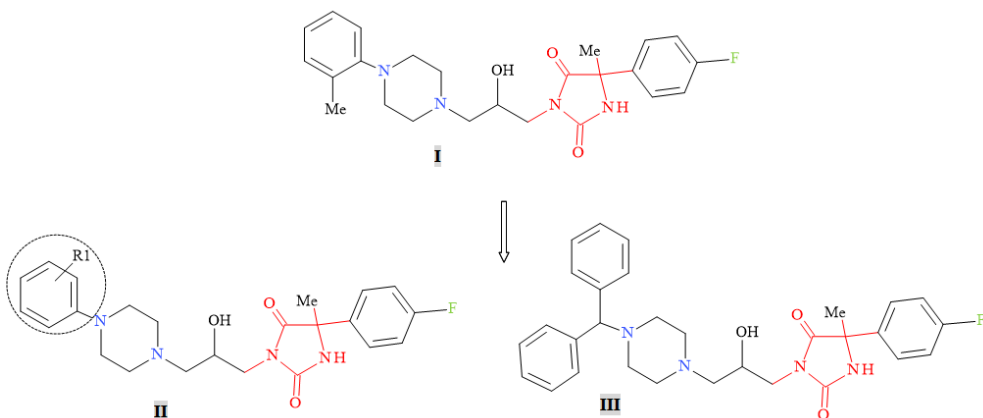


Рис. 1.11 Арилпіперазин 5-(4-фторфеніл)-5-метилгідантоїни (II і III), які зв'язані 2-гідроксипропіловим лінкером

Висновки до розділу 1.

Проведено літературний аналіз інформації щодо хвороби Альцгеймера, а саме: її етіології, епідеміології, факторів ризику, патогенезу та розглянуто сучасні методи медикаментозної терапії. Також розглянуто похідні гідантоїну у ролі ЦНС-агентів.

РОЗДІЛ 2

ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ЛІКОПОДІБНОСТІ ТА ПРОГНОЗУВАННЯ ТАРГЕТОВАНОГО ВПЛИВУ ПОХІДНИХ 1,3- ДІАЗАСПРО[4.5]ДЕКАН-2,4-ДІОНУ

2.1 Розрахунок параметрів абсорбції, розподілу, метаболізму, виведення та токсичності прогнозованих сполук

Сучасна ера штучного інтелекту (ШІ) характеризується прогресом в області технологій глибокого навчання і методів його реалізації, які продемонстрували свої переваги в багатьох сферах, включаючи розробку лікарських препаратів. ADMET (абсорбція, розподіл, метаболізм, виведення та токсичність) описує фармакокінетику та фармакодинаміку молекули лікарського засобу.

Профіль ADMET біологічно активної сполуки може впливати на її ефективність та безпеку. Більше того, ефективність та безпека вважаються одними з основних причин клінічних невдач при розробці нових хімічних об'єктів. За останні десятиліття різні методи машинного навчання або кількісного аналізу взаємозв'язку структура-активність (QSAR) були успішно інтегровані в моделювання ADMET [60]. Усі дані (ліпофільність (LIPO), розмір (SIZE), полярність (POLAR), розчинність (INSOLU), ненасиченість (INSATU) та гнучкість (FLEX)) відображаються на радарі біодоступності SwissADME (Рис. 2.1).

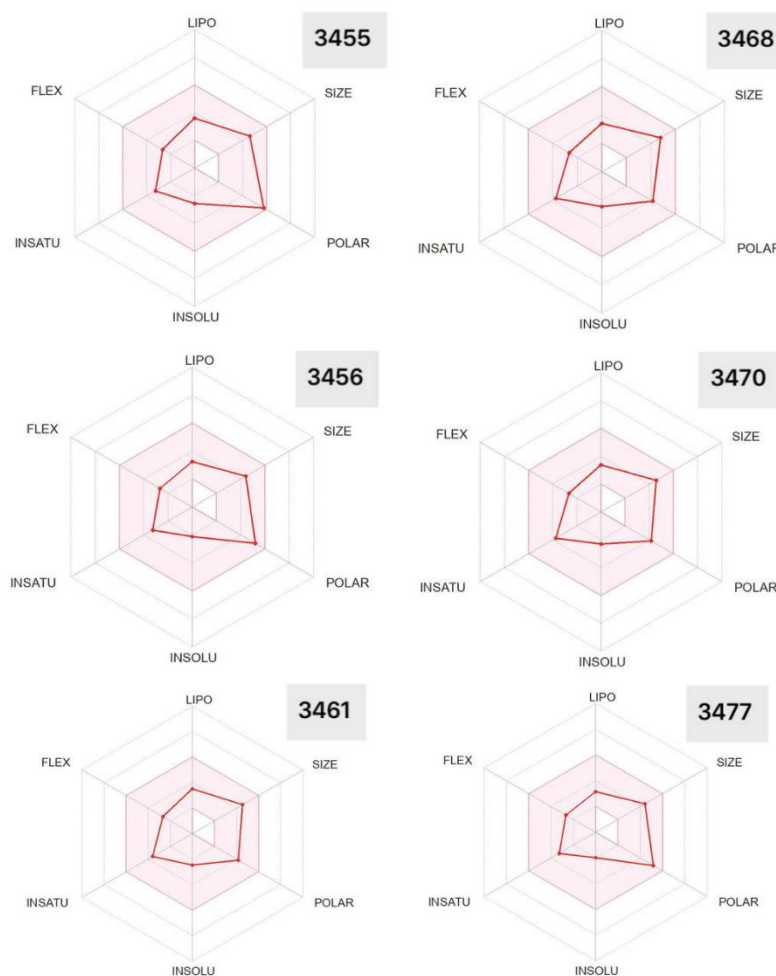


Рис. 2.1 Візуалізація радару біодоступності досліджуваних похідних SwissADME

Оптимальне значення молекулярної маси в межах від 150 до 500 г/моль [61], тож наші шість досліджуваних сполук відповідають даному параметру, а також усім іншим (топологічна площа полярної поверхні (критерії від 20 до 130 Å²) [62], гнучкість молекули (не > 9 обертових зв'язків) [61] та молекулярна рефракція (критерії від 40 до 130). Співвідношення sp^3 -гібридизованих атомів Карбону для насичення має бути не менше 0,25 [63].

Кількість важких атомів може впливати на біодоступність та ліпофільність молекули; кількість ароматичних важких атомів може впливати на зв'язування з білками та ферментами; кількість зв'язків, що обертаються може впливати на конформаційну гнучкість молекули; кількість акцепторів та донорів Н-зв'язку може впливати на розчинність та зв'язування з іншими молекулами (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Фізико-хімічні властивості досліджуваних сполук

	СПОЛУКА 3455	СПОЛУКА 3456	СПОЛУКА 3461	СПОЛУКА 3468	СПОЛУКА 3470	СПОЛУКА 3477
Формула	$C_{17}H_{21}N_3O_3S_2$	$C_{17}H_{21}N_3O_4S$	$C_{20}H_{25}N_3O_4$	$C_{19}H_{21}F_2N_3O_4$	$C_{19}H_{22}FN_3O_4$	$C_{17}H_{21}N_3O_4S$
Молекулярна маса (г/моль)	379.50	363.43	371.43	393.38	375.39	363.43
Кількість важких атомів	25	25	27	28	27	25
Кількість ароматичних важких атомів	5	5	6	6	6	5
Частка Csp ³	0.59	0.59	0.55	0.53	0.53	0.59
Кількість зв'язків, що обертаються	4	4	4	4	4	4
Кількість акцепторів Н-зв'язку	3	4	4	6	5	4
Кількість донорів Н-зв'язку	1	1	1	1	1	1
Молярне заломлення	109.58	103.97	110.17	105.12	105.16	103.08
Топологічна площа полярної поверхні (ТППП)	123.26 Å ²	108.16 Å ²	78.95 Å ²	78.95 Å ²	78.95 Å ²	107.19 Å ²

Оптимальний діапазон iLOGP становить від -3,93 до 6,46. З огляду на MLOGP, вона повинна бути < 4.15 , XLOGP3 між - 0.7 і + 5.0 [64, 65]. WLOGP – $< 5,88$ [66]. Таким чином, усі сполуки вписуються у критерії ліпофільності (табл. 2.2).

Таблиця 2.2

Ліпофільність досліджуваних сполук

	СПОЛУКА 3455	СПОЛУКА 3456	СПОЛУКА 3461	СПОЛУКА 3468	СПОЛУКА 3470	СПОЛУКА 3477
Log $P_{o/w}$ (iLOGP)	2.57	2.39	2.72	2.71	2.62	2.48
Log $P_{o/w}$ (XLOGP3)	0.80	0.19	0.66	0.49	0.39	0.01
Log $P_{o/w}$ (WLOGP)	0.62	0.15	0.15	0.96	0.40	-0.10
Log $P_{o/w}$ (MLOGP)	1.06	0.26	0.92	1.45	1.07	0.26
Log $P_{o/w}$ (SILICOS-IT)	2.75	1.50	2.06	2.38	1.96	2.19
Consensus Log $P_{o/w}$	1.56	0.90	1.30	1.60	1.29	0.97

Важливим аспектом для ліків парентерального застосування є розчинність у воді (log S), що забезпечує достатню кількість АФІ у невеликому об'ємі терапевтичної дози (табл.). Якісна оцінка класу розчинності запропонована за такою шкалою log S: нерозчинні < -10 $<$ малорозчинні < -6 $<$ помірно розчинні < -4 $<$ розчинні < -2 $<$ добре розчинні < 0 $<$ високо розчинні [66].

Розрахований за моделлю ESOL log S має бути не більше -6. Таким чином, усі шість сполук можуть знайти застосування у вигляді парентеральних лікарських форм (табл. 2.3).

Таблиця 2.3

Розчинність у воді досліджуваних сполук

	СПОЛУКА 3455	СПОЛУКА 3456	СПОЛУКА 3461	СПОЛУКА 3468	СПОЛУКА 3470	СПОЛУКА 3477
Log S (ESOL)	-2.58 Розчинна	-2.10 Розчинна	-2.46 Розчинна	-2.48 Розчинна	-2.31 Розчинна	-1.98 Добре розчинна
Log S (Ali)	-2.97 Розчинна	-2.02 Розчинна	-1.89 Добре розчинна	-1.72 Добре розчинна	-1.61 Добре розчинна	-1.81 Добре розчинна
Log S (SILICOS-IT)	-3.72 Розчинна	-3.68 Розчинна	-4.48 Помірно розчинна	-4.63 Помірно розчинна	-4.37 Помірно розчинна	-3.37 Розчинна

Шлунково-кишкова абсорбція лікарських засобів описує процес, за якого активні компоненти лікарських препаратів поглинаються через стінку шлунка та кишечника у кровоносну систему. У всіх досліджуваних сполук цей показник є високим, що може вказувати як на швидкість та ефективність дії препарату, так і на збільшення ризиків виникнення побічних ефектів. Р-глікопротеїн є важливим білком клітинної мембрани, який виводить багато чужорідних речовин з клітин, наприклад, зі стінки шлунково-кишкового тракту в просвіт або з мозку [67], а також захищає центральну нервову систему (ЦНС) від дії ксенобіотиків [68]. Усі препарати є субстратами Р-глікопротеїну.

Крім того, ключовими сполуками у виведенні ліків шляхом метаболічної біотрансформації є п'ять основних ізоформ цитохромів Р450 (СYP) (СYP1A2, СYP2C19, СYP2C9, тощо) [69-71]. Сполука 3455 виявилась інгібітором лише СYP1A2 та СYP2C19, інші ж сполуки не є інгібіторами жодної з ізоформ.

Чим більш негативний $\log K_p$ (см/с), тим меншою є проникність молекули у шкіру [72]. Як бачимо, застосування досліджуваних сполук у вигляді мазей буде неефективним. Також жодна з наведених сполук за даними розрахунками не проникатиме через ГЕБ (табл. 2.4).

Таблиця 2.4

Фармакокінетика досліджуваних сполук

	СПОЛУКА 3455	СПОЛУКА 3456	СПОЛУКА 3461	СПОЛУКА 3468	СПОЛУКА 3470	СПОЛУКА 3477
Шлунково-кишкова абсорбція	Висока	Висока	Висока	Висока	Висока	Висока
Проникнення через ГЕБ	Ні	Ні	Ні	Ні	Ні	Ні
Субстрат Р-глікопротеїну	Так	Так	Так	Так	Так	Так
Інгібітор СYP1A2	Так	Ні	Ні	Ні	Ні	Ні
Інгібітор СYP2C19	Так	Ні	Ні	Ні	Ні	Ні
Інгібітор СYP2C9	Ні	Ні	Ні	Ні	Ні	Ні
Інгібітор СYP2D6	Ні	Ні	Ні	Ні	Ні	Ні
Інгібітор СYP3A4	Ні	Ні	Ні	Ні	Ні	Ні
$\log K_p$ (проникнення через шкіру)	-8.05 см/с (Низька)	-8.38 см/с (Низька)	-8.10 см/с (Низька)	-8.35 см/с (Низька)	-8.31 см/с (Низька)	- 8.51 см/с (Низька)

Дані таблиці 2.5 свідчать про те, що всі шість досліджуваних сполук мають потенціал для використання як лікарські засоби.

Таблиця 2.5

Лікарська подібність досліджуваних сполук

	СПОЛУКА 3455	СПОЛУКА 3456	СПОЛУКА 3461	СПОЛУКА 3468	СПОЛУКА 3470	СПОЛУКА 3477
Фільтр Lipinski (Pfizer)	Так; 0 порушень	Так; 0 порушень	Так; 0 порушень	Так; 0 порушень	Так; 0 порушень	Так; 0 порушень
Фільтр Ghose (Amgen)	Так	Так	Так	Так	Так	Так
Фільтр Veber (GSK)	Так	Так	Так	Так	Так	Так
Фільтр Egan (Pharmacia)	Так	Так	Так	Так	Так	Так
Фільтр Muegge (Bayer)	Так	Так	Так	Так	Так	Так
Показник біодоступності Abbot	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55

Усі шість протестованих сполук не мають попереджень згідно з правилами PAINS. Це свідчить про те, що вони не містять структурних фрагментів, які зазвичай зустрічаються в неактивних або токсичних сполуках. Усі протестовані сполуки мають одне попередження Бренка, пов'язане з фрагментом гідантоїну. Гідантоїн може бути токсичним, тому його присутність у цих сполуках потребує подальшого дослідження. Жодна з досліджуваних сполук не відповідає всім

критеріям "лідера", а їхня синтетична доступність є помірною (3,75 - 3,96). Це свідчить про те, що їх можна синтезувати без надмірних зусиль (табл. 2.6).

Таблиця 2.6

Медична хімія досліджуваних сполук

	СПЛУКА 3455	СПЛУКА 3456	СПЛУКА 3461	СПЛУКА 3468	СПЛУКА 3470	СПЛУКА 3477
PAINS	0 попереджень	0 попереджень	0 попереджень	0 попереджень	0 попереджень	0 попереджень
Brenk (структурне попередження)	1 попередження: гідантоїн	1 попередження: гідантоїн	1 попередження: гідантоїн	1 попередження: гідантоїн	1 попередження: гідантоїн	1 попередження: гідантоїн
Схожість з лідером	Ні; 1 порушення: MW>350	Ні; 1 порушення: MW>350	Ні; 1 порушення: MW>350	Ні; 1 порушення: MW>350	Ні; 1 порушення: MW>350	Ні; 1 порушення: MW>350
Синтетична доступність (1 – дуже легко, 10 – дуже складно)	3.93	3.96	3.77	3.80	3.75	3.84

2.2 Прогнозування таргетованого впливу похідних 1,3-діазаспіро[4.5]декан-2,4-діону

Велика кількість малих молекул, від метаболітів до сигнальних молекул і ліків, виявляють сильну біологічну активність у різних живих системах. Ця активність часто опосередкована фізичними взаємодіями з білками або іншими макромолекулами. Тому інформація про мішені біологічно активних молекул має вирішальне значення для розуміння, прогнозування та втручання в їхню активність. Зокрема, вона може бути використана для прогнозування несприятливих побічних ефектів через нецільові взаємодії і, таким чином, потенційно знизити рівень вибуття учасників клінічних випробувань через токсичність [73, 74], або для прогнозування нової мішені для схваленого препарату і переорієнтації його на лікування іншого захворювання [75-77].

Прогнозування мішеней на основі лігандів виявилось високоефективним і швидким у прогнозуванні правильних білкових мішеней сполук у контексті розробки ліків [78, 79]. Кількісна оцінка подібності між сполуками різними методами дозволила підтвердити інтуїтивну "гіпотезу молекулярної подібності", яка постулює наявність спільних білків-мішеней для подібних молекул [80, 81].

Ймовірні таргети для досліджуваних похідних : ензими 26,7% - 46,7%, протеази 6,7% - 26,7%, фосфодіестерази 6,7% - 26,7%, рецептор сімейства А G-зв'язаних білків 6,7% - 26,7%, кінази 13,3% - 20,0%, вольтаж-залежні іонні канали, електрохімічний транспортер, трансферази, ліганд-залежні іонні канали, рецептор сімейства С G-зв'язаних білків 6, а також некласифіковані білки по 6,7%.

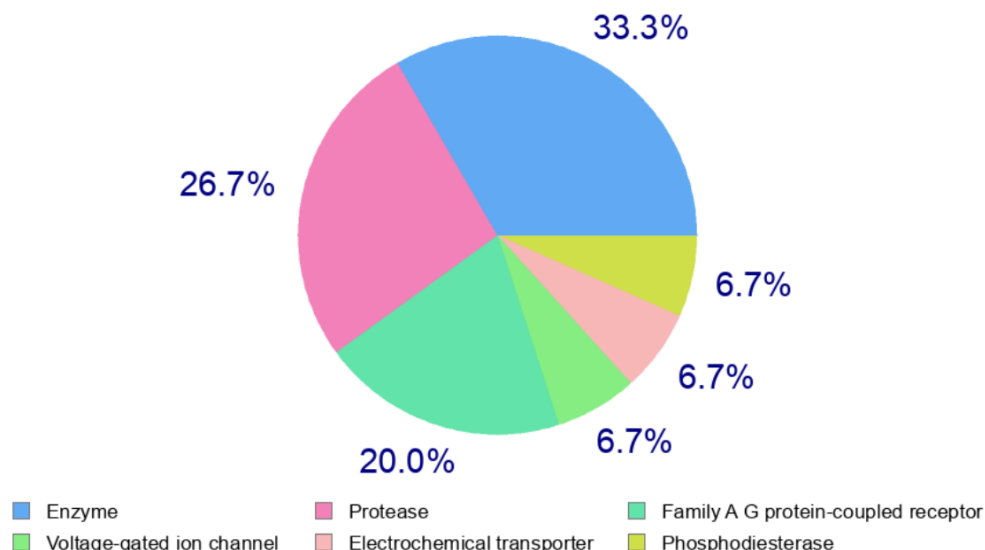


Рис. 2.2 Візуалізація цільових класів у відсотковому співвідношенні для сполуки 3455

Серед усіх вибрано мішені, які можуть чинити вплив на ЦНС, і зокрема брати участь в патогенезі хвороби Альцгеймера: гамма-секретаза (PSEN2, PSEN1, PSENEN, NCSTN, APH1A), рецептор серотоніну 2с (5-HT2с), орексинові рецептори 1 та 2, ADAM10, рецептор серотоніну 6 (5-HT6), альфа-1 субодиниця ГАМК-рецепторів, альфа-2 субодиниця ГАМК-рецепторів, альфа-3 субодиниця ГАМК-рецепторів, альфа-5 субодиниця ГАМК-рецепторів, ГАМК-А рецептор, рецептор серотоніну 1а (5-HT1а), рецептор мелатоніну 1А та 1В, дельта-опіоїдні рецептори, каппа-опіоїдні рецептори, метаботропний глутаматний рецептор 5, ймовірний G-білок-зв'язаний рецептор 139, метаботропний глутаматний рецептор 1, каннабіноїдний рецептор 1 та 2, ацетилхолінестераза, активатор циклін-залежної кінази 5/CDK5 1, рецептор фактора росту нервів Trk-A, рецептор аденозину A1.

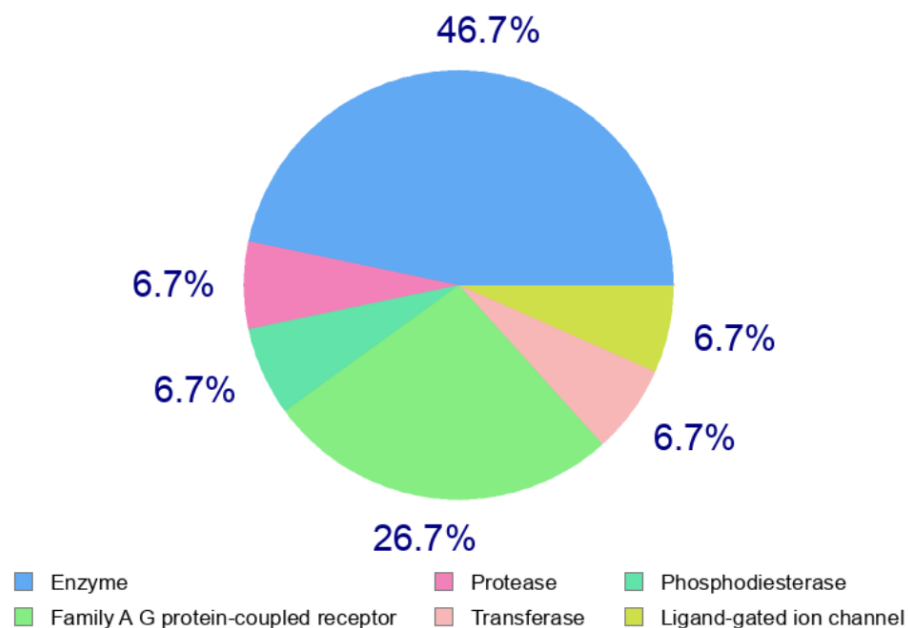


Рис. 2.3 Візуалізація цільових класів у відсотковому співвідношенні для сполуки 3456

Серед усіх вибрано мішені, які можуть чинити вплив на ЦНС, і зокрема брати участь в патогенезі хвороби Альцгеймера: гамма-секретаза (PSEN2, PSEN1, PSENEN, NCSTN, APH1A), рецептор мелатоніну 1A та 1B, альфа-5 субодиниця ГАМК-рецепторів, каннабіноїдний рецептор 1 та 2, каппа-опіїдні рецептори, транспортер дофаміну, рецептор серотоніну 2с (5-HT_{2c}), метаботропний глутаматний рецептор 5, моноамінооксидаза А, моноамінооксидаза В, рецептор аденозину А₁, Рецептор серотоніну 7 (5-HT₇), орексинові рецептори 1 та 2, рецептор серотоніну 6 (5-HT₆), метаботропний глутаматний рецептор 1, субодиниця глутаматних [NMDA] рецепторів епсилон 2, білок бета-амілоїд А4, рецептор дофаміну D₄, активатор циклін-залежної кінази 5/CDK5 1.

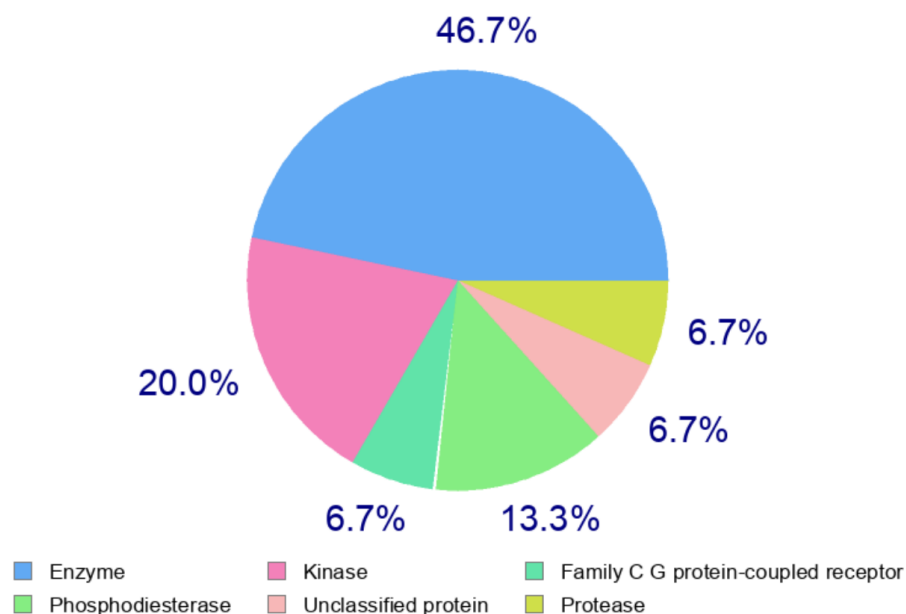


Рис. 2.4 Візуалізація цільових класів у відсотковому співвідношенні для сполуки 3461

Серед усіх вибрано мішені, які можуть чинити вплив на ЦНС, і зокрема брати участь в патогенезі хвороби Альцгеймера: метаботропний глутаматний рецептор 5, рецептор фактора росту нервів Trk-A, метаботропний глутаматний рецептор 1, рецептор мелатоніну 1A та 1B, моноамінооксидаза А, моноамінооксидаза В, активатор циклін-залежної кінази 5/CDK5 1, орексиновий рецептор 2, альфа-5 субодиниця ГАМК-рецепторів, рецептор кортикотропін-релізінг-фактору 1, рецептор нейрокініну 1, кіназа 1A, що регулює тирозинове фосфорилування з подвійною специфічністю.

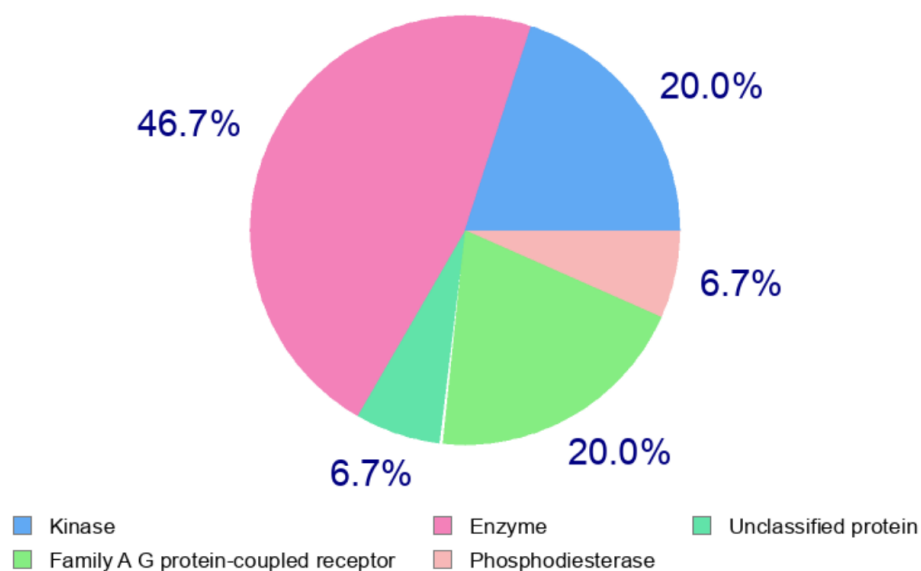


Рис. 2.5 Візуалізація цільових класів у відсотковому співвідношенні для сполуки 3468

Серед усіх вибрано мішені, які можуть чинити вплив на ЦНС, і зокрема брати участь в патогенезі хвороби Альцгеймера: каннабіноїдний рецептор 2, метаботропний глутаматний рецептор 5, рецептор 1 кортикотропін-рилізінг-фактору, рецептор мелатоніну 1В, альфа-5 субодиниця ГАМК-рецепторів, кіназа 1А, що регулює тирозинове фосфорилювання з подвійною специфічністю, метаботропний глутаматний рецептор 1, орексинові рецептори 1 та 2, активатор циклін-залежної кінази 5/CDK5 1, рецептор фактора росту нервів Trk-A, рецептор серотоніну 1b (5-HT1b).

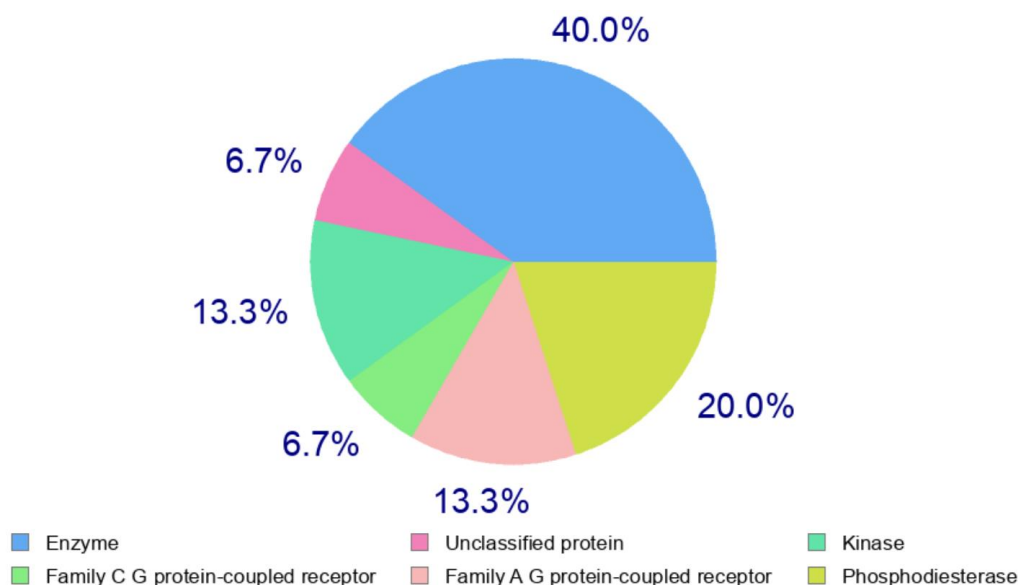


Рис. 2.6 Візуалізація цільових класів у відсотковому співвідношенні для сполуки 3470

Серед усіх вибрано мішені, які можуть чинити вплив на ЦНС, і зокрема брати участь в патогенезі хвороби Альцгеймера: метаботропний глутаматний рецептор 5, рецептор 1 кортикотропін-релізінг-фактору, каннабіноїдний рецептор 2, рецептор фактора росту нервів Trk-A, альфа-5 субодиниця ГАМК-рецепторів, рецептор нейрокініну 1, рецептор серотоніну 1b (5-HT1b), метаботропний глутаматний рецептор 1, моноамінооксидаза А, моноамінооксидаза В, активатор циклін-залежної кінази 5/CDK5 1, кіназа 1A, що регулює тирозинове фосфорилування з подвійною специфічністю.

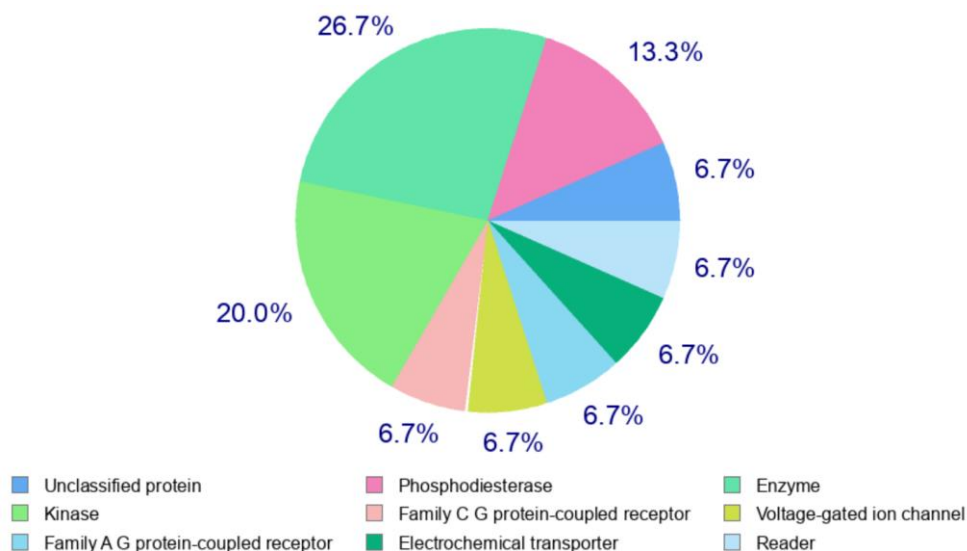


Рис. 2.7 Візуалізація цільових класів у відсотковому співвідношенні для сполуки 3477

Серед усіх вибрано мішені, які можуть чинити вплив на ЦНС, і зокрема брати участь в патогенезі хвороби Альцгеймера: метаботропний глутаматний рецептор 5, рецептор мелатоніну 1A та 1B, каннабіноїдний рецептор 1 та 2, рецептор серотоніну 1b (5-HT1b), рецептор аденозину A1, рецептор серотоніну 2c (5-HT2c), метаботропний глутаматний рецептор 1, орексинові рецептори 1 та 2, альфа-5 субодиниця ГАМК-рецепторів, гамма-секретаза (PSEN2, PSEN1, PSENEN, NCSTN, APH1A), активатор циклін-залежної кінази 5/CDK5 1, рецептор 1 кортикотропін-релізінг-фактору, рецептор серотоніну 6 (5-HT6), рецептор серотоніну 7 (5-HT7).

Висновки до розділу 2.

Проведено аналіз згенерованої бази сполук за параметрами ADMET: радаром біодоступності, за фізико-хімічними показниками, ліпофільністю, розчинністю у воді, фармакокінетичними показниками та параметрами лікоподібності; наступним етапом стало прогнозування можливих біомішеней впливу для вибраних сполук. Для подальших досліджень було обрано один з таргетів, а саме ацетилхолінестераза.

РОЗДІЛ 3

ПРОГНОЗУВАННЯ АФІННОСТІ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЛІГАНДІВ ДО САЙТУ ІНГІБІТОРА АЦЕТИЛХОЛІНЕСТЕРАЗИ

3.1 Ацетилхолінестераза як мішень для агентів, які можна застосувати у лікуванні хвороби Альцгеймера

Незважаючи на численні дослідження в галузі хвороби Альцгеймера патогенез залишається до певної міри незрозумілим. Патогенетичні механізми, що пов'язують ХА з певними супутніми захворюваннями, а саме з цукровим діабетом, ожирінням та дисліпідемією, набувають все більшого значення, головним чином через їх потенційну роль у сприянні розвитку та загостренню ХА [82].

Найбільш важливим напрямком когнітивних порушень має холінергічна гіпотеза, яка постулює, що погіршення когнітивних функцій може бути пов'язане зі зменшенням кількості нейромедіатора ацетилхоліну. Доведено, що ацетилхолінестераза зв'язується з амілоїдним пептидом і відіграє певну роль у формуванні амілоїдних бляшок [83]. Ацетилхолін меншою мірою і повільніше розщеплюється бутирилхолінестеразою, хоча її активність прогресивно зростає у пацієнтів з ХА, тоді як активність АХЕ залишається незмінною або знижується [84].

На сьогоднішній день не відомо жодного методу лікування, який би зупинив прогресування ХА. Інгібітори холінестерази донепезил (DNP), галантамін і ривастигмін, а також антагоніст рецепторів N-метил-D-аспартату (NMDA) мемантин, який регулює активність глутамату, наразі призначаються для лікування легкої та помірної форми ХА. Хоча інгібітори ацетилхолінестерази не здатні зупинити прогресування захворювання, а лише діють як паліатив, тимчасово полегшуючи когнітивні порушення, ці препарати все ж покращують якість життя пацієнтів та осіб, які за ними доглядають [85]. Тому пошук нових та ефективних біологічно активних схожих за

фармакологічною дією, але з меншою кількістю побічних ефектів та з метою розширення багатоцільового профілю залишається актуальним.

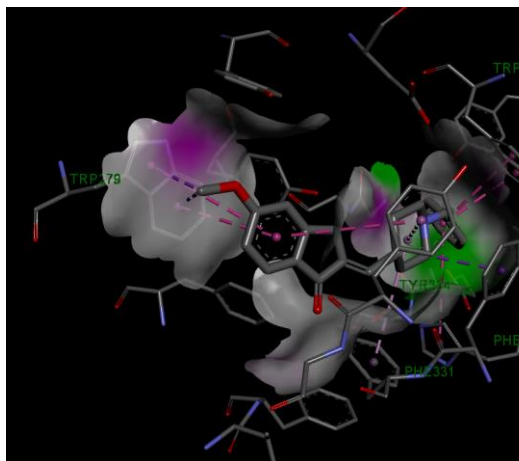
З метою прогнозування ступеня афінності до сайту інгібітора холінестерази та прогнозування фармакологічної дії було використано *in silico* метод – віртуальний молекулярний докінг за допомогою програми AutoDockVina. Кристалографічну структуру гідролази ацетилхолінестерази у конформації з аналогом донепезилу – (2E)-2-[(1-бензил-4-піперидил)метиле́н]-5-метокси-індан-1-ону – виділено з *Tetronarce californica* та описано кристалографічним аналізом у 2018 р. Caliandro R. та співавторами [86]. Конформація зв'язування нативного ліганду в кишені активного центру простягаючись від дна аніонного субсайту, біля триптофану (Trp84) до периферійного аніонного сайту біля триптофану Trp279 (PDB ID 5NAU) та є аналогічним для фіксації Донепезилу (PDB ID 1EVE). Характеристика комплексів розкрила структурну основу для модуляції інгібіторної активності АХЕ, що забезпечує основу для структурно-орієнтованого підходу до розробки більш потужних селективних інгібіторів.

3.2 Молекулярний докінг досліджуваних лігандів до сайту ацетилхолінестерази

Як референс-ліганди для валідації методики використовували два ліганди: нативний (2E)-2-[(1-бензил-4-піперидил)метиле́н]-5-метокси-індан-1-ону та Донепезил.

Валідаційні характеристики повністю відповідають експериментально визначеним даним щодо фіксації лігандів в активному сайті, а значення енергії зв'язування склали -10,2 та -11,0 ккал/моль, відповідно (рис. 3.1, табл. 3.1).

а)



б)

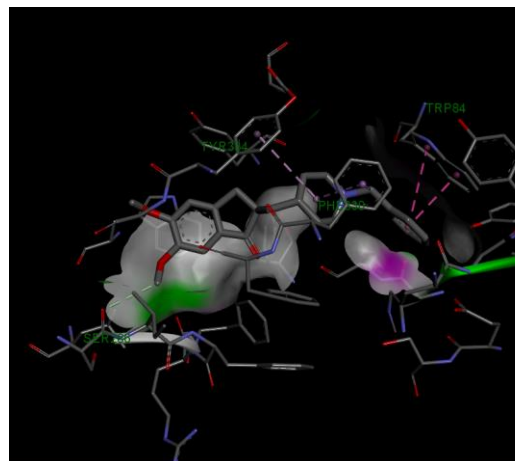


Рис. 3.1 Візуалізація відтворюваності методики докінгу: а) (2Е)-2-[(1-бензил-4-піперидил)метилєн]-5-метокси-індан-1-ону та б) Донєпєзил в активному сайті ацєтилхолінєстерази.

Експериментально визначений активний сайт формують наступні амінокислотні залишки: триптофан (TRP279, TRP84), фєнілаланін (PHE330, PHE331), тирозин (TYR334), гістидин (HIS440). Саме ці пептидні залишки визначєні як магістральні для можливого прояву інгібувальної активності лігандів.

Наступним етапом дослідження було визначєння афінності та амінокислотних взаємодій до активного сайту ацєтилхолінєстерази досліджуваних лігандів 3455, 3456, 3461, 3468, 3470, 3477.

Для усіх досліджуваних лігандів спрогнозовано досить високий рівень афіннєтєту до активного сайту ацєтилхолінєстерази < -9.2 ккал/моль, хоча ці значєння і поступалися значєнню енергії звязування Донєпозилу -11.0 ккал/моль, а також нативному ліганду -10.2 ккал/моль. Три похідні продемонстрували рівень афінності вищий за рівень нативного ліганда 3461, 3468, 3470.

Таблиця 3.1

**Результати молекулярного докінгу похідних 1,3-
діазаспіро[4.5]декан-2,4-діону в активний сайт ацетилхолінестерази**

Сполука	Скорингова функція, ккал/моль	Гідрофобні взаємодії	Водневі зв'язки	Інші взаємодії
Нативний ліганд	-10,2	TRP279(2), PHE330, TRP84(2), TYR334(2) , HIS440, PHE331	—	—
Донепезил	-11,0	PHE33, TRP84(2), PHE330, TYR334	SER286	—
3455	-9,2	TRP84, PHE330	SER122	HIS440, PHE290, PHE331(2)
3456	-9,2	GLY118, GLY119, TRP84, PHE330	SER122, SER200	PHE290, PHE331
3461	-10,8	TRP84(4), PHE330(2), TYR334, HIS440	PHE331	—
3468	-10,6	PHE330, TYR334	ASP72	TYR70, ASP72, SER81
3470	-10,2	PHE330, TYR334	ASP72, TYR121	—
3477	-9,3	GLY118, GLY119, TRP84, PHE330	SER122	HIS440

Для похідної 3455 спрогнозовано утворення гідрофобних зв'язоків між атомом Сульфуру та фенілаланіном (PHE331 (2) та PHE290), а також між Сульфуром і гістидином (HIS440). Гідрофобні зв'язки можуть утворитися з триптофаном (TRP84) та фенілаланіном (PHE330). Карбонільна група пірольного циклу утворює водневий зв'язок з атомом кисню серину (SER122), що проілюстровано на рис. 3.2.

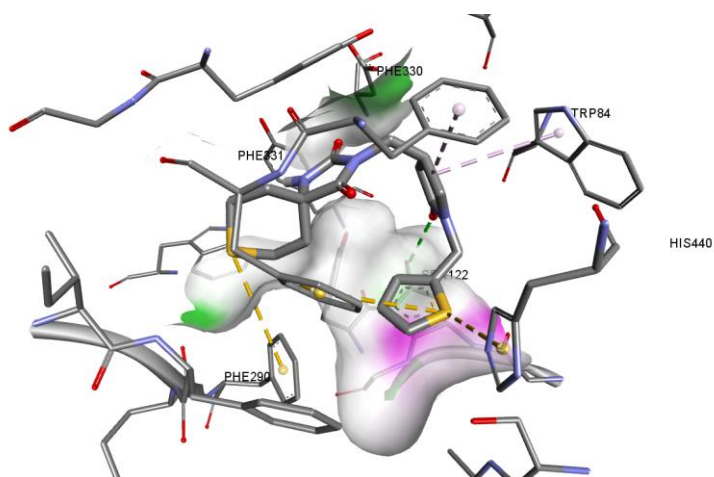


Рис. 3.2 3D візуалізація конформаційного розміщення ліганди 3455 в активному сайті інгібітора ацетилхолінестерази

Похідна 3456 утворює зв'язок між атомом Сульфуру та фенільним радикалом феніланіну (PHE290 та PHE331), а також гідрофобні зв'язки з гліцином (GLY118, GLY119), триптофаном (TRP84) і феніланіном (PHE330). Карбонільна група утворює водневий зв'язок з атомом кисню серину (SER122), що проілюстровано на рис. 3.3.

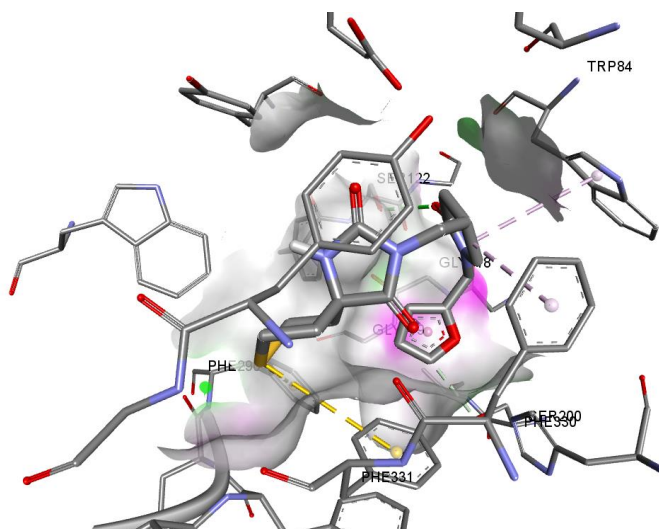


Рис. 3.3 3D візуалізація конформаційного розміщення ліганди 3456 в активному сайті інгібітора ацетилхолінестерази

Для похідної 3461 розраховано найкращий рівень афінності -10.8 ккал/моль. Аналіз амінокислотних взаємодій свідчить, що похідна 3461

утворює гідрофобні зв'язки з триптофаном (TRP84 (4)), фенілаланіном (PHE330 (2)), тирозином (TYR334) та гістидином (HIS440). А також водневі зв'язки з фенілаланіном (PHE331). Усі амінокислоти є експериментально визначеними залишками активного сайту.

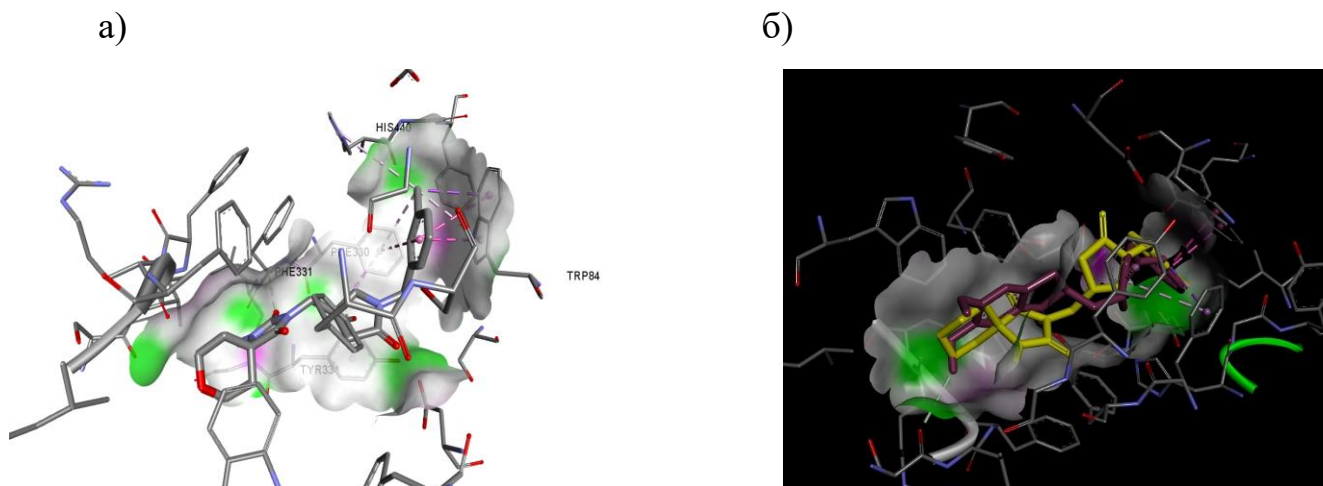


Рис. 3.4 3D візуалізація конформаційного розміщення ліганда 3461 в активному сайті інгібітора ацетилхолінестерази а) взаємодія з амінокислотними залишками та б) сумісна конформація щодо Донепезилу (фіолетова молекула)

При деталізації сумісної конформації похідної 3461 та Донепозилу стає очевидним ідентичне повздовжнє розміщення в активному сайті двох лігандів, що свідчить про високу ймовірність інгібування лігандом 3461 ацетилхолінестерази.

Похідна 3468 здатна утворити галогенний (фтор) зв'язок з аспартатом (ASP72), серином (SER81) та тирозином (TYR70). Крім того, з аспартатом (ASP72) утворюється ще й водневий зв'язок. З фенілаланіном (PHE330) та тирозином (TYR334) з'єднується гідрофобними зв'язками (рис. 3.5).

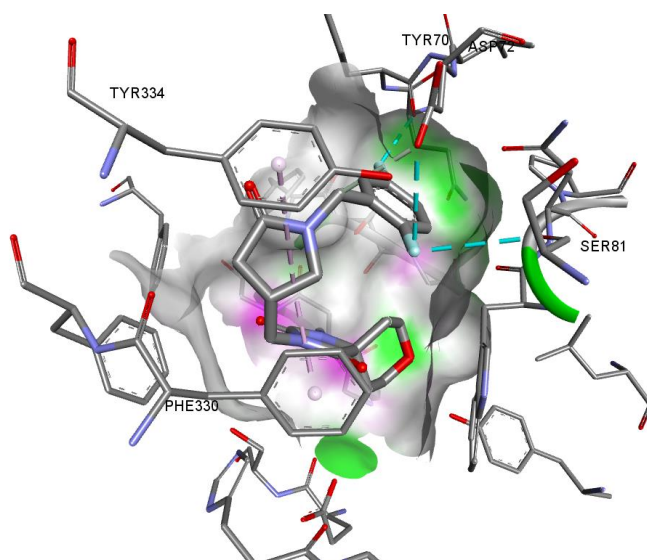


Рис. 3.5 3D візуалізація конформаційного розміщення ліганда 3468 в активному сайті інгібітора ацетилхолінестерази

Похідна 3470 утворює водневі зв'язки з аспартатом (ASP72) та тирозином (TYR121), а також гідрофобні з фенілаланіном (PHE330) та тирозином (TYR334).

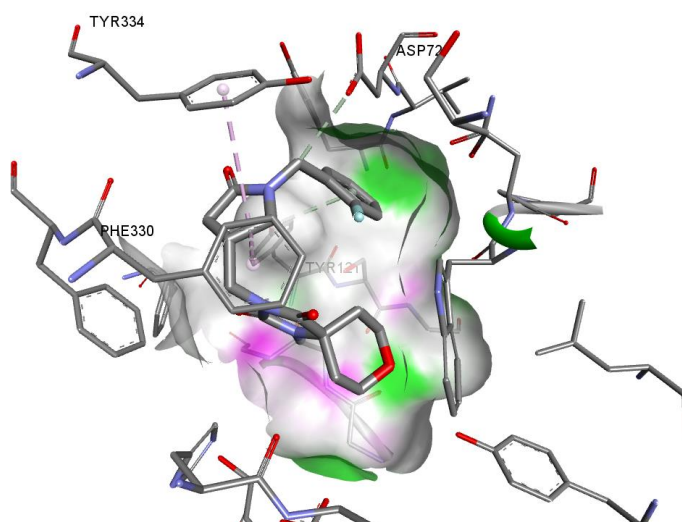


Рис. 3.6 3D візуалізація конформаційного розміщення ліганда 3470 в активному сайті інгібітора ацетилхолінестерази

Похідна 3477 утворює зв'язок між атомом Сульфуру та гістидином (HIS440), водневий зв'язок з серином (SER122) та гідрофобні з гліцином (GLY118, GLY119), триптофаном (TRP84) та фенілаланіном (PHE330).

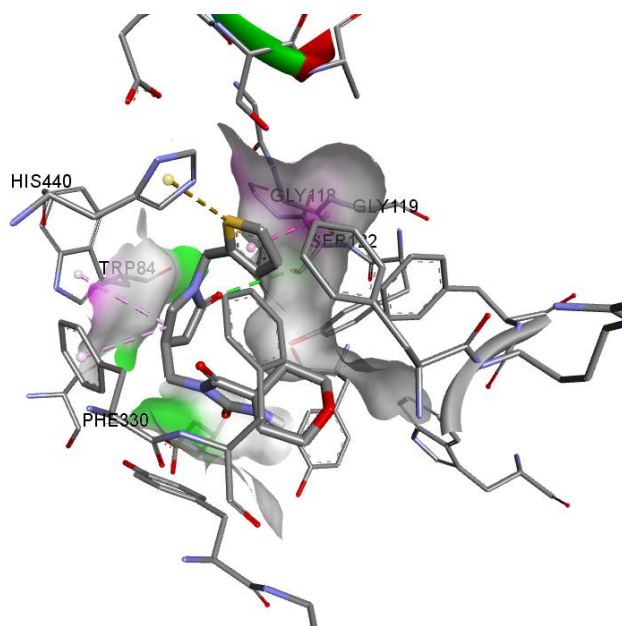


Рис. 3.7 3D візуалізація конформаційного розміщення ліганда 3477 в активному сайті інгібітора ацетилхолінестерази

Отже, за результатами молекулярного докінгу досліджуваних лігандів – похідних 1,3-діазоспіро[4.5]декан-2,4-діону, а саме за показником афінності до сайту інгібітора, конформаційному розміщенню щодо нативного ліганда та взаємозв'язку з амінокислотними залишками активного сайту, вищу вірогідність прояву інгібувальної здатності до ацетилхолінестерази мають 8-оксо- похідні 1,3-діазоспіро[4.5]декан-2,4-діону, а саме три сполуки:

3-[[1-(*m*-толілметил)-5-оксо-піролідин-3-іл]метил]-8-оксо-1,3-діазоспіро[4.5]декан-2,4-діон (**3461**)

3-[[1-(2,5-дифлуорофеніл)метил)-5-оксо-піролідин-3-іл]метил]-8-оксо-1,3-діазоспіро[4.5]декан-2,4-діон (**3468**)

3-[[1-(2-флуорофеніл)метил)-5-оксо-піролідин-3-іл]метил]-8-оксо-1,3-діазоспіро[4.5]декан-2,4-діон (**3470**)

Саме ці три речовини за результатами комплексного *in silico* дослідження обрано для етапу синтезу та подальших *in vitro* та *in vivo* досліджень щодо здатності лікувати хворобу Альцгеймера.

Висновки до розділу 3.

1. Охарактеризовано фермент ацетилхолінестеразу як біомішень для антипаркінсонічних агентів, обрано макромолекулу у Protein Data Bank для *in silico* експерименту.
2. Проведено валідацію процедури молекулярного докінгу шляхом редокінгу нативного ліганду та Донепезилу як референс ліганду.
3. За результатами молекулярного докінгу шести похідних 1,3-діазаспіро[4.5]декан-2,4-діону до активного сайту інгібітора ацетилхолінестерази, визначено три сполуки з найліпшими показниками афінності та параметрами конформаційного розміщення. Найліпші показники спрогнозовано для похідної **3461** – 3-[[1-(*m*-толілметил)-5-оксо-піролідин-3-іл]метил]-8-оксо-1,3-діазоспіро[4.5]декан-2,4-діону.
4. Визначено що 8-оксо-1,3-діазоспіро[4.5]декан-2,4-діону мають ліпші показники інгібувальної здатності до ацетилхолінестерази, ніж їх 8-тіо-аналоги.
5. За результатами комплексного *in silico* дослідження доведено доцільність подальшого синтезу, *in vitro* та *in vivo* досліджень щодо здатності лікувати хворобу Альцгеймера трьох похідних 8-оксо-1,3-діазоспіро[4.5]декан-2,4-діону.

ВИСНОВКИ

1. Проведено аналіз та узагальнено літературні дані щодо патогенезу та фармакотерапії хвороби Альцгеймера.
2. Відібрано згенеровані структури-кандидати для подальшого дослідження як перспективні агенти для лікування хвороби Альцгеймера.
3. Проведено аналіз згенерованої бази сполук за параметрами ADMET: радар-біодоступності за фізико-хімічними показниками, ліпофільність, розчинність у воді, фармакокінетичні показники та параметри лікоподібності; усі шість сполук перейшли на наступний етап.
4. Здійснено віртуальний прогноз таргетованого впливу згенерованих структур програмою SwissTargetPrediction.
5. Відібрано найперспективніші біомішені для *in silico* досліджень.
6. Здійснено процедуру валідації методології докінгу для обраних мішеней за нативним референс-лігандом та Донепезилом.
7. Проведено докінгові дослідження згенерованих похідних 1,3-діазаспіро[4.5]декан-2,4-діону до обрної біомішені (ацетилхолінестерази); за результатами молекулярного докінгу визначено сполуку з найліпшими показниками афінності та параметрами конформаційного розміщення – ліганд 3461.
8. На етап синтезу та подальших *in vitro* та *in vivo* досліджень обрано 3 похідні: 3461, 3468 та 3470.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Alzheimer's disease / V. J. De-Paula et al. *Sub-Cell. Biochem.* 2012. Vol. 65. P. 329–352.
2. Arvanitakis Z., Bennett D. A. What Is Dementia?. *JAMA.* 2019. Vol. 322, № 17. P. 1728.
3. What Is Dementia?. *Alzheimer's Disease and Dementia.* URL: <https://www.alz.org/alzheimers-dementia/what-is-dementia> (Date of access: 11.01.2024)
4. Dementia. *World Health Organization (WHO).* URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia> (Date of access: 11.01.2024).
5. Share of the population with neurodegenerative diseases. *Our World in Data.* URL: <https://ourworldindata.org/grapher/alzheimers-parkinsons-prevalence?time=latest> (date of access: 15.01.2024).
6. Що потрібно знати кожному про хворобу Альцгеймера і чому важлива рання діагностика | НАМН України. *НАМН України | Національна академія медичних наук України.* URL: <https://amnu.gov.ua/shho-potribno-znaty-kozhnomu-pro-hvorobu-alczgejmera-i-chomu-vazhlyva-rannya-diagnosticska/> (дата звернення: 11.01.2024).
7. Поширеність хвороби Альцгеймера в світі та Україні | Блог будинку пристарілих Life-House. *Life-House.* URL: <https://life-house.ua/blog/hvoroba-alcgejmera-statistika/> (дата звернення: 11.01.2024).
8. What Is Alzheimer's Disease? *National Institute on Aging (NIA).* URL: <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-and-dementia/what-alzheimers-disease> (date of access: 15.01.2024)
9. Athar T., Al Balushi K., Khan S. A. Recent advances on drug development and emerging therapeutic agents for Alzheimer's disease. *Mol Biol Rep.* 2021. Vol. 48. № 7. P. 5629–5645.
10. Що таке хвороба Альцгеймера, симптоми, причини, діагностика. *weclinica.ua - Головна.* URL: <https://weclinica.ua/ua/news/bolezni->

- altsgeymera-opisanie-simptomy-prichiny-lechenie/ (дата звернення: 15.01.2024).
11. Polsinelli A. J., Apostolova L. G. Atypical Alzheimer Disease Variants. *Continuum: Lifelong Learning in Neurology*. 2022. Vol. 28, №3. P. 676–701.
 12. Alzheimer's Disease: Treatment Strategies and Their Limitations / E. Passeri et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23, № 22. P. 13954.
 13. Alzheimer's Disease Genetics Fact Sheet. *National Institute on Aging (NIA)*. URL: <https://www.nia.nih.gov/health/genetics-and-family-history/alzheimers-disease-genetics-fact-sheet#three> (date of access: 20.01.2024).
 14. APOE genotype and neuroimaging markers of Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis / Y. Liu et al. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2014. Vol. 86, № 2. P. 127–134.
 15. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy / C.-C. Liu et al. *Nature Reviews Neurology*. 2013. Vol. 9, № 2. P. 106–118.
 16. Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease / J.-C. Lambert et al. *Nature Genetics*. 2013. Vol. 45, № 12. P. 1452–1458.
 17. Alzheimer's Disease in People With Down Syndrome. *National Institute on Aging (NIA)*. URL: <https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-causes-and-risk-factors/alzheimers-disease-people-down-syndrome> (date of access: 20.01.2024).
 18. ALZHEIMER'S ASSOCIATION REPORT. 2023 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*. 2023. Vol. 19, № 4. P. 1598-1695.
 19. Wang Q., Xie C. Microglia activation linking amyloid- β drive tau spatial propagation in Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroscience*. 2022. Vol. 16.
 20. Мікроглія «поїдає» синапси головного мозку. Здоров'я України | Інформація для спеціалістів охорони здоров'я. URL: <https://health->

ua.com/article/36753-mkroglya-poda-sinapsi-golovnog-mozku (дата звернення: 9.02.2024).

21. Михайлівна Н. Л. \$Хвороба Альцгеймера → **【Симптоми, лікування】** . MEDIKOM | Приватна багатoproфільна клініка в Києві. URL: <https://medikom.ua/bolezni-alcgejmery-simptomy-lechenie/> (дата звернення: 9.02.2024).
22. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study of novel tacrine–carbazole hybrids as potential multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease / S. Thirathmatrakul et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014. Vol. 75. P. 21–30.
23. Coumarin linked heterocyclic hybrids: A promising approach to develop multi target drugs for Alzheimer's disease / A. Husain et al. *Journal of Molecular Structure*. 2021. Vol. 1241. P. 130618.
24. Benek O., Korabecny J., Soukup O. A Perspective on Multi-target Drugs for Alzheimer's Disease. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2020. Vol. 41, № 7. P. 434–445.
25. Alzheimer's disease drug development pipeline: 2022 / J. Cummings et al. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*. 2022. Vol. 8, № 1.
26. Cho S., Kim S.-H., Shin D. Recent applications of hydantoin and thiohydantoin in medicinal chemistry. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019. Vol. 164. P. 517–545.
27. Novel derivatives of spirohydantoin induce growth inhibition followed by apoptosis in leukemia cells / C. V. Kavitha et al. *Biochemical Pharmacology*. 2009. Vol. 77, № 3. P. 348–363.
28. Suzen S., Buyukbingol E. Anti-cancer activity studies of indolalithiohydantoin (PIT) on certain cancer cell lines. *Il Farmaco*. 2000. Vol. 55, № 4. P. 246–248.

29. 5-Benzylidene-hydantoins as new EGFR inhibitors with antiproliferative activity / C. Carmi et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2006. Vol. 16, № 15. P. 4021–4025.
30. Anti-tumor and anti-angiogenic activity of novel hydantoin derivatives: Inhibition of VEGF secretion in liver metastatic osteosarcoma cells / Basappa et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2009. Vol. 17, № 14. P. 4928–4934.
31. Structure–Activity Relationship for Thiohydantoin Androgen Receptor Antagonists for Castration-Resistant Prostate Cancer (CRPC) / M. E. Jung et al. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2010. Vol. 53, № 7. P. 2779–2796.
32. Identification of MK-5710 ((8aS)-8a-methyl-1,3-dioxo-2-[(1S,2R)-2-phenylcyclopropyl]-N-(1-phenyl-1H-pyrazol-5-yl)hexahydroimidazo[1,5-a]pyrazine-7(1H)-carboxamide), a potent smoothened antagonist for use in Hedgehog pathway dependent malignancies, Part 1 / S. Malancona et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2011. Vol. 21, № 15. P. 4422–4428.
33. Synthesis of amidine and amide derivatives and their evaluation for anti-inflammatory and analgesic activities / S. M. Sondhi et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2009. Vol. 44, № 3. P. 1010–1015.
34. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of indole–imidazolidine derivatives / A. S. H. da Silva Guerra et al. *International Immunopharmacology*. 2011. Vol. 11, № 11. P. 1816–1822.
35. Synthesis of hydantoin analogues of (2S,3R,4S)-4-hydroxyisoleucine with insulinotropic properties / D. Sergent et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2008. Vol. 18, № 15. P. 4332–4335.
36. Amine–alkyl derivatives of hydantoin: New tool to combat resistant bacteria / J. Handzlik et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2011. Vol. 46, № 12. P. 5807–5816.
37. Antibacterial Activity of 5-Dialkylaminomethylhydantoins and Related Compounds / F. Fujisaki et al. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 2010. Vol. 58, № 8. P. 1123–1126.

38. The discovery of long-acting saligenin β 2 adrenergic receptor agonists incorporating hydantoin or uracil rings / P. A. Procopiou et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2011. Vol. 19, № 14. P. 4192–4201.
39. Pharmacophore models based studies on the affinity and selectivity toward 5-HT1A with reference to α 1-adrenergic receptors among arylpiperazine derivatives of phenytoin / J. Handzlik et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2011. Vol. 19, № 3. P. 1349–1360.
40. Synthesis, α 1-adrenoceptor antagonist activity, and SAR study of novel arylpiperazine derivatives of phenytoin / J. Handzlik et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2008. Vol. 16, № 11. P. 5982–5998.
41. Synthesis and potential anticonvulsant activity of new N-3-substituted 5,5-cyclopropanespirohydantoins / Q. Zhu et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2009. Vol. 44, № 1. P. 296–302.
42. Synthesis and Anticonvulsant Activity of New N-Mannich Bases Derived from 5-Cyclopropyl-5-phenyl-hydantoins / H. Byrtus et al. *Archiv der Pharmazie*. 2010. Vol. 344, № 4. P. 231–241.
43. Discovery of an Orally Active Non-Peptide Fibrinogen Receptor Antagonist Based on the Hydantoin Scaffold / H. U. Stilz et al. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2001. Vol. 44, № 8. P. 1158–1176.
44. Design, synthesis, and SAR of heterocycle-containing antagonists of the human CCR5 receptor for the treatment of HIV-1 infection / D. Kim et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2001. Vol. 11, № 24. P. 3099–3102.
45. Design, synthesis, and SAR of heterocycle-containing antagonists of the human CCR5 receptor for the treatment of HIV-1 infection / D. Kim et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2001. Vol. 11, № 24. P. 3103–3106.
46. Inhibitors of HCV NS5A: From Iminothiazolidinones to Symmetrical Stilbenes / J. L. Romine et al. *ACS Medicinal Chemistry Letters*. 2011. Vol. 2, № 3. P. 224–229.

47. Binding Site Elucidation of Hydantoin-Based Antagonists of LFA-1 Using Multidisciplinary Technologies: Evidence for the Allosteric Inhibition of a Protein–Protein Interaction / K. Last-Barney et al. *Journal of the American Chemical Society*. 2001. Vol. 123, № 24. P. 5643–5650.
48. Recent Advances in the Synthesis of Hydantoins: The State of the Art of a Valuable Scaffold / L. Konnert et al. *Chemical Reviews*. 2017. Vol. 117, № 23. P. 13757–13809.
49. M. Meusel, M. Gütschow, Recent Developments in Hydantoin Chemistry. A Review. *Organic Preparations and Procedures International*. 2004. Vol. 36, № 5. P. 391–443.
50. Synthesis, Anticancer Evaluation and Docking Study of 3-Benzoyloxyhydantoin Derivatives / J. Liu et al. *Medicinal Chemistry*. 2016. Vol. 12, № 1. P. 37–47.
51. H. Biltz, Über die Konstitution der Einwirkungsprodukte von substituierten Harnstoffen auf Benzil und über einige neue Methoden zur Darstellung der 5,5-Diphenyl-hydantoine. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. 1908. Vol. 41, № 6. P. 1379–1393.
52. Phase-Transfer Catalysis by Poly (Ethyleneglycol) 600 in the Biltz Synthesis of Phenytoin / J. H. Poupaert et al. *Bulletin des Sociétés Chimiques Belges*. 2010. Vol. 93, № 6. P. 493–496.
53. Microwave Assisted Synthesis of 1,5-Disubstituted Hydantoins and Thiohydantoins in Solvent-Free Conditions / S. Paul et al. *Synthesis*. 2004. Vol. 2002, № 1. P. 75–78.
54. Facile synthesis of hydantoins and thiohydantoins in aqueous solution / G. Baccolini et al. *Tetrahedron Letters*. 2011. Vol. 52, № 14. P. 1713–1717.
55. Habib M. M. W., Abdelfattah M. A. O., Abadi A. H. Design and Synthesis of Novel Phenylpiperazine Derivatives as Potential Anticonvulsant Agents. *Archiv der Pharmazie*. 2015. Vol. 348, № 12. P. 868–874.
56. Synthesis and anticonvulsant activity of new N-Mannich bases derived from 5-cyclopropyl-5-phenyl- and 5-cyclopropyl-5-(4-

- chlorophenyl)imidazolidine-2,4-diones / H. Byrtus et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2011. Vol. 19, № 20. P. 6149–6156.
57. Design, synthesis, anticonvulsant, and antiarrhythmic properties of novel N-Mannich base and amide derivatives of β -tetralinohydantoin / A. Czopek et al. *Pharmacological Reports*. 2016. Vol. 68, № 5. P. 886–893.
 58. SAR-studies on the importance of aromatic ring topologies in search for selective 5-HT₇ receptor ligands among phenylpiperazine hydantoin derivatives / J. Handzlik et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014. Vol. 78. P. 324–339.
 59. Rational design in search for 5-phenylhydantoin selective 5-HT₇R antagonists. Molecular modeling, synthesis and biological evaluation / K. Kucwaj-Brysz et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2016. Vol. 112. P. 258–269.
 60. Jia L., Gao H. Machine Learning for Prediction. Artificial Intelligence in Drug Design. 2021. Vol. 2390. P. 447–460
 61. Open Babel: An open chemical toolbox / N. M. O'Boyle et al. *Journal of Cheminformatics*. 2011. Vol. 3, № 1.
 62. Ertl P., Rohde B., Selzer P. Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-Based Contributions and Its Application to the Prediction of Drug Transport Properties. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2000. Vol. 43, № 20. P. 3714–3717
 63. Lovering F., Bikker J., Humblet C. Escape from Flatland: Increasing Saturation as an Approach to Improving Clinical Success. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2009. Vol. 52, № 21. P. 6752–6756.
 64. Simple Method of Calculating Octanol/Water Partition Coefficient. / I. MORIGUCHI et al. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*. 1992. Vol. 40, № 1. P. 127–130.
 65. Computation of Octanol–Water Partition Coefficients by Guiding an Additive Model with Knowledge / T. Cheng et al. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2007. Vol. 47, № 6. P. 2140–2148.

66. Daina A., Michielin O., Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7, № 1.
67. Montanari F., Ecker G. F. Prediction of drug–ABC-transporter interaction – Recent advances and future challenges. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2015. Vol. 86. P. 17–26.
68. The role of ABC transporters in drug absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME–Tox) / G. Szakács et al. *Drug Discovery Today*. 2008. Vol. 13, № 9-10. P. 379–393.
69. Testa B., Krämer S. The Biochemistry of Drug Metabolism - An Introduction. *Chemistry & Biodiversity*. 2008. Vol. 5, № 11. P. 2171–2336
70. Wolf C. R. Science, medicine, and the future: Pharmacogenetics. *BMJ*. 2000. Vol. 320, № 7240. P. 987–990.
71. Di L. The role of drug metabolizing enzymes in clearance. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 2014. Vol. 10, № 3. P. 379–393.
72. Potts R. O. Guy R. H. Predicting Skin Permeability. *Pharmaceutical Research*. 1992. Vol. 9, P. 663–669.
73. Kola I., Landis J. Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates?. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2004. Vol. 3, № 8. P. 711–716.
74. Large-scale prediction and testing of drug activity on side-effect targets / E. Lounkine et al. *Nature*. 2012. Vol. 486, № 7403. P. 361–367.
75. Ashburn T. T., Thor K. B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2004. Vol. 3, № 8. P. 673–683
76. Predicting new molecular targets for known drugs / M. J. Keiser et al. *Nature*. 2009. Vol. 462, № 7270. P. 175–181.
77. Novac N. Challenges and opportunities of drug repositioning, *Trends Pharmacol. Sci.*, 2013, Vol. 34. P. 267-272.
78. Tools for in silico target fishing / A. Cereto-Massagué et al. *Methods*. 2015. Vol. 71. P. 98–103.

79. Similarity-based machine learning methods for predicting drug–target interactions: a brief review / H. Ding et al. *Briefings in Bioinformatics*. 2013. Vol. 15, № 5. P. 734–747.
80. Willett P., Winterman V. A Comparison of Some Measures for the Determination of Inter-Molecular Structural Similarity Measures of Inter-Molecular Structural Similarity. *Quantitative Structure-Activity Relationships*. 1986. Vol. 5, № 1. P. 18–25.
81. Johnson M., Lajiness M., Maggiora G. Molecular similarity: a basis for designing drug screening programs. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1989. Vol. 291. P. 167–171.
82. The pathophysiology of defective proteostasis in the hypothalamus – from obesity to ageing / C. Cavadas et al. *Nature Reviews Endocrinology*. 2016. Vol. 12, № 12. P. 723–733.
83. A Structural Motif of Acetylcholinesterase That Promotes Amyloid β -Peptide Fibril Formation† / G. V. De Ferrari et al. *Biochemistry*. 2001. Vol. 40, № 35. P. 10447–10457.
84. Selective butyrylcholinesterase inhibition elevates brain acetylcholine, augments learning and lowers Alzheimer -amyloid peptide in rodent / N. H. Greig et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2005. Vol. 102, № 47. P. 17213–17218.
85. Multitargeted drugs discovery: Balancing anti-amyloid and anticholinesterase capacity in a single chemical entity / M. L. Bolognesi et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2011. Vol. 21, № 9. P. 2655–2658.
86. Kinetic and structural studies on the interactions of *Torpedo californica* acetylcholinesterase with two donepezil-like rigid analogues / R. Caliandro et al. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2018. Vol. 33, № 1. P. 794–803.

ДОДАТКИ

Додаток А.1

Секція 1

«СИНТЕЗ ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН»

**SYNTHESIS OF
3-(2-METHOXYETHYL)-2-(ALKYLTHIO)QUINAZOLIN-4(3H)-ONES AS POSSIBLE
ANTIBIOTICS WITH INNOVATIVE MECHANISM OF ACTION**

Idoumghar W., Vlasov S.V.

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

2024pharmchem.vlasov@gmail.com

Introduction. Quinazoline derivatives have proven themselves as a privileged scaffold for the creation of biologically active substances. Among them, compounds with an anticancer effect, antimicrobial agents were found, a large number of representatives of these heterocyclic systems can affect the work of the central nervous system and have useful pharmacological properties. Obviously, it is important to increase the bioavailability of these compounds, which can be achieved by introducing functional groups that improve the ADME parameters of the molecules. It is clear that the 2-methoxyethyl group is one that has good parameters from the point of view of medicinal chemistry, and therefore its modification of quinazoline can be promising for the design of new drugs.

Aim. Development and implementation of methods of organic synthesis in order to effectively obtain a number of 3-(2-methoxyethyl)-2-(alkylthio)quinazolin-4(3H)-one derivatives, which may be interesting due to the implementation of innovative mechanisms of antimicrobial action.

Materials and methods. Methods of organic synthesis and instrumental methods of confirmation of the structure (¹H NMR, etc.), the method of molecular docking.

Results and discussion. The synthesis of 3-(2-methoxyethyl)-2-(alkylthio)quinazolin-4(3H)-one derivatives was carried out on the basis of methyl 2-isothiocyanatobenzoate and the cyclization of 2-methoxyethanamine, which was stimulated by adding triethylamine to the reaction medium. Subsequently, thione was alkylated with amides of chloroacetic acid, phenacyl bromide, and ethyl chloroacetate. As a result, various target products of alkylation by the sulfur atom were obtained in the form of white crystalline substances.

Conclusions. Methods have been developed that allowed obtaining a number of 3-(2-methoxyethyl)-2-(alkylthio)quinazolin-4(3H)-one derivatives, which may be interesting due to the implementation of innovative mechanisms of antimicrobial activity.

**DETERMINATION OF ADMET PARAMETERS
OF NEW 8-THIA/OXA-1,3-DIAZASPIRO[4.5]DECAN-2,4-DIONE DERIVATIVES
AS AGENTS FOR THE TREATMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE**

Lagunets T.¹, Saifudinova R.P.²

Scientific supervisor: prof. Severina H.I.¹

¹National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

²Cherkasy Medical Academy, Cherkasy, Ukraine

lagunchika@gmail.com

Introduction. Currently, more than 55 million people worldwide suffer from dementia. Almost 10 million new cases are registered every year. Dementia is the result of a variety of diseases and injuries that affect the brain. Alzheimer's disease is the most common form of dementia and can cause 60-70% of cases. Alzheimer's disease is one of the top ten diseases for which patients need palliative care. Although the overall mortality rate from nervous system dysfunction in Ukraine is

decreasing, the mortality rate from Alzheimer's disease is showing an upward trend. Ukraine ranks 136th (between Botswana and Cameroon) in terms of the number of deaths from Alzheimer's disease. According to current research, the etiology of AD is multifactorial genetic and environmental risk factors. Alzheimer's disease has a complex multifactorial pathophysiology that leads to a severe course of the disease. The pathogenesis of AD is associated with several complex pathways, including cholinergic neurotransmission deficits, impaired beta-amyloid protein metabolism, tau protein deposition and phosphorylation, and the involvement of inflammatory and oxidative pathways. The currently approved drugs act on a single target (one drug – one target; ODOT), but recently, attention has been paid to multiple therapeutic strategies aimed at designing and developing drugs that can affect more than one target. Based on the hybrid-pharmacophore concept, we have designed new 8-thia/oxa-1,3-diazaspiro[4.5]decan-2,4-dione derivatives as possible agents for the treatment of Alzheimer's disease with anticholinesterase effect and antagonism to NMDA receptors.

Aim. Calculation of ADMET parameters for the generated structures in the series of derivatives of 8-thia/oxa-1,3-diazaspiro[4.5]decan-2,4-dione as potential biologically active substances.

Materials and methods. The program BIOVIA Draw 2021 was used for compound construction. SwissADME Webtool was applied to calculate ADMET parameters.

Results and discussion. ADMET (absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity) describes the pharmacokinetics and pharmacodynamics of a biologically active compound. The ADMET profile can affect its efficacy and safety. To substantiate the feasibility of further synthesis, in vitro and in vivo study of 8-thia/oxa-1,3-diazaspiro[4.5]decan-2,4-dione derivatives, ADMET parameters were determined as a necessary step in rational drug design. For drug-likeness evaluation, the biopharmaceutical radar was used, which assessed six physicochemical properties: lipophilicity, molecular size, polarity, solubility, flexibility, and saturation. According to the results obtained, all the tested compounds did not fall outside the colour zone of the bioavailability radar. The lipophilicity parameter was calculated by 5 Log Po/w methods (iLOGP, XLOGP3, WLOGP, MLOGP, SILICOS-IT) and its optimal range for substances that should act on the CNS was determined. All compounds were also investigated for their water solubility (as a parameter of bioavailability), as well as their pharmacokinetic parameters – prediction of passive absorption in the human gastrointestinal tract, penetration through the blood-brain barrier, ability to be a substrate for P-glycoprotein, and ability to undergo biotransformation involving the cytochrome P450 system. Lipinski, Ghose, Veber, Egan, and Muegge filters were used to evaluate drug-likeness. According to the Brenk method, 1 unfavorable characteristic was predicted for all compounds - the presence of a hydantoin fragment, which can increase the toxicity of substances.

Conclusions. The calculated parameters of absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity allowed us to identify the ten most promising substances for further study of affinity for acetylcholinesterase and NMDA glutamate receptors, organic synthesis and in vitro and in vivo studies as potential biologically active substances for the treatment of Alzheimer's disease.



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ДИПЛОМ II СТУПЕНЯ

нагороджується

Лагунець Тетяна

у секційному засіданні студентського наукового товариства кафедри
фармацевтичної хімії

XXX Міжнародна науково-практична
конференція молодих вчених та студентів
**"Актуальні питання створення нових
лікарських засобів"**

В.о. ректора
Національного фармацевтичного
університету



Алла КОТВИЦЬКА

17-19 квітня 2024 р.
м. Харків



Determination of the Prospects of New 8-thia/oxa-1,3-diazaspiro[4.5]decane-2,4-dione Derivatives as Acetylcholinesterase Inhibitors

R. Saifudinova^{1,2*}, T. Lagunets, H. Severina¹, V. Georgiyants¹

¹National University of Pharmacy, 53 Pushkinska St., 61002 Kharkiv, Ukraine; ²Cherkasy Medical Academy, 215 Khreshchatyk St., 18000 Cherkasy, Ukraine

*Corresponding author e-mail: rita0587@ukr.net

Background: The spectrum of cognitive impairment is very wide and ranges from normal cognitive decline with age to diseases of the central nervous system, including Alzheimer's disease, Parkinson's disease and others [1]. The most important trajectory of cognitive impairment is the cholinergic hypothesis, which postulates that cognitive deterioration is associated with a decrease in the amount of the neurotransmitter acetylcholine [2]. Today the cholinesterase inhibitors (AChEIs) donepezil, galantamine and rivastigmine are prescribed for the treatment of cognitive disorders, in particular, Alzheimer's disease [3]. The search for new AChEIs benefits from well-established knowledge of the molecular interactions of selective AChEIs, such as donepezil and related dual binding site inhibitors [4]. The high level of diseases with neurological deficits requires the search for effective treatment strategies and the development of new drugs to correct these conditions. The aim of the study was to predict the acetylcholinesterase inhibitory activity of new 1-aryl/heteryl-substituted derivatives of 3-(5-oxopyrrolidin-3-yl)methyl-8-oxa-1,3-diazaspiro[4.5]decane-2,4-dione.

Methods: The following programs were used BioviaDraw 2017R2, Discovery studio Visualizer 2021, VMD1.9.3, AutoDock Tool and Autodock Vina. Crystallographic data for AChE (PDB ID 5NAU) were obtained from the Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>).

Results: Based on the hydride-pharmacophore concept, 3-aryl/heteryl-substituted derivatives of (5-oxopyrrolidin-3-yl)methyl-8-thia/oxa-1,3-diazaspiro[4.5]decane-2,4-dione were designed as possible agents for the correction of cognitive impairment. To evaluate the prospects of studying experimental ligands for acetylcholinesterase inhibitory activity, molecular docking into the active site of inhibitor of the AChE isolated from *Tetronarce californica* was performed. Donepezil was used as a reference ligand, and the docking methodology was validated using the native ligand (2E)-2-[(1-benzyl-4-piperidyl)methylene]-5-methoxy-indan-1-one as a promising simplified Donepezil analogue. According to the results obtained high affinity was predicted for the studied ligands: the binding energy ranged from -9.2 to -10.8 kcal/mol, compared to 11.0 kcal/mol for Donepezil.

Conclusions: The docking studies for the readily synthetically available 3-aryl/heteryl substituted derivatives (5-oxopyrrolidin-3-yl)methyl-8-thia/oxa-1,3-diazaspiro[4.5]decane-2,4-dione showed the expediency of their study as the novel class of potent AChEIs. The 7 designed compounds with the lowest binding energy values and fixation in the active site by amino acid residues of the active site (Tyr121, Tyr334, Trp84, Trp279) were selected for further in vitro and in vivo studies.

Funding: The research was funded by the Ministry of Health Care of Ukraine at the expense of the State Budget on the topic "Research of original substances for the correction of neurological deficits symptoms, prediction and assessment of factors affecting the mechanisms of action", 2023-2025; №: 0123U101751.

References

1. Jongsiriyanyong S, Limpawattana P. Mild Cognitive Impairment in Clinical Practice: A Review Article. *Am J Alzheimers Dis Other Dement*. 2018; 33(8): 500-507. doi:10.1177/1533317518791401
2. Terry AV, Buccafusco J. The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 306: 821-7.
3. Callandro R, Pesaresi A, Cariatì L, Procopio A, Oliverio M, Lamba D. Kinetic and structural studies on the interactions of Torpedo californica acetylcholinesterase with two donepezil-like rigid analogues. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2018; 33(1): 794-803.
4. Catto M, Pisani L, de la Mora E, et al. Chiral Separation, X-ray Structure, and Biological Evaluation of a Potent and Reversible Dual Binding Site AChE Inhibitor. *ACS Med Chem Lett*. 2020;11(5):869-876.