

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
факультет медико-фармацевтичних технологій
кафедра фармацевтичної хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: **«ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ АДМЕТ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ
АКТИВНОСТІ ПОХІДНОГО [1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-С]ХІНАЗОЛІНУ»**

Виконав: здобувачка вищої освіти групи 22Фм(2,6з)05

спеціальності: 226 Фармація, промислова фармація
освітньої програми Фармація

Маргарита КУЛЬТЕНКО

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

Ганна СЕВЕРІНА

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

Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ

АНОТАЦІЯ

Робота присвячена дослідженню молекулярних механізмів протизапальної дії нової похідної 4-(2-(етоксикарбоніл)-5,6-дигідро-[1,2,4]триазоло[1,5-с]хіназолін-5-іл)бензойної кислоти (SI32E). Актуальність роботи обумовлена необхідністю створення більш безпечних нестероїдних протизапальних препаратів із мінімізованими побічними ефектами. У рамках роботи були розраховані параметри лікоподібності, прогнозована пероральна біодоступність, токсичність, а також проведені *in silico* експерименти з молекулярного докінгу для визначення взаємодії з біологічними мішенями, такими як циклооксигеназа-2 та циклооксигеназа-1 щодо референтних препаратів – диклофенаку та целекоксибу.

Робота складається з 42 сторінок, включає 1 таблицю, 1 схему та 25 рисунків, 76 джерел використаної літератури.

Ключові слова: триазол, хіназолін, молекулярний докінг, протизапальна дія

ANNOTATION

This work is devoted to the study of the molecular mechanisms of anti-inflammatory action of a new derivative 4-(2-(ethoxycarbonyl)-5,6-dihydro-[1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazolin-5-yl)benzoic acid (SI32E). The relevance of the work is due to the need to create safer non-steroidal anti-inflammatory drugs with minimized side effects. As part of the work, we calculated the parameters of drug-like properties, predicted oral bioavailability, toxicity, and performed *in silico* molecular docking experiments to determine the interaction with biological targets such as cyclooxygenase-2 (COX-2) and cyclooxygenase-1 (COX-1) in relation to the reference drugs - diclofenac and celecoxib.

The work consists of 42 pages, includes 1 table, 1 diagram and 25 figures, 76 references.

Keywords: triazole, quinazoline, molecular docking, anti-inflammatory effect

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень	5
Вступ	6
РОЗДІЛ 1 ПОХІДНІ ТРІАЗОЛОХІНАЗОЛІНУ: СИНТЕЗ, РЕАКЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ, ПЕРСПЕКТИВНІСТЬ ЯК КЛАСУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН	10
1.1 Огляд перспективності конденсації хіназолінів з триазолами як біологічно активних речовин	11
1.2 Можливі напрямки синтезу аналогів триазолохіназоліну	14
1.3 Опис реакційної здатності триазолохіназолінів	16
1.4 Характеристика біологічної активності триазолохіназолінів	17
1.4.1 Антагонізм до аденозинових рецепторів похідних триазолохіназоліну	17
1.4.2 Антигістамінна активність похідних триазолохіназоліну	19
1.4.3 Антимікробна активність похідних триазолохіназоліну	19
1.4.5 Протиракова активність похідних триазолохіназоліну	21
1.4.6 Протисудомна активність похідних триазолохіназоліну	21
1.4.7 Антигіпертензивна активність похідних триазолохіназоліну	22
1.4.8 Протизапальна активність похідних триазолохіназоліну	23
Висновок до розділу 1	23

РОЗДІЛ 2	МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ 4-(2-(ЕТОКСИКАРБОНІЛ)-5,6-ДИГІДРО-[1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-с]ХІНАЗОЛІН-5-ІЛ)БЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ	25
2.1	Методика одержання 4-(2-(етоксикарбоніл)-5,6-дигідро-[1,2,4]триазоло[1,5-с]хіназолін-5-іл)бензойної кислоти	25
2.2	Обговорення результатів протизапальної активності SI32E	26
2.3	Дослідження молекулярного докінгу	28
РОЗДІЛ 3	ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ЛІКОПОДІБНОСТІ ТА ТОКСИЧНОСТІ 4-(2-(ЕТОКСИКАРБОНІЛ)-5,6-ДИГІДРО-[1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-с]ХІНАЗОЛІН-5-ІЛ)БЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ	30
3.1	Оцінка параметрів абсорбції, розподілу, метаболізму, виведення досліджуваної сполуки	30
3.2	Прогнозування параметру токсичності похідної SI32E	32
РОЗДІЛ 4	ВИВЧЕННЯ МЕХАНІЗМУ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНОЇ 4-(2-(ЕТОКСИКАРБОНІЛ)-5,6-ДИГІДРО-[1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-с]ХІНАЗОЛІН-5-ІЛ)БЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ	35
4.1	Обґрунтування вибору біотаргетів для дослідження	35
4.2	Молекулярний докінг у активний сайт циклооксигенази-1	36
4.3	Молекулярний докінг у активний сайт циклооксигенази-2	39
ВИСНОВКИ		42
СПИСОК ВИКОРСТАНИХ ДЖЕРЕЛ		43
ДОДАТКИ		52

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР – біологічно активна речовина

ЦНС – центральна нервова система

ЯМР – ядерний магнітний резонанс

ADME – абсорбція, розподіл, метаболізм і виведення

COX-1 – циклооксигеназа-1

COX-2 – циклооксигеназа-2

in silico – методи дослідження із застосуванням математичних методів

in vivo – методи дослідження в живому організмі

RMSD – середньоквадратичне відхилення

ВСТУП

Актуальність теми. Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗЗ) є одними з найбільш широко використовуваних ліків для лікування болю, лихоманки, запалення тощо. Актуальність пошуку нових НПЗЗ серед похідних триазолохіназоліну пояснюється різноманітними факторами. Більшість наявних НПЗЗ мають побічні ефекти, особливо при тривалому застосуванні. До найпоширеніших належать гастроінтестинальні ускладнення, порушення роботи серцево-судинної системи та нефротоксичність. Розробка нових сполук із покращеними профілями безпеки є важливим завданням сучасної фармакології. Дуже актуальними на тепер є застосовування таких підходів як молекулярна гібридизація, біоізостерична заміна, розробка «проліків», «двійників».

Триазолохіназоліни мають широкий спектр біологічної активності завдяки своїй хімічній структурі, яка дозволяє вносити різноманітні модифікації для оптимізації протизапальної дії та інших видів фармакологічної активності, а також зменшення токсичності. Похідні триазолохіназоліну можуть виявляти антимікробну, антигіпертензивну, антиконвульсантну, антиоксидантну, протипухлинну та інші види активності, що відкриває можливості для створення багатофункціональних препаратів. Відомо, що похідні триазолохіназоліну можуть впливати на різні запальні механізми, включаючи інгібування циклооксигеназ (COX-1 і COX-2), пригнічення синтезу простагландинів, блокування прозапальних цитокінів та вплив на інші шляхи, що регулюють запальний процес. Доведено, що селективні інгібітори COX-2 мають менший ризик розвитку побічних ефектів порівняно з неселективними НПЗЗ. Розробка похідних триазолохіназоліну як потенційних селективних інгібіторів COX-2 є перспективною для створення більш безпечних ліків. Використання сучасних методів комп'ютерного моделювання, молекулярного докінгу та високопродуктивного скринінгу значно підвищує ефективність пошуку нових активних сполук серед похідних триазолохіназоліну. Таким чином, пошук нових НПЗЗ серед похідних

триазолохіназоліну є важливим напрямом, який спрямований на покращення терапії запальних захворювань, зменшення побічних ефектів та розширення спектра дії лікарських засобів.

Метою дослідження є визначення параметрів ADMET та молекулярних механізмів протизапальної дії нової похідної 4-(2-(етоксикарбоніл)-5,6-дигідро-[1,2,4]триазоло[1,5-с]хіназолін-5-іл)бензойної кислоти.

Для досягнення поставленої мети важливо було вирішити наступні завдання дослідження:

- провести аналіз літературних даних щодо фармакологічної активності похідних триазолохіназолінів, охарактеризовані основні напрямки формування триазолохіназолінового кільця та можливість його функціоналізації, означити перспективність пошуку БАР в ряду його похідних;
- розрахувати параметри лікоподібності для 4-(2-(етоксикарбоніл)-5,6-дигідро-[1,2,4]триазоло[1,5-с]хіназолін-5-іл)бензойної кислоти (SI32E) та спрогнозовано її пероральну біодоступність.
- розрахувати токсичність сполуки та визначити її придатність для подальших поглиблених *in vivo* досліджень токсичності;
- визначити терапевтично значущі біологічні мішені для *in silico* досліджень;
- валідувати методологічні характеристики процедури стикування щодо референтних нативних лігандів;
- провести процедуру молекулярного докінгу та за результатами розрахунку афінності та аналізу конформаційного розміщення в активних сайтах відносно нативних лігандів визначити молекулярні механізми реалізації протизапальної активності сполуки SI32E;
- сформулювати висновки щодо можливих молекулярних механізмів реалізації протизапальної дії сполуки SI32E, зіставивши дані з результатами *in vivo* експерименту.

Об'єкт дослідження – розрахунок параметрів лікоподібності та молекулярний докінг похідної триазолопіримідину

Предмет дослідження – похідна триазолохіназоліну, механізми реалізації протизапальної дії.

Методи дослідження. Для дослідження взаємодії похідної триазолохіназоліну з молекулярними мішенями були проведені віртуальні експерименти із застосуванням наступних програм: Biovia Draw 2017 – використовувалась для створення та візуалізації молекулярних структур; Biovia Discovery Studio 2021 – застосовувалась для проведення докінг-аналізу та оцінки взаємодії лігандів із білковими мішенями; AutoDock Vina та AutoDock Tools – забезпечували автоматичний молекулярний докінг і розрахунок енергетичних параметрів; додатково виконували розрахунок параметрів ADME – онлайн ресурс – SwissADME, для прогнозу токсичності – програма ProTox.

Практичне значення отриманих результатів. Результатом роботи стало доведення механізму протизапальної активності нової похідної 4-(2-(етоксикарбоніл)-5,6-дигідро-[1,2,4]триазоло[1,5-с]хіназолін-5-іл)бензойної кислоти (SI32E). Валідовані методології докінгу в сайти інгібіторів циклооксигенази-2 та циклооксигенази-1 можуть стати важливим інструментом для подальшого раціонального пошуку протизапальних речовин. Виявлені молекулярні механізми сприятимуть оптимізації наступних фармакологічних досліджень завдяки встановленій кореляції між «фармакологічним ефектом, механізмом дії та in vivo моделлю».

Апробація результатів дослідження і публікації. Опубліковано 1 тези на V Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Youth Pharmacy Science» Харків, 10-11 грудня листопада 2024 р.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи.

Кваліфікаційна робота виконана відповідно до вимог, визначених у «Положенні про порядок підготовки та захисту кваліфікаційних робіт у

Національному фармацевтичному університеті» (ПОЛ А2.2-32-025, ред. 04-2021, затверджене 26.08.2021 р.). Структура роботи включає анотацію, вступ, огляд літератури, три розділи, загальні висновки, список використаної літератури та додатки. Робота складається з 42 сторінок, Робота складається з 42 сторінок, включає 1 таблицю, 1 схему та 25 рисунків, 76 джерел використаної літератури. У списку використаної літератури наведено 52 джерела.

РОЗДІЛ 1

ПОХІДНІ ТРИАЗОЛОХІНАЗОЛІНУ: СИНТЕЗ, РЕАКЦІЙНА
ЗДАТНІСТЬ, ПЕРСПЕКТИВНІСТЬ ЯК КЛАСУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ
РЕЧОВИН

Хіназолін і хіназолінони представляють різноманітний клас біологічно активних азотистих гетероциклічних сполук з величезним терапевтичним потенціалом. Легкість синтетичної доступності та гнучкість у структурних модифікаціях і функціональності додатково сприяє їх привабливості в медичній хімії. Низка наявних на цей час препаратів базується на скаффолді хіназолін/хіназолінон. Цікаво відзначити, що серед останніх доступних патентів багато з них зосереджені на багатообіцяючій протипухлинній активності хіназоліну та сполук, що містять хіназолінон. Однак їх біологічна активність, безумовно, не обмежується лише протираковою діяльністю, відомо, що вони також викликають низку інших біологічних і фізіологічних ефектів *in vitro* та *in vivo* (рис. 1) [1].

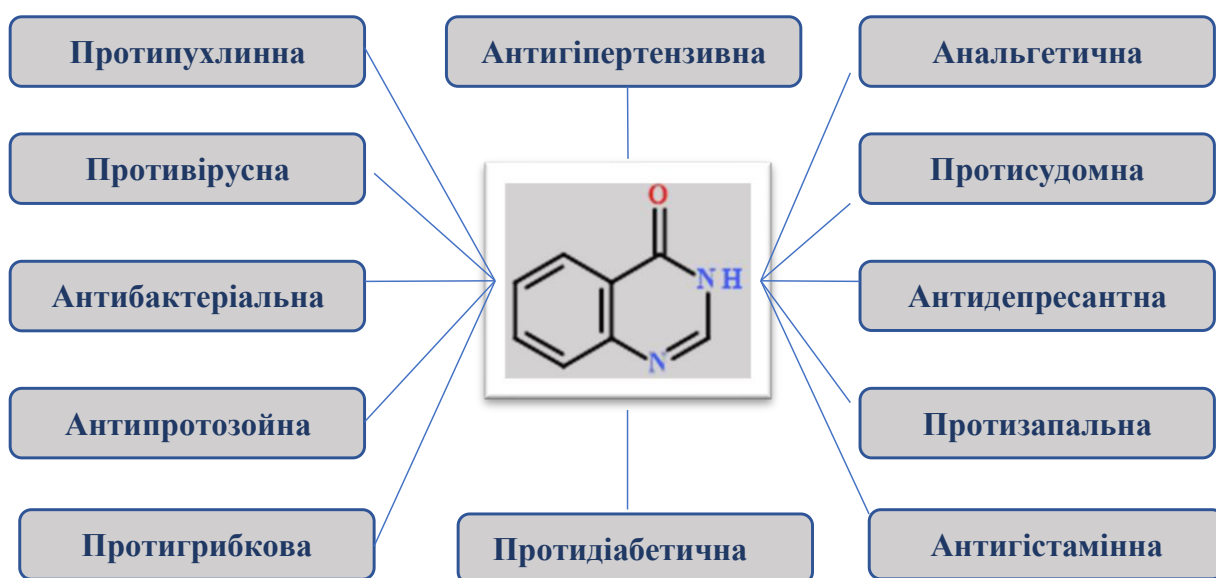


Рис. 1 Види біологічної активності, які виявлені у похідних хіназоліну [2].

1.1 Огляд перспективності конденсації хіназолінів з триазолами як біологічно активних речовин

Модифікація структури різних ліків для синтезу нових споріднених аналогів є найбільш вдалим підходом у процесі створення ліків, який нещодавно набув помітної популярності. Пошук більш селективних ліків з меншими побічними ефектами, подолання резистентності та покращення фармакокінетичного профілю ліків є результатом постійного процесу оптимізації вже наявних засобів [3, 4].

Гетероциклічні органічні сполуки вважаються основними речовинами медичної хімії. Їх різноманітні гетероатоми (N, S, O та інші) безпосередньо впливають на реакційну здатність, активність і токсичність цільових сполук. Найперспективнішими гетероциклічними системами є азольні сполуки за участю п'яти-шестичленних азотистих гетероциклів. Азольні фрагменти мають перевагу, відіграючи важливу роль у структурних модифікаціях і фармакологічних взаємодіях.

Хіназоліни та триазолі є азотовмісними гетероциклічними сполуками та представляють найвидатніші класи молекул, які мають широкий спектр фармакологічної дії, таку як знеболювальну [5], протизапальну [6–9], антигіпертензивну [10, 11], протимікробну [12–17], противірусну [18, 19] протиракову [20–26], антиоксидантну [27–29] і протисудомну [30].

Крім того, вони зробили внесок у створення величезної кількості клінічно використовуваних препаратів, таких як Афатиніб – інгібітор тирозинкінази, Альбаконазол – протигрибковий засіб, Альфузоцин – протираковий, Балаглітазон – протидіабетичний та гіполіпідимічний, Барасертиб – гострий мієлоїдний лейкоз, Цедіраніб – гематологічний рак, метастази в печінці, Сотростаурин – псоріаз, виразковий коліт, Еліногрель – протитромбозний, Флуконазол – протигрибковий, Мубрітиніб – інгібітор

протеїнкінази, Рибавірин – противірусний та ітраконазол – протигрибковий (рис. 1.2) [31, 32].

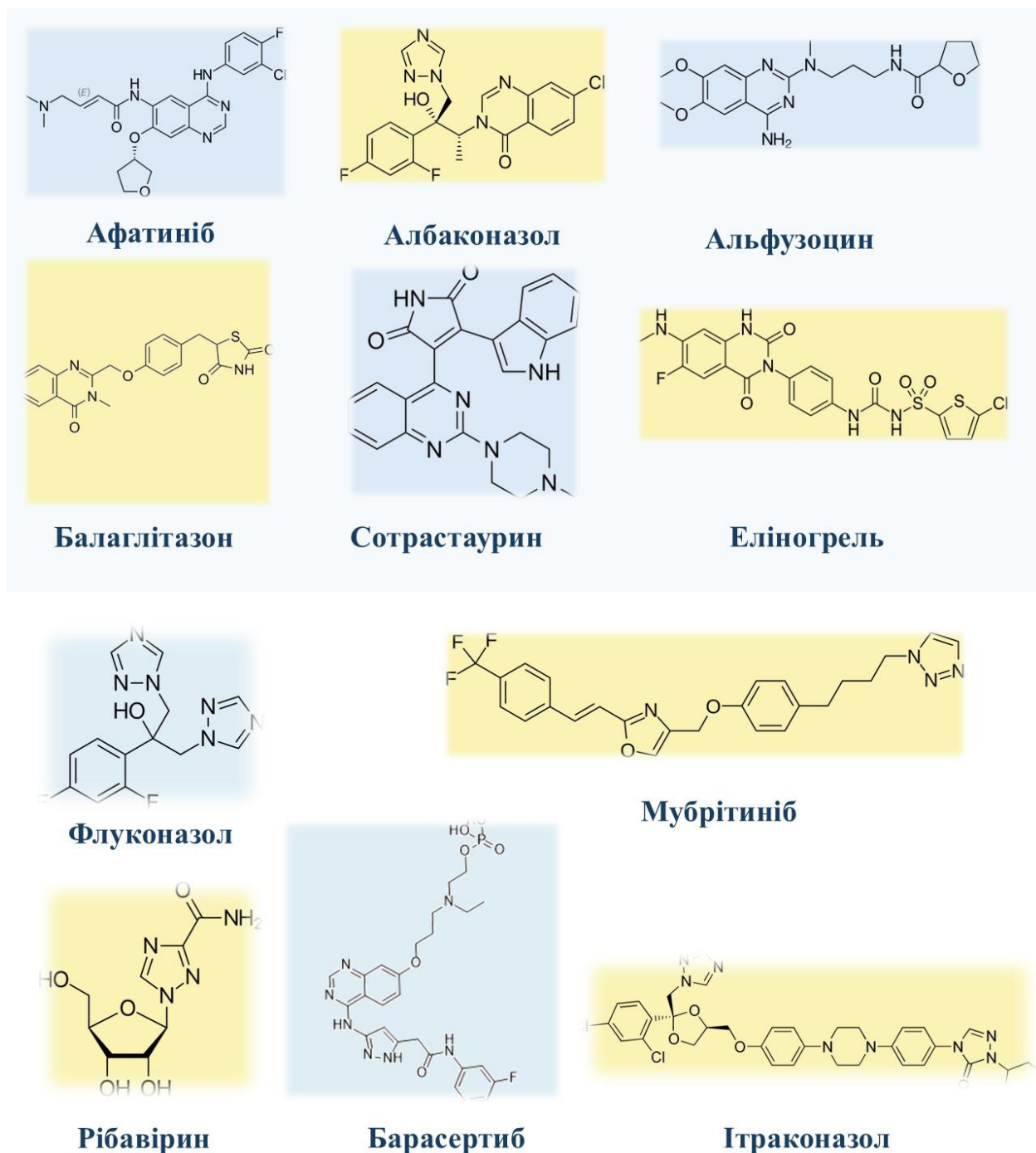


Рис. 1.2 Лікарські засоби серед похідних хіназоліну та триазолу, які введені в клінічну практику

На ринку постійно зростає попит на нові хімічні сполуки та біологічно активні речовини. За нинішнього сценарію, розробка хороших ліків за короткий час завжди є складним завданням для дослідників медичної хімії.

Однак синтез нових молекул, що поєднують потужну активність і високу селективність фрагментів, подібність до ліків і хороші фармакокінетичні властивості, є однаково важливим. Таким чином, багато гетероциклічних структур розроблені таким чином, щоб підвищити їх дію та ефективність зв'язування з рецептором після внесення структурних модифікацій.

Включення фрагментів хіназоліну та триазолу в одне гетероциклічне кільце було одним із найефективніших підходів до розробки лікарських засобів, спрямованих на розробку триазолохіназолінових похідних (рис. 1.3) як нових активних сполук, наділених багатообіцяючими фармакологічними характеристиками. Похідні триазолохіназоліну викликали значний інтерес завдяки їхнім виразним фармакологічним властивостям. У цьому огляді ми зосередилися на аспектах медичної хімії триазолохіназолінів, включаючи шляхи синтезу, реакційну здатність, біологічну активність, зібравши літературу про них і надавши детальну увагу фармакологічній активності їхніх аналогів у перспективі розробки та відкриття ліків.

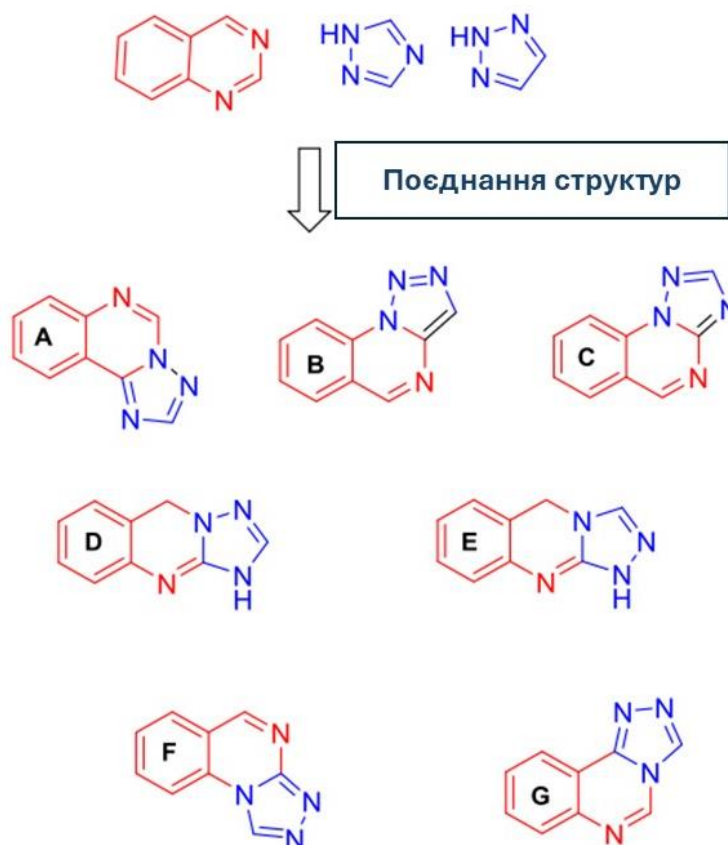


Рис. 1.3 Схема можливих напрямків поєднання гетероциклів хіназоліну та триазолу

1.2 Можливі напрямки синтезу аналогів триазолохіназоліну

Шляхи синтезу триазолохіназолінів описані в багатьох літературних джерелах. Як показано на рис. 1.4 Bilyi та співавтори обробили ізотіоціанатобензол гідразидами гетероарилкарбонової кислоти в диметилформаміді в умовах кипіння зі зворотним холодильником, щоб отримати цільовий 1,2,4-триазоло[1,5-в]хіназолін-5-тіоні (А) з хорошою врожайністю [33].

Bertelli та його наукова група повідомили, що реакція 2-карбокси-4-хлор(5-хлор)-фенілазидів з етилціанацетатом у присутності двох еквівалентів етоксиду натрію з подальшим підкисленням призвела до утворення 1,2,3-триазоло[1,5-а]хіназоліну, який після обробки метилсульфатом у киплячому бутані дозволив отримати сполуку В [34].

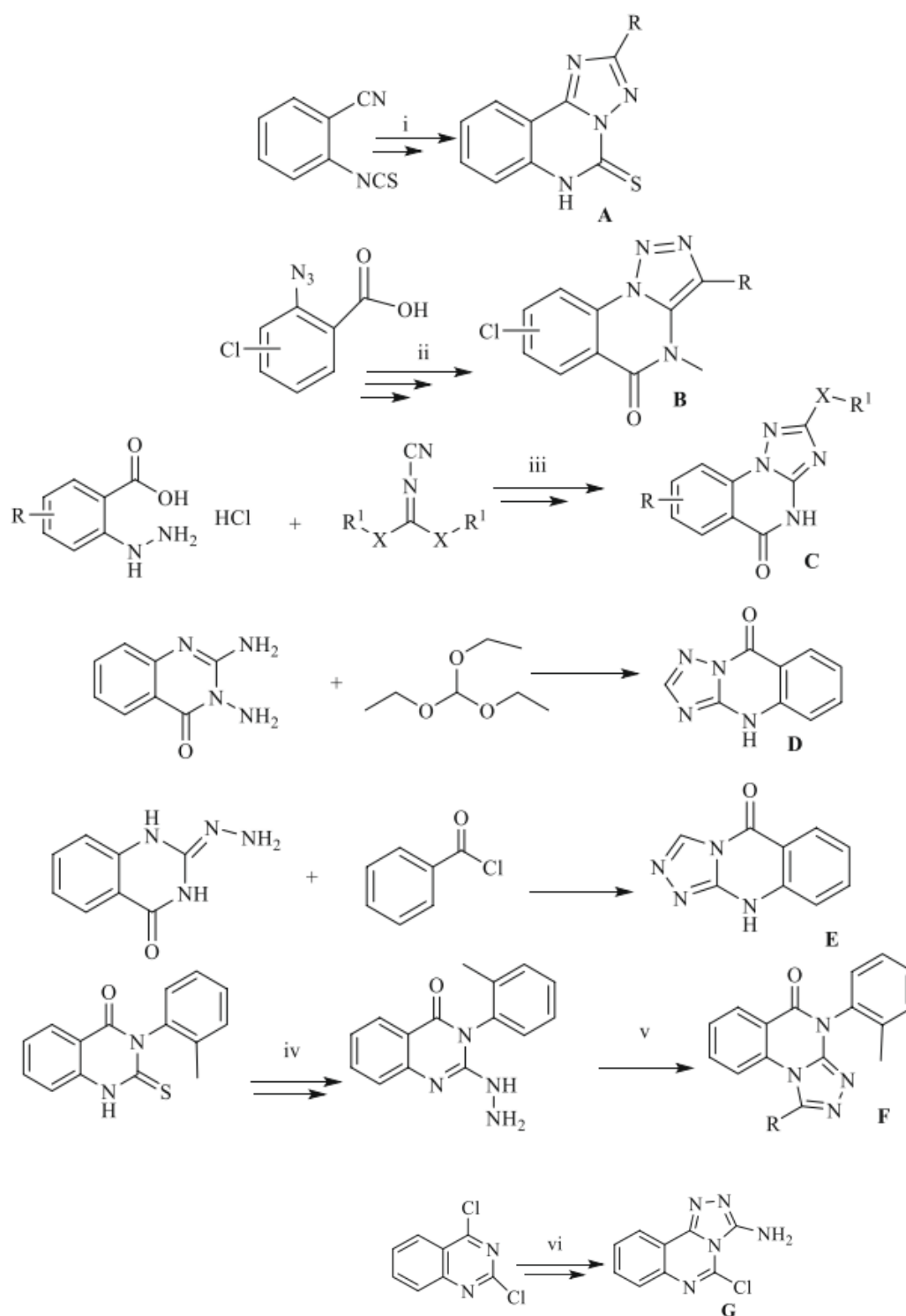
2-Алкокси(метилтіо)[1,2,4]триазоло[1,5-а]хіназоліни (С), отримані з хорошими виходами шляхом циклоконденсації кількох Н-ціаноїмідо(дитіо)карбонатів з 2-гідразинобензойною кислотою в присутності триетиламіну з наступною обробкою соляною кислотою в киплячому етанолі[35].

Як повідомили Laila Break та її співробітники нагрівання 2,3-діамінохіназолін-4-ону в триетилортоформаті без зусиль утворювало цільовий 1,2,4-триазоло[5,1-б]хіназолін-9(1H)-один (D) [36].

Murdoch та ін. опублікували, що коли 2-гідразоно-2,3-дигідрохіназолін-4 реагує з бензоїлхлоридом у киплячому диметилформаміді утворюється цільовий 1,2,4-триазоло[3,4-б]хіназолін (E) [37].

Alagarsamy та його наукова група описали реакцію алкілування 3-бензил-2-тіоксо-2,3-дигідрохіназолін-4(1H)-он з диметилсульфатом у спиртовому розчині гідроксиду натрію з утворенням проміжної сполуки 2-

метилтіохіназоліну з подальшим нуклеофільним заміщенням гідразингідратом з утворенням 2-гідразино-3-(2- метилфеніл)-3Н-хіназолін-4-ону, який після обробки киплячою оцтовою кислотою утворював 1,2,4-тріазоло[4,3-а]хіназоліни (F) [38].



i: heterohydrazides, DMF R: furan-2-yl,thien-2-yl; ii: RCH₂CN; R: C₆H₅, COOEt, (CH₃)₂SO₄, ; iii: EtOH, Et₃N, 80 °C; X: O, S, SO₂, R: alkyl, alkoxy, R¹: alkyl, aralkyl,aryl; iv: NaOH / EtOH, (CH₃)₂SO₄, NH₂NH₂ ·H₂O, EtOH, v: acetic acid, R:CH₃; vi: thiosemicarbazide, n-butanol

Рис. 1.4 Шляхи отримання триазолохіназолінових похідних

Цільовий 1,2,4-триазоло[4,3-в]хіназолін (G) отримано згідно з даними автора Ewes et al., синтетичною процедурою шляхом реакції проміжної сполуки 2,4-дихлорхіназоліну з тіосемікарбазидом при кип'ятінні в п-бутанолі [39]. Хімічні структури відомих триазолохіназолінів (A-G) характеризується спектрами ЯМР, МС, ІЧ, і деякі з них були чітко підтверджені рентгенівською кристалографією (Рис. 1.4)[40-45].

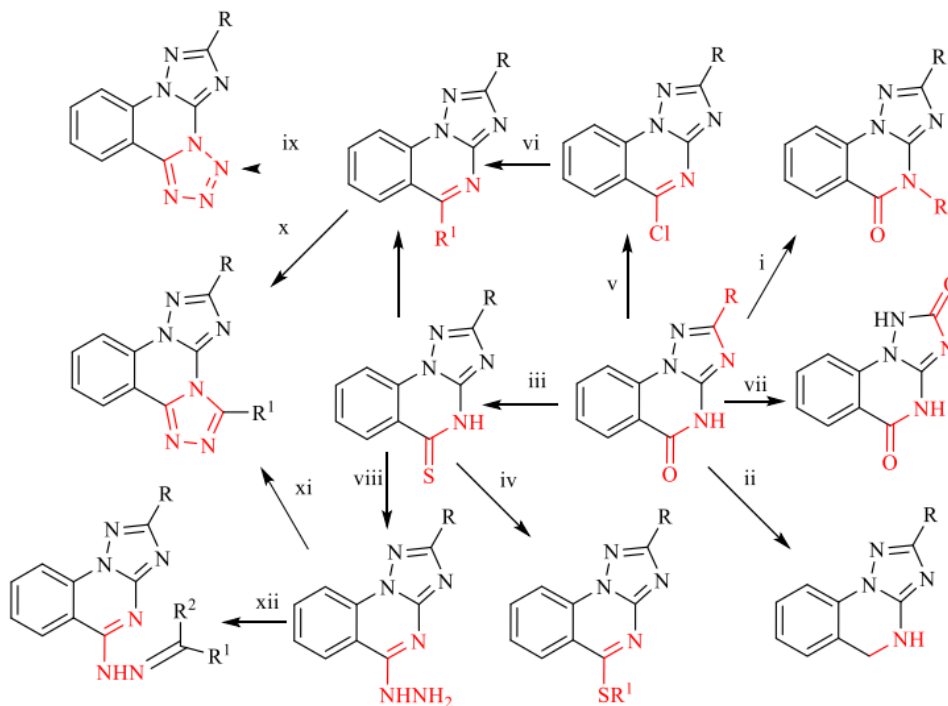
1.3 Опис реакційної здатності триазолохіназолінів

Більшість структур аналогів триазолохіназоліну (A-G), характеризуються наявною лактамною/тіолактамною групою, і хімічна трансформація цієї функціональної групи забезпечила доступ до безлічі різноманітних гетероциклічних сполук. Триазолохіназолінова система об'єднала в собі хімічні характеристики хіназоліну та триазолу, тому вона була придатною для кількох реакцій нуклеофільного та електрофільного заміщення.

Як правило, усі триазолохіназоліни (A-G) мають здатність вступати в реакції нуклеофільного та електрофільного заміщення або в триазольному кільці, або в частині хіназліну. Наприклад, взаємодія лактамної групи триазолохіназолінами (C) з різними алкілгалогенідами, призводить до утворення виключно N-алкілованих триазолохіназолінів, тоді як дигідропохідні отримані шляхом зменшення лактамної функціональності за допомогою алюмогідриду літію (Рис. 1.5).

Тіонування C з пентасульфідом фосфору утворювали тіоксопохідні, які згодом перетворювалися на тіоефіри шляхом реакції з алкілгалогенідами у водно-лужному середовищі. Хлорування C з оксихлоридом фосфору або оксалилхлоридом утворювала мішень, що характеризується функціональністю імідоілхлориду, який не тільки є цінною сполукою для подальших реакцій нуклеофільного заміщення, але також може сприяти як фармакофор біоактивності триазолохіназолінових систем. Заміна імідоілхлориду в C різні

нуклеофіли забезпечують багато похідних, як гідразин, гідразонацилгідразид і амідразон, триазолохіназоліни [46]. Обробка хлортриазолохіназолінів азидом натрію призвела до утворення тетрациклічного кільця, що містить тетразольну частину, однак ацилгідразида утворили тетрациклічну систему, що характеризується групами бістраїзолу (рис. 1.5).



i: alkyl halides, DMF, K_2CO_3 ; ii: $LiAlH_4$, THF; iii: P_2S_5 , pyridine; iv: alkyl halides, NaOH; v: $POCl_3$, benzene; vi: different nucleophilic substitution as hydrazine hydrate, hydrazides and alkoxide; vii: Pd/C, H_2 , THF; viii: hydrazine hydrate, EtOH; ix: N_3 , DMF; x: acylhydrazides, $POCl_3$; xi: aldehydes, carboxylic acids; xii: aldehydes, ketones, EtOH; R: alkoxy, aralkoxy, SCH_3 , OPh, SO_2SCH_3 R^1 : alkyl, aralkyl, H, hetroaryl, hydrazine, acylhydrazide, benzylhydrazide, alkoxide, hydroxyamine, thisosemicarbazide, R^2 : H, alkyl, aryl, hetroaryl

Рис. 1.5 Реакційна здатність похідних триазолохіназоліну

Каталітичне гідрування С на Pd/C забезпечили триазолохіназоліндіон із семікарбазидною функціональною групою. Гідразиноліз тіоксо- або хлорофункціональних груп в С дав похідні гідразину, які при обробці альдегідами, кетонами та карбоновими кислотами перетворюються на гідразони та тетрациклічну систему (рис. 1.5).

1.4 Характеристика біологічної активності триазолохіназолінів

1.4.1 Антагонізм до аденозинових рецепторів похідних триазолохіназоліну

Кофеїн, 8-циклопентил-1,3-дипропілксантин і теофілін, як природні ксантини, описані як початкові прототипи антагоністів рецепторів аденозину [47]. Великі дослідження також призвели до відкриття різних класів антагоністів нексантинових аденозинових рецепторів, більшість з яких є азотовмісними гетероциклами, такими як триазолохіназоліни. Кілька триазолохіназолінових систем, як повідомляється, виявляють різну активність проти рецепторів аденозину.

Френсіс та ін., синтезували 1,2,4-тріазоло[1,5-b]хіназолінів і оцінили їх активність як антагоністів аденозину. Дослідження SAR показали, що антагоніст аденозину 9-хлор-2-(2-фураніл)-[1,2,4]тріазоло[1,5-b]хіназолін-5-амін (A1) невивірково зв'язується з A1, A2A і A3 рецептори з високою спорідненістю, тоді як його ацильовані похідні були зроблені з метою посилення A2B або A3 підтипу. Тріазол[1,5-b]хіназолін (A2) характеризується як A1, A2A і A3 антагоніст аденозинового рецептора (рис. 1.6). Однак цільовий триазоло[1,5-b]хіназолін (A3) виявляв селективну антагоністичну активність щодо A3 рецептори людини [48].

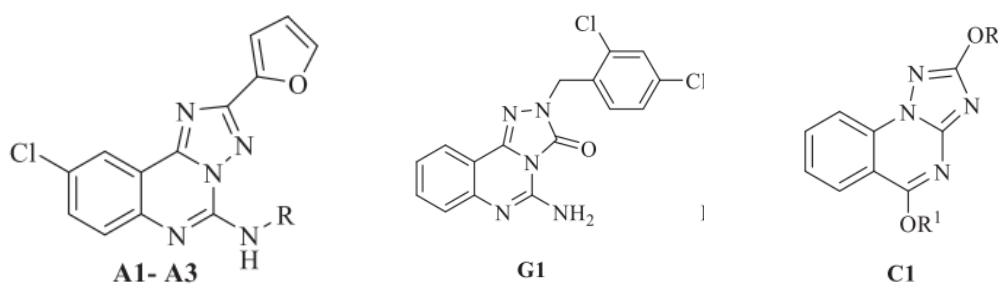


Рис. 1.6 Похідні триазолохіназоліну як антагоністи аденозинових рецепторів

Дихлорбензил-[1,2,4]тріазоло[4,3-b]хіназоліни (G1) визначено як аденозин A2A антагоністи рецепторів, і є корисний у лікуванні захворювань ЦНС, таких як хвороба Паркінсона. Синтезовані нові 2-алкокси-

[1,2,4]триазоло[1,5-а]хіназоліни (С) показали хорошу активність антагоніста аденозину та були розкриті як А1 антагоністи рецепторів аденозину [49].

1.4.2. Антигістамінна активність похідних триазолохіназоліну

Дослідження SAR показало, що хімічна модифікація 1,2,4- триазоло[4,3-а]хіназолін (F) дав нові похідні з багатообіцяючою антигістамінною активністю. Gobinath та ін., синтезували заміщений-4-(4-нітрофеніл)-[1,2,4]триазоло[4,3-а]хіназолін-5(4Н)-они (F1) як новий клас анти-Н₁-антигістамінну активність, яка продемонструвала значний захист у діапазоні 68–71% у порівнянні з хлорфеніраміну малеатом (70%) як препаратом порівняння (рис. 1.7) [50]. Тоді як 4-(2-етилфеніл)-1-метил-4Н-[1,2,4]триазоло[4,3-а]хіназолін-5-он (F2), за даними Alagarsamy та ін., як потужний антигістамінний засіб у порівнянні з хлорфеніраміну малеатом (71% захисту та незначна седація 30%) [51]. Синтезовані 1,2,4-тріазоло[1,5-а] похідні хіназоліну (C5) та оцінені як хороші антигістамінні засоби, зокрема показали багатообіцяючу активність проти бронхоспазму, викликаного гістаміном щодо теофіліну [51].

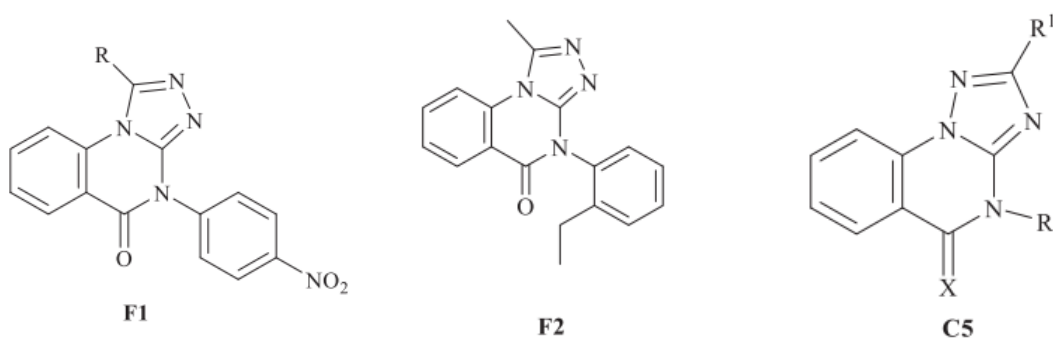


Рис. 1.7 Похідні триазолохіназоліну як антигістамінні засоби

1.4.3. Антимікробна активність похідних триазолохіназоліну

Як показано на рис. 1.8 [1,2,4]триазоло[5,1-б]хіназолін-8(4Н), синтезовані Patel та ін., і оцінені на їх антимікробну активність. Отримані

результати показали, що похідні (D1) виявилися найсильнішими проти грамнегативних бактерій, ніж ампіцилін і хлорамфенікол, і ефективно інгібується *Candida. Albicans*, ніж гризеофульвін як стандартний препарат[53].

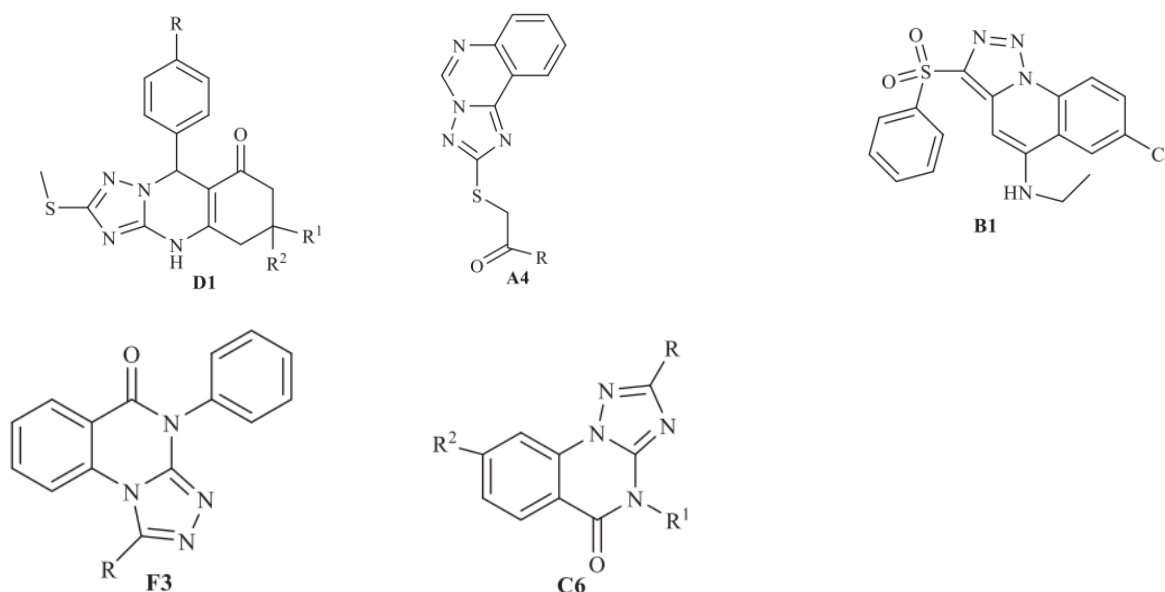


Рис. 1.8 Похідні триазолохіназоліну як протимікробні засоби

При попередньому протитуберкульозному скринінгу деякі D1 похідні були визнані більш потужними проти Мікобактерії туберкульозу ніж стандартний препарат рифампіцин [53]. Подальша структурна модифікація триазоло[1,5-*b*]хіназоліну А, N-(4-фторфеніл)-2-([1,2,4]триазоло[1,5-*v*]хіназолін-2-ілтію)ацетамід і 1,2,4-триазоло[1,5-*b*]хіназолін-2-ілтію)етанол (A4) мали найкращу зону гальмування *M. luteum*, *E. faecalis*, *E. aerogenes*, *P. aeruginosa*, *C. sakazakii*, *E. coli* [54, 55].

Хімічні перетворення 1,2,3- триазоло[1,5-*a*]хіназолін (В) утворили 7-хлороН- етил-3-(фенілсульфоніл)-[1-3]триазоло[1,5-*a*]хінолін-5-амін (B1) з потужною антимікробною дією та корисні при резистентності до лікування *St. aureus*. Новий заміщений 4-феніл-1,2,4-триазоло[4,3-*a*]хіназолін-5(4H)-он (F3) продемонстрував хорошу активність проти *Mycobacterium tuberculosis* та *Aspergillus niger*.

На додаток до антагоніста аденозину та антигістамінної активності триазоло[1,5-*a*]хіназолін С, нова серія 2-метилтію(фенокси)-[1,2,4]триазоло[1,5-*a*]хіназоліни (C6) розроблено та досліджено їх

антимікробну активність. Одержані результати продемонстрували хорошу антимікробну активність проти панелі грампозитивних бактерій (*Streptococcus pneumoniae* і *Bacillus subtilis*), грамнегативні бактерії (*Pseudomonas aeruginosa* і *Escherichia coli*) та різні штами грибів (*Aspergillus fumigatus*, *Syncephalastrum racemosum*, *Geotricum candidum* і *Candida albicans*)[56].

1.4.5 Протиракова активність похідних триазолохіназоліну

Повідомляється, що похідні 1,2,4-тріазоло[4,3-*b*]хіназоліну (G3) продемонстрували високу спорідненість зв'язування з ДНК і виявили здатність інтеркалювати ДНК при зниженому IC₅₀, що нижче, ніж препарат порівняння доксорубіцин (рис. 1.9) [57].

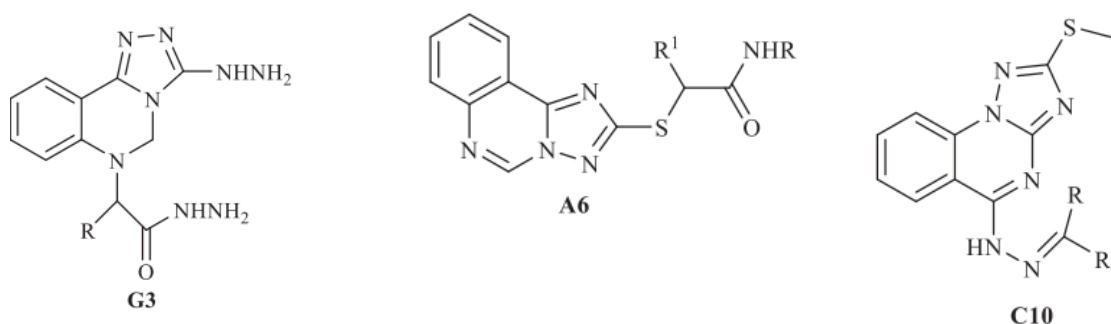


Рис. 1.9 Похідні триазолохіназоліну як протиракові агенти

Досліджено [1,2,4]тріазоло[1,5-*b*]хіназолін-2-тіони (A6) проти різних ліній ракових клітин, а саме SF-539, SNB-75, CCRF-CEM лейкемії; U251 раку ЦНС; 786, RXF393, UO-31 раку нирки; і MDA-MB-231 раку молочної залози [58].

Синтезовані 5-гідразоно-[1,2,4]тріазоло[1,5-*a*]хіназоліни (C10), а також досліджено їх цитотоксичну активність проти клітинних ліній MCF-7 молочної залози людини, гепатоцелюлярного Hep-G2, HeLa шийки матки людини та клітинних ліній L929 фібробластів миші. Результати показали, що C10 має значні цитотоксичні ефекти відносно гемцитабіну гідрохлориду [59].

1.4.6. Протисудомна активність похідних триазолохіназоліну

Синтезовані похідні 1,2,4-триазоло[4,3-а]хіназолін-5(4Н)-ону (F6) продемонстрували широкі межі безпеки на моделі максимального електрошоку (MES) та підшкірним введенням пентилентетразолу(scPTZ), які були набагато вищими ніж у фенітоїну, карбамазепіну і вальпроату (і показали значну активність при пероральному застосуванні проти відносно наведених еталонних препаратів (рис. 1.10) [60]. Тоді як 5-заміщений-[1,2,4]триазоло[4,3-а]хіназоліни (F7) виявився найпотужнішим при ЕД50 111 значення 19,7 мг/кг і значення ІП 6,2. Їхні протисудомні ефекти пояснюються підвищенням нейротрансмісії γ -аміномасляної кислоти (ГАМК) і активацією глутаматдекарбоксилази (ГАД) або інгібуванням α -оксoglутаратамінотрансферази (ГАМК-Т) у мозку [61].



Рис. 1.10 Похідні триазолохіназоліну як протисудомні агенти

1.4.7 Антигіпертензивна активність похідних триазолохіназоліну

Нова серія 1,2,4-триазоло[1,5-а]хіназолінів (C13) синтезовані і досліджено вплив на артеріальний тиск і серцево-судинну систему (рис. 1.11).

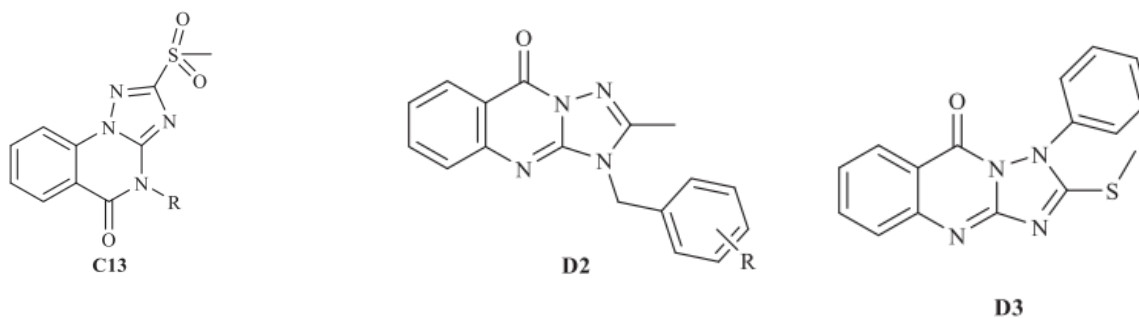


Рис. 1.10 Похідні триазолохіназоліну як антигіпертензивні засоби

Результати показали, що сполуки C13 впливають на частоту серцевих скорочень (збільшення частоти серцевих скорочень виявлено одними похідними та індукція брадикардії, доведена іншими), знижують артеріальний тиск і діють як адреноблокатори [62]. Синтезований 3-бензил(феніл)-2-заміщений-3H-[1,2,4]триазоло[5,1-b]хіназолін-9-они (D2, D3) показали потужну антигіпертензивну дію щодо празоцину [63].

1.4.8 Протизапальна активність похідних триазолохіназоліну

Нова серія 5-(4-хлорфеніл)-9-йод-3-заміщених-1,2,4-триазоло[4,3-b]хіназоліни (G6) перевірені на їх протизапальну дію за допомогою тесту на набряк лапи у щурів, викликаного карагеніном. Результати показали співставну активність до індометацину як препарату порівняння [64] (рис. 1.11).

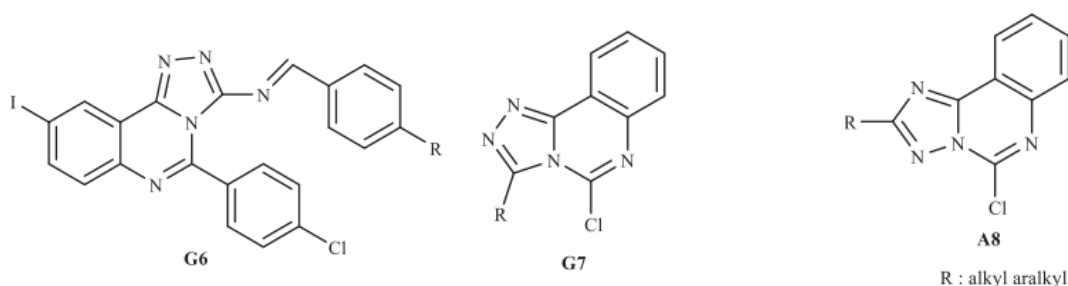


Рис. 1.11 Протизапальні похідні триазолохіназоліну

Однак повідомляється про 5-хлор-3-заміщений-1,2,4-триазоло[4,3-b]хіназоліни (G7) та 5-хлор-2-заміщений 1,2,4-триазоло[1,5-b]хіназоліни (A8), які продемонстрували протизапальну дію кетопрофену в діапазоні від найсильнішої до еквівалентної [65]. Повідомляється також про 5-хлор-2-метилсульфаніл-[1,2,4]триазоло[1,5-a]хіназолін (C17) який був оцінений на медіатори запалення – оксид азоту (NO), фактор некрозу пухлини- α (TNF- α), простагландин E-2 (PGE-2) та бактеріальні макрофаги, стимульовані ліпополісахаридом. Результати показали багатообіцяючі мультипотенційні протизапальні ефекти [66].

Висновок до Розділу 1.

Триазолохіназоліни демонструють широкий спектр фармакологічної активності, як антагоністи аденозину, протизапальні, антигістамінні, протипухлинні, антигіпертензивні, антиоксидантні, протисудомні, протимікробні, противірусні, протималярійні та протидіабетичні агенти. Аналіз взаємозв'язку структура-активність відіграє важливу роль у подальшій оптимізації повного потенціалу похідних триазолохіназоліну. Можливі покращення активності можуть бути додатково досягнуті незначними модифікаціями в замісниках основного скелета триазолохіназоліну, що може бути успішно виконаний за допомогою гібридного фармакофорного та біоізостеричного підходу. У найближчому майбутньому ряди цих похідних триазолохіназоліну, безумовно, будуть використовуватися як терапевтичні засоби.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ 4-(2-(ЕТОКСИКАРБОНІЛ)-5,6-ДИГІДРО-[1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-с]ХІНАЗОЛІН-5-ІЛ)БЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ

Об'єктом дослідження було обрано нову похідну – 4-(2-(етоксикарбоніл)-5,6-дигідро-[1,2,4]триазоло[1,5-с]хіназолін-5-іл)бензойної кислоти SI2E (рис. 2.1), отриманий під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора Сергія Івановича Коваленка (Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара) [87].

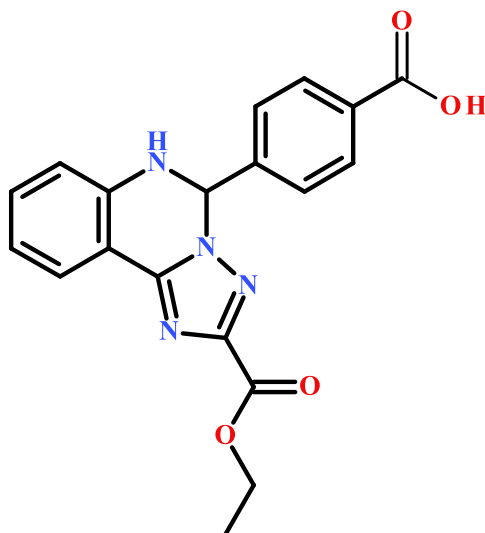


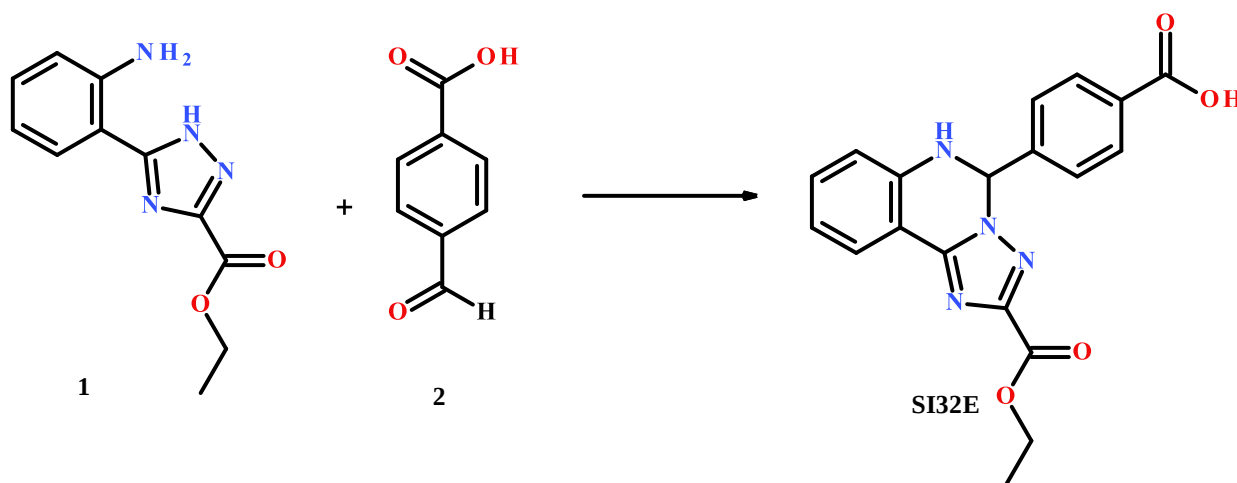
Рис. 2.1 4-(2-(Етоксикарбоніл)-5,6-дигідро-[1,2,4]триазоло[1,5-с]хіназолін-5-іл)бензойна кислотаSI32E

2.1 Методика одержання 4-(2-(етоксикарбоніл)-5,6-дигідро-[1,2,4]триазоло[1,5-с]хіназолін-5-іл)бензойної кислоти

До розчину 10 ммоль відповідного [2-(3-*R*-1*H*-1,2,4-триазоло-5-іл)феніл]аміну (**1**) в 10 мл пропанолу-2 додають 1-2 краплі концентрованої сульфатної кислоти та 10 ммоль відповідних 3-(4-)-формилбензойної кислоти. Реакційну суміш кип'ятять 3-5 год, охолоджують, вливають у 10% розчин

натрій ацетату. Утворений осад фільтрують і сушать. При необхідності кристалізують із метанолу.

Схема 2.1



Вихід: 70,6%; Т. пл. 169-171°C;

Індивідуальність та будова сполук підтверджена хроматомас-спектром, ^1H та ^{13}C ЯМР-спектрами. В хромато-мас-спектрах синтезованої сполуки реєструється позитивний іон $[\text{M}^+1]$, що однозначно підтверджує запропоновану структуру.

^1H ЯМР, δ : 13,07 (с, 1H, COOH), 7,96 (д, $J=8,2$ Гц, 2H, 5-Ar H-2,6), 7,83–7,66 (м, 2H, 6-NH, H-10), 7,48 (д, $J=8,2$ Гц, 2H, 5-Ar H-3, 5), 7,31 (т, $J=8,4$ Гц, 1H, H-8), 7,10 (с, 1H, H-5), 6,91 (д, $J=8,2$ Гц, 1H, H-7), 6,86 (т, $J=7,5$ Гц, 1H, H-9), 4,48–4,06 (м, 2H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,27 (т, $J=7,1$ Гц, 3H, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$);

^{13}C ЯМР, δ : 166,8 ($-\text{COOH}$), 159,4 ($-\text{COOEt}$), 154.1, 150.4, 143.1, 143.0, 132.6, 131.8, 129.8, 127.1, 124.4, 118.8, 114.9, 109.2, 71.2 (C-5), 61.2 ($-\text{C H}_2\text{CH}_3$), 14,1 ($-\text{CH}_2\text{C H}_3$); LSMC, $m/z=365$ ($\text{M}^+ \text{H}$).

2.2 Обговорення результатів протизапальної активності SI32E

Тварини дорослих білих щурів Wistar (масою 150–160 г) отримували із тваринницького приміщення ДУ «Інститут фармакології та токсикології України» (м. Київ) і обробляли при контрольованій температурі ($25^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$), умови вологості (50–60%) та освітленості (12 годин світла та 12 годин

темряви, світло вмикається о 08:00). Перед початком експерименту щурам досхочу давали воду та стандартну гранульовану дієту протягом 1 тижня. Усі експериментальні процедури та лікування проводились відповідно до Європейської конвенції та «Положення про використання тварин у біомедичних дослідженнях» [67].

Скринінг синтезованої сполуки почали з дослідження її впливу на ексудативну фазу гострого асептичного запалення за допомогою «карагенанового» тесту. Для цього 1% водний розчин карагенану (Sigma, США) вводили субплантально в об'ємі 0,1 мл у задню праву лапу щурів, тоді як ліва лапа служила контролем. Досліджувані сполуки вводили внутрішньошлунково атравматичним зондом у вигляді водного розчину або суспензії, стабілізованої Твіном-80, у дозі 25 мг/кг за годину до введення карагенану. Як препарат порівняння використовували «Диклофенак натрію», який вводили внутрішньошлунково в дозі 8 мг/кг, рекомендованій для доклінічних досліджень.

Об'єм лап вимірювали до початку експерименту і через три години після введення карагенану за допомогою водного плетизмометра (Ugo Basile, Comerio, Італія). Антизапальну активність оцінювали за здатністю сполук зменшувати набряк у порівнянні з контрольною групою, виражаючи результати у відсотках. Набухання, індуковане карагенаном, у контрольній групі приймали за 100% [67].

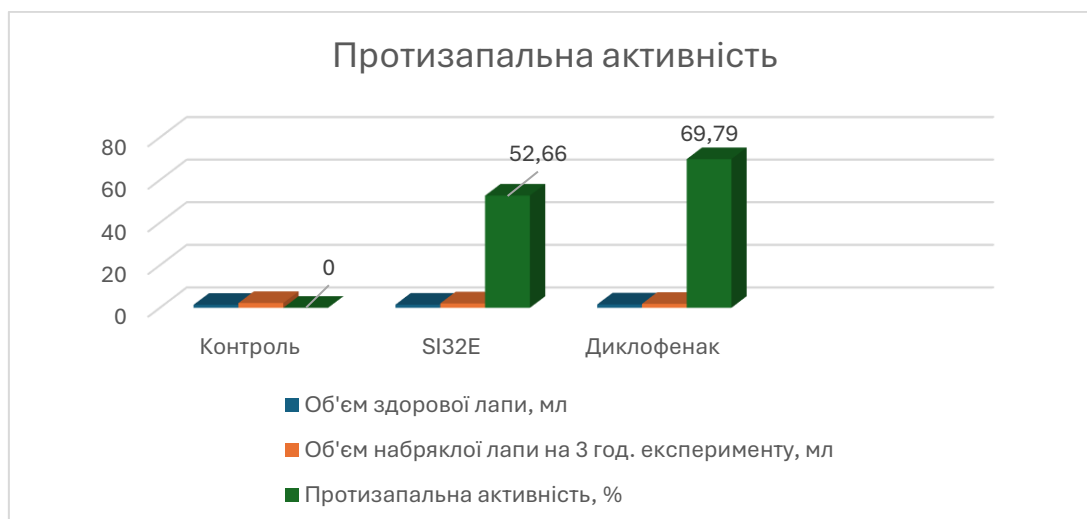


Рис. 2.2 Результати експериментальних даних протизапальної активності

2.3 Дослідження молекулярного докінгу

Дослідження проводилися методом гнучкого молекулярного докінгу, який використовують для пошуку сполук, здатних взаємодіяти з певною біологічною мішенню. У ролі біологічних мішеней застосовували макромолекули з бази даних Protein Data Bank (PDB): фермент ЦОГ-1 у комплексі з диклофенаком (PDB ID - 3N8Y) та фермент ЦОГ-2 у комплексі з целекоксибом (PDB ID – 3LN1) [68]. Вибір біологічних мішеней базувався на опублікованих даних про механізм дії протизапальних засобів [69,70].

Структура речовини була створена за допомогою програмного забезпечення MarvinSketch 20.19.0 і збережені у форматі mol [71]. Потім вони були оптимізовані за допомогою програми Chem3D із застосуванням молекулярно-механічного алгоритму MM2, що дозволило отримати реалістичні геометричні параметри більшості органічних молекул завдяки високій параметризації методу. Оптимізовані структури зберігали у форматі pdb-файлів. Для подальшої роботи за допомогою AutoDockTools-1.5.6 pdb-файли були перетворені у формат PDBQT, при цьому кількість активних торсійних кутів встановлювалася за замовчуванням [71].

Підготовка білків. PDB-файли завантажували з банку даних білків. Для видалення молекул води та лігандів використовували Discovery Studio. Структури білків зберігали у вигляді pdb-файлів. У AutoDockTools-1.5.6 додавали полярні гідрогени та зберігали їх у форматі PDBQT.

Сітка поля була задана наступним чином: center_x = 33.14, center_y = -44.49, center_z = -3.76, size_x = 24, size_y = 22, size_z = 20 для COX-1 (3N8Y) та center_x = 18.84, center_y = -52.89, center_z = 53.81, size_x = 22, size_y = 24, size_z = 24 для COX-2 [72]. Для проведення стикування використовували Vina. Для візуалізації використовували Discovery Studio v 19.1.0.18287. Валідацію методу докінгу проводили шляхом повторного докінгу з використанням

диклофенаку та целекоксибу як лігандів та ЦОГ-1 і ЦОГ-2 як біомолекулярних мішеней. Середньоквадратичне відхилення (RMSD) між нативною та референтною конформаціями розраховували за допомогою онлайн-сервісу ProFit Results. Розрахункові значення становили 1,001 та 1,952 Å, що підтверджує відтворюваність експериментальних даних.

РОЗДІЛ 3

ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ЛІКОПОДІБНОСТІ ТА ТОКСИЧНОСТІ 4-(2-(ЕТОКСИКАРБОНІЛ)-5,6-ДИГІДРО-[1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-С]ХІНАЗОЛІН-5-ІЛ)БЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ

2.1 Оцінка параметрів абсорбції, розподілу, метаболізму, виведення досліджуваної сполуки

Сучасний розвиток штучного інтелекту (ШІ), особливо у сфері глибокого навчання та його методологій, демонструє значний прогрес у багатьох галузях, зокрема у створенні лікарських засобів. ADME (абсорбція, розподіл, метаболізм, виведення) описує ключові аспекти фармакокінетики та фармакодинаміки лікарських молекул.

Параметри ADME біологічно активної сполуки впливають на її безпечність та ефективність. Важливо зазначити, що ці два показники є серед основних причин невдач у клінічних випробуваннях нових хімічних сполук. Упродовж останніх десятиліть методи машинного навчання та кількісний аналіз зв'язку між структурою і активністю (QSAR) успішно застосовуються для моделювання ADME [73].

Основні характеристики, такі як ліпофільність (LIPO), розмір (SIZE), полярність (POLAR), розчинність (INSOLU), ненасиченість (INSATU) та гнучкість (FLEX), візуалізуються на радарній діаграмі біодоступності за допомогою інструменту SwissADME [73] (рис. 3.1).

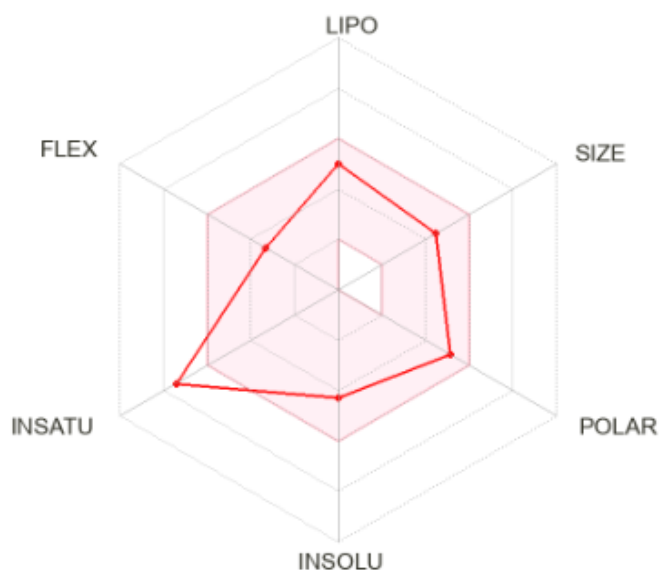
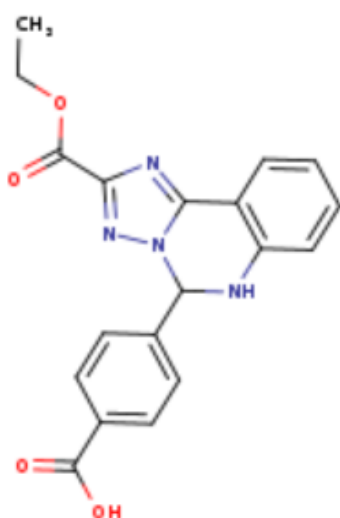
Рожева зона на радарній діаграмі позначає оптимальні значення для кожної характеристики:

- Ліпофільність: XLOGP3 у межах від -0,7 до +5,0
- Розмір: молекулярна маса (MW) від 150 до 500 г/моль
- Полярність: TPSA від 20 до 130 Å²

- Розчинність: $\log S$ не більше -6
- Насиченість: частка атомів вуглецю в sp^3 -гібридизації не менше 0,25
- Гнучкість: не більше 9 обертових зв'язків

У даному прикладі сполука не відповідає критеріям біодоступності для перорального застосування, оскільки не задовольняється параметр насиченості – частка атомів вуглецю в sp^3 -гібридизації становить 0.16.

Molecule 1



SMILES CCOC(=O)c1nc2n(n1)C(Nc1c2cccc1)c1ccc(cc1)C(=O)O

Рис. 3.1 Радар біодоступності похідної SI32E

Однак окрім фізико-хімічних характеристик, за якими складається радар біодоступності, інші характеристики речовини є задовільними: ліпофільність, розчинність у воді, фармакокінетика (шлунково-кишкова абсорбція, проникнення через ГЕБ, субстрат Р-глікопротеїну, інгібітор CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4), лікарська подібність, медична хімія (рис. 2.2).

Сполука має відповідний рівень ліпофільності ($\log P$ 2,28), що на пряму впливає на її здатність проникати через гематоенцефалічний бар'єр.

Сполука не має попереджень відповідно до правил PAINS, що вказує на відсутність у її структурі фрагментів, характерних для неактивних або токсичних сполук

Physicochemical Properties		Water Solubility	
Formula	C ₁₉ H ₁₆ N ₄ O ₄	Log S (ESOL) [?]	-4.27
Molecular weight	364.35 g/mol	Solubility	1.96e-02 mg/ml ; 5.37e-05 mol/l
Num. heavy atoms	27	Class [?]	Moderately soluble
Num. arom. heavy atoms	17	Log S (Ali) [?]	-5.14
Fraction Csp ³	0.16	Solubility	2.66e-03 mg/ml ; 7.31e-06 mol/l
Num. rotatable bonds	5	Class [?]	Moderately soluble
Num. H-bond acceptors	6	Log S (SILICOS-IT) [?]	-4.97
Num. H-bond donors	2	Solubility	3.90e-03 mg/ml ; 1.07e-05 mol/l
Molar Refractivity	99.57	Class [?]	Moderately soluble
TPSA [?]	106.34 Å ²	Pharmacokinetics	
Lipophilicity		GI absorption [?]	High
Log P _{o/w} (iLOGP) [?]	2.54	BBB permeant [?]	No
Log P _{o/w} (XLOGP3) [?]	3.23	P-gp substrate [?]	No
Log P _{o/w} (WLOGP) [?]	1.90	CYP1A2 inhibitor [?]	Yes
Log P _{o/w} (MLOGP) [?]	2.26	CYP2C19 inhibitor [?]	No
Log P _{o/w} (SILICOS-IT) [?]	1.47	CYP2C9 inhibitor [?]	Yes
Consensus Log P _{o/w} [?]	2.28	CYP2D6 inhibitor [?]	No
Druglikeness		CYP3A4 inhibitor [?]	No
Lipinski [?]	Yes; 0 violation	Log K _p (skin permeation) [?]	-6.23 cm/s
Ghose [?]	Yes	Medicinal Chemistry	
Veber [?]	Yes	PAINS [?]	0 alert
Egan [?]	Yes	Brenk [?]	0 alert
Muegge [?]	Yes	Leadlikeness [?]	No; 1 violation: MW>350
Bioavailability Score [?]	0.56	Synthetic accessibility [?]	3.72

Рис. 3.2 Результату розрахунку параметрів ADME сполуки SI32E

Аналіз даних свідчить про задовільні параметри ADME та високу пероральну біодоступність досліджуваної похідної.

3.2. Прогнозування параметра токсичності похідної SI32E

Прогнозування токсичності нових біологічно активних речовин є важливим етапом у розробці лікарських препаратів. Це здійснюється для того, щоб: забезпечити безпеку пацієнтів – токсичні властивості сполук можуть призводити до серйозних побічних ефектів, що ставить під загрозу здоров'я та життя людей. Попереднє оцінювання токсичності дозволяє уникнути таких ризиків; зменшити витрати на розробку – виявлення токсичності на ранніх

етапах знижує витрати на подальші дослідження та клінічні випробування, які є значно дорожчими, якщо речовина виявляється токсичною на пізніших стадіях; підвищити ймовірність успіху клінічних випробувань – багато препаратів зазнають невдач у клінічних дослідженнях саме через токсичність. Прогнозування допомагає ідентифікувати проблемні сполуки до початку дорогих випробувань; зменшити використання тварин у дослідженнях – комп'ютерне моделювання токсичності дозволяє скоротити кількість експериментів на тваринах, підтримуючи етичні стандарти досліджень. Таким чином, прогнозування токсичності є ключовим для створення безпечних, ефективних та економічно доцільних лікарських засобів.

Для прогнозування токсичності було використано ресурс, доступний online, – ProTox. Результати наведено на рис. 3.4.

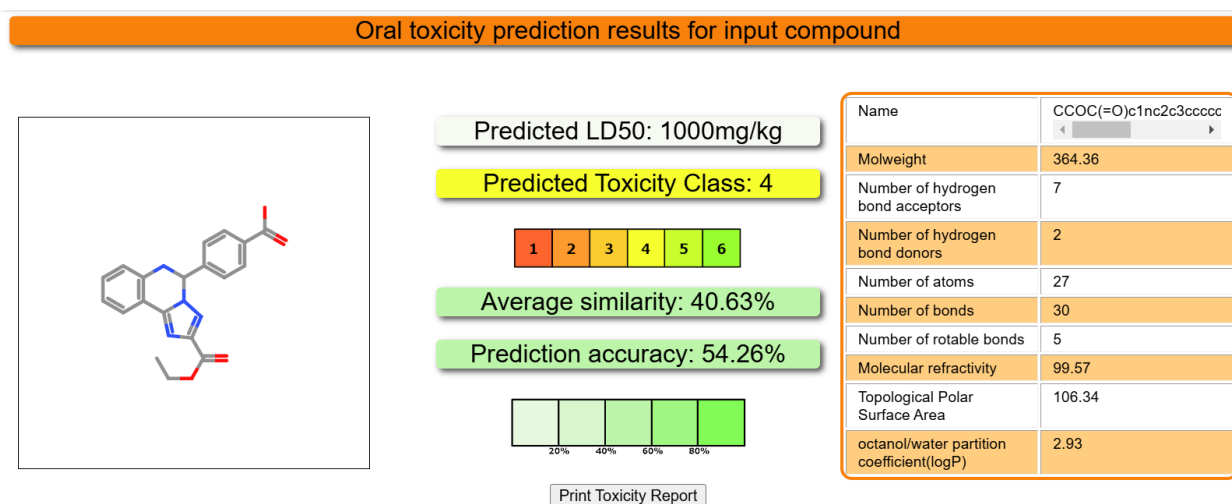


Рис. 3.3 Результати прогнозу токсичності сполуки SI32E

Для триазолохіназолінової похідної спрогнозовано IV клас токсичності, тобто шкідливо при ковтанні в дозуванні $300 < LD50 \leq 2000$ мг/кг. Дані показники є абсолютно задовільними для нової речовини.

Крім того, для речовини не прогнозується гепатотоксичність, нефротоксичності, кардіотоксичність, імунотоксичність, канцерогенність, мутагенність, цитотоксичність, що є позитивними характеристиками. Можливий прояв нейротоксичності, через здатність проникати через гематоенцефалічний бар'єр.

Радіолокаційна діаграма токсичності (рис. 3.4) ілюструє достовірності позитивних результатів токсичності порівняно з середнім значенням у своєму класі.



Рис. 3.4 Радіолокаційна діаграма токсичності сполуки SI32E

Таким чином, за результатами розрахунку токсичності можна вважати сполуку придатною для подальших поглиблених *in vivo* досліджень фармакологічної активності та гострої токсичності, а також цитотоксичності.

РОЗДІЛ 4

ВИВЧЕННЯ МЕХАНІЗМУ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНОЇ 4-(2-(ЕТОКСИКАРБОНІЛ)-5,6-ДИГІДРО-[1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5- с]ХІНАЗОЛІН-5-ІЛ)БЕНЗОЙНОЇ КИСЛОТИ

Для більш детального розуміння імовірного механізму протизапальної дії найактивнішої сполуки 4-(2-(етоксикарбоніл)-5,6-дигідро-[1,2,4]триазоло[1,5-с]хіназолін-5-іл)бензойної кислоти та визначення особливостей взаємозв'язку «будова-протизапальна активність», досліджена її афінність до активних сайтів інгібіторів ключових прозапальних ензимів – COX-1 та COX-2.

4.1 Обґрунтування вибору біотаргетів для дослідження

Циклооксигеназа (COX) є ключовим ферментом, що відіграє важливу роль у розвитку запального процесу. Вона бере участь у синтезі простагландинів, які є біологічно активними молекулами, що регулюють різні аспекти запалення. Основні функції циклооксигенази:

1. Синтез простагландинів – COX каталізує перетворення арахідонової кислоти на простагландин H_2 (PGH_2), який є попередником для синтезу інших простагландинів і тромбоксанів.
2. Регуляція запальної відповіді:
 - Простагландини (особливо PGE_2) сприяють розширенню судин, підвищенню проникності капілярів і активації імунних клітин, що веде до набряку, почервоніння і болю — класичних ознак запалення.
 - Простагландини також посилюють відчуття болю через стимуляцію больових рецепторів.
3. Залучення до лихоманки. PGE_2 , синтезований за участю COX, впливає на гіпоталамус, підвищуючи температуру тіла, що є захисною реакцією організму під час інфекції [74].

Існує дві ізоформи циклооксигенази:

COX-1 – експресується конститутивно (постійно) у більшості тканин і відповідає за підтримку фізіологічних функцій, таких як захист слизової шлунка, регуляція тромбоутворення та ниркового кровообігу. Саме з інгібуванням COX-1 пов'язують побічні ефекти усіх відомих нині нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ).

COX-2 – індукується під час запального процесу під впливом цитокінів, факторів росту та інших медіаторів запалення. Основна функція COX-2 — синтез простагландинів, які беруть участь у запальній відповіді [74].

Інгібітори циклооксигенази, такі як НПЗЗ, наприклад, диклофенак, ібупрофен чи аспірин, зменшують запалення, біль і лихоманку шляхом інгібування синтезу простагландинів. Селективні інгібітори COX-2 (наприклад, целекоксиб) спрямовані на запальний процес із мінімальним впливом на COX-1, що знижує ризик побічних ефектів у шлунково-кишковому тракті [74].

Отже, циклооксигеназа є центральним компонентом запального процесу, а її регуляція — ключ до ефективного лікування запалення.

4.2. Молекулярний докінг у активний сайт циклооксигенази-1

Валідність використаної методики та відтворюваність розміщення в активному сайті референс-ліганду – диклофенаку, візуалізація процедури ре-докінгу зображена на рис. 4.1.

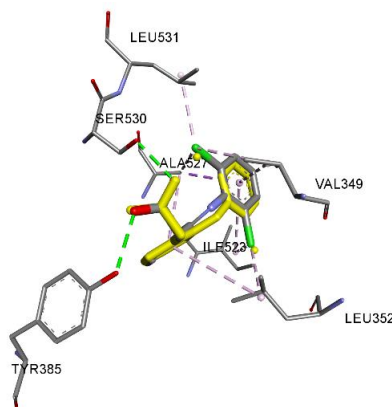


Рис. 4.1 Візуалізація ре-докінгу референс-ліганду диклофенаку (жовта молекули) відносно його нативного положення (сіра молекула) у COX-1

Інгібувальну здатність похідної SI32E щодо прозапальних ензимів оцінювали на основі її афінності до референс-лігандів, а також шляхом аналізу конформаційного розташування та типів взаємодій з амінокислотними залишками активного центру (табл. 4.1).

Кількісна характеристика спорідненості похідної SI32E до COX-1 перевищувала значення референс препарату диклофенаку: -9.2 у порівнянні з -8.5 ккал/моль, відповідно. Деталізація взаємодії з пептидними залишками свідчить про міцну фіксацію усіх фрагментів молекули SI32E в кишені через розгалужену сітку гідрофобних взаємодій (рис. 4.2).

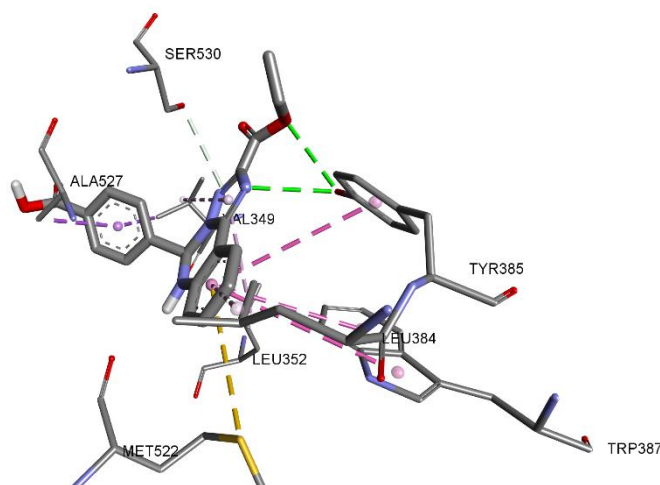


Рис. 4.2 Взаємодія сполуки SI32E з амінокислотними залишками активного сайту COX-1

Додаткова стабілізація конформації ліганд-фермент відбувається водневими зв'язками із фенольним гідроксилом тирозину (Tyr385) та гідроксиметильною групою серину (Ser530). За літературними даними саме водневі зв'язки між цими амінокислотами та карбоксильною групою ряду НПЗЗ, зокрема диклофенаку та ацетилсаліцилової кислоти, вважають ключовими для прояву протизапальної активності інгібіторів COX-1 [75]. Слід зазначити, що у ліганда SI32E водневі зв'язки утворює етокикарбоксильна група (Ser530, 2.52Å) та нітроген тріазольного циклу

(Tyr385, 2.67 Å), тоді як карбоксильна група не бере участь у фіксації конформації. Відмічено також утворення зв'язку з метионіном (Met522) та лейцином (Leu384), які не позиціонуються як амінокислоти активного сайту однак візуалізуються в найближчому оточенні при фіксації диклофенаку [75].

Таблиця 4.1

Результати досліджень докінгу ліганду SI32E та нативного інгібітору до активного сайту COX-1 та COX-2

Ліганди	Ензим	Афінність (ккал/моль)	Взаємодії з амінокислотними залишками
Діклофенак	COX-1	-8.5	Tyr385 ^a , Ser530 ^a , Ala527(3) ^b , Leu352(2) ^b , Leu352 ^b , Ile523 ^b , Val349(2) ^b , Leu531 ^b , Ile523 ^b
Целекоксиб	COX-2	-12.2	Arg106 ^a , Arg499 ^a , Gln178 ^a , Leu338 ^a , Ser339 ^a , Val335 ^b , Ser339 ^b , Val509 ^b (2), Leu370 ^b , Val335 ^b , Leu345 ^b , Leu517 ^b , Tyr371 ^b , Trp373 ^b , Ala513(2) ^b
SI32E	COX-1	-9.2	Tyr385(2) ^a , Ser530 ^a , Val349(2) ^b , Ala527 ^b , Met522 ^{c*} , Tyr385 ^b , Trp387(2) ^b , Leu384 [*] , Leu352 ^b
	COX-1	-11.1	Tyr341 ^a , Arg499 ^a , His75 ^a Val509 ^b , Ala513(3) ^b , Val335 ^b , Leu517 ^b , Leu338 ^b

Примітки: а - водневий зв'язок; b - гідрофобний; с - інший; () - в дужках вказано кількість зв'язків, * Амінокислоти, які не взаємодіють з нативним лігандом в експерименті

Візуалізація сумісної конформації ліганду SI32E відносно нативного диклофенаку демонструє близьке та подібне їх просторове розташування у центрі гідрофобної кишені COX-1 (рис. 4.3). Молекула SI32E є дещо більшою однак здатна розміститися у високогідрофобній кишені активного сайту про що свідчить перелік взаємодій з пептидними залишками.

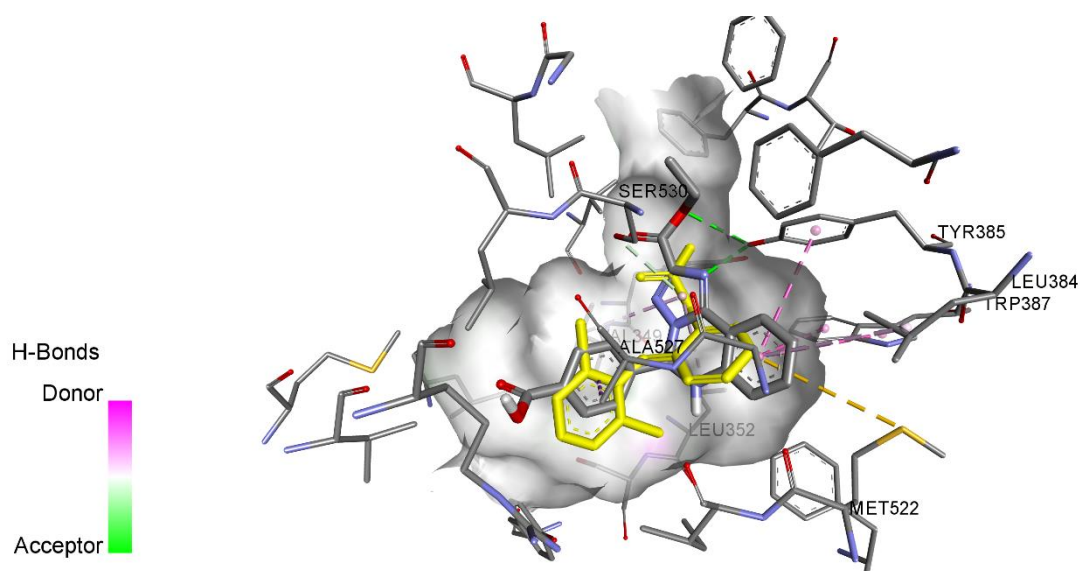


Рис. 4.3 Сумісна конформація сполуки SI32E з нативним диклофенаком (жовта молекула) в активному сайті COX-1

4.3 Молекулярний докінг у активний сайт циклооксигенази-2

Валідність використаної методики та відтворюваність розміщення в активному сайті референс-ліганду – диклофенаку, візуалізація процедури ре-докінгу зображена на рис. 4.4

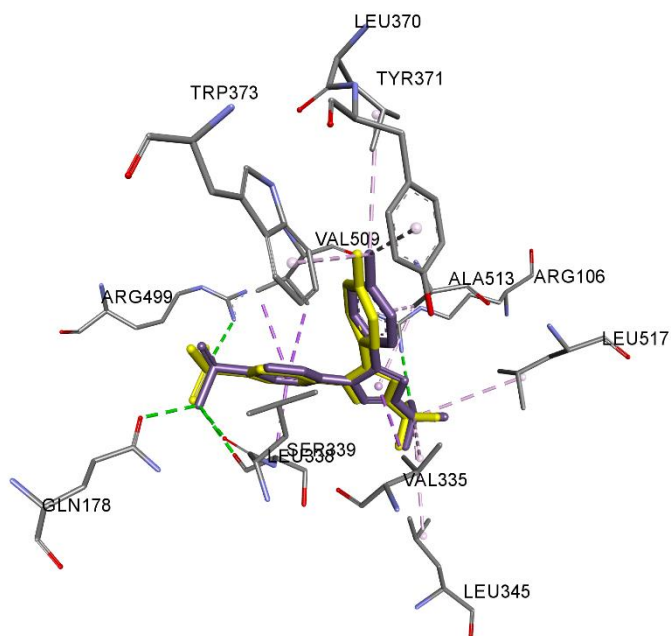


Рис. 4.4 Візуалізація ре-докінгу референс-ліганду диклофенаку (жовта молекули) відносно його нативного положення (сіра молекула) у COX-1

Докінгом в активний сайт COX-2 визначено високу ступінь афінності ліганда SI32E, хоча і дещо гіршу ніж у препарату порівняння: -11.1 ккал/моль щодо -12.2 ккал/моль у целекоксибу. Фіксація у гідрофобній кишені відбуваються виключно за рахунок взаємодій з амінокислотними залишками, які формують активний сайт в експерименті [76]. Слід зазначити, що прогнозується зв'язок з неполярними амінокислотними залишками – валіном (Val509, 335), аланіном (Ala513) та лейцином (Leu338) (довжина <4 Å), які є магістральними для створення стійкої конформації та прояву інгібувальної здатності коксибів (рис. 4.5).

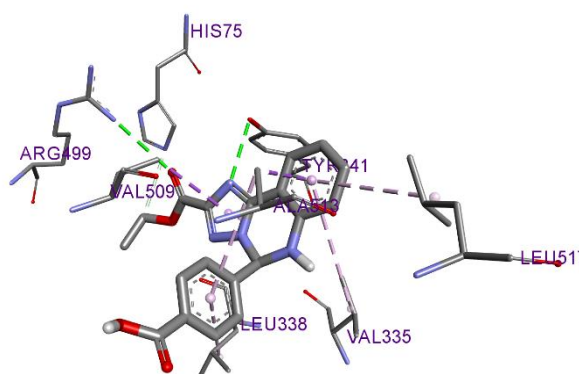


Рис. 4.5 Взаємодія сполуки SI32E з амінокислотними залишками активного сайту COX-2

Деталізація сумісної конформації лігандів SI32E та целекоксибу (рис. 4.6) демонструє виключну подібність просторової фіксації та накладання структурних фрагментів, зокрема 4-карбоксифенільного та 4-метилфенільного, трифтормельного та етоксикарбонільного радикалів, а також піридинового та піразолового гетероциклів, відповідно. Така конформація, характер та довжина зв'язків свідчить про високу афінність лігандна SI32E до сайту целекоксибу та можливість реалізації протизапальної активності через інгібування COX-2.

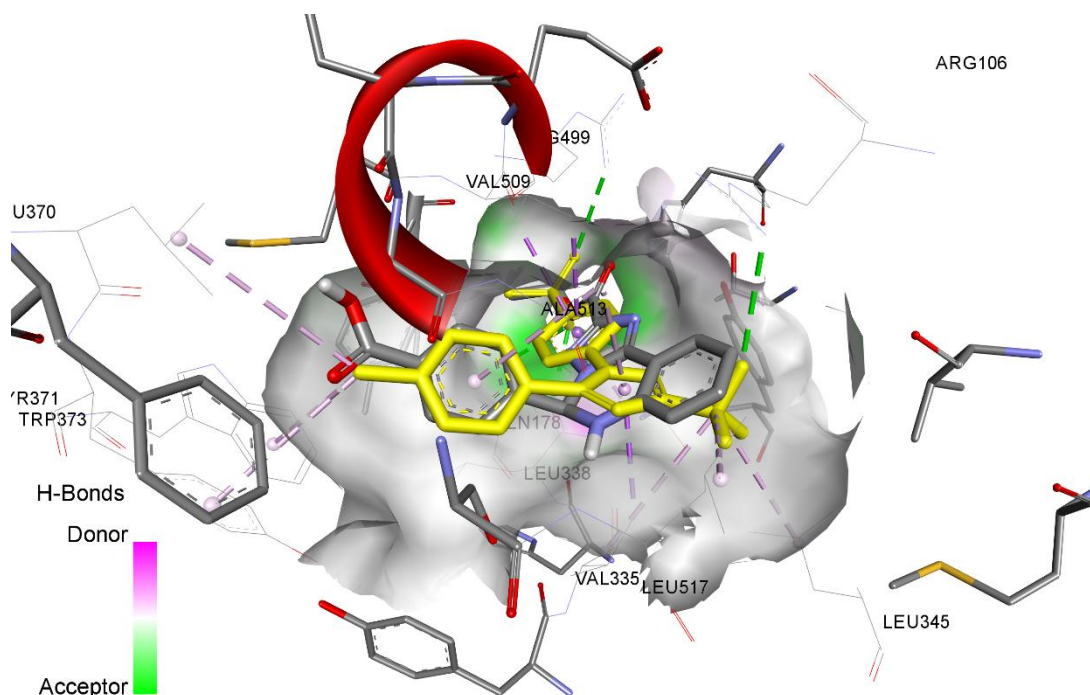


Рис. 4.6 Сумісна конформація сполуки SI32E з нативним диклофенаком (жовта молекула) в активному сайті COX-1

Отже, за результатами *in silico* дослідження більш вірогідним шляхом реалізації протизапальної активності 4-(2-(етоксикарбоніл)-5,6-дигідро[1,2,4]триазоло[1,5-с]хіназолін-5-іл)бензойна кислоти (SI32E) є інгібування COX-2 через сайт целекоксибу, що корелює з результатами *in vivo* експерименту – карагенінового набряку лапи щурів. Ймовірним є і здатність інгібувати COX-1 через сайт диклофенаку, однак дане ствердження потребує додаткової перевірки, а саме досліджень по інгібуванню COX-1 в експериментах *in vitro*.

ВИСНОВКИ

1. Проведено узагальнення літературних наукових даних щодо фармакологічної активності похідних хіназоліну, триазолу та триазолохіназолінів, охарактеризовані основні напрямки формування триазолохіназолінового кільця та можливість його функціоналізації, означена перспективність пошуку БАР, зокрема протизапальних, в ряду похідних триазолохіназолінів.
2. Розраховано задовільні параметри ADME для 4-(2-(етоксикарбоніл)-5,6-дигідро-[1,2,4]триазоло[1,5-с]хіназолін-5-іл)бензойної кислоти (SI32E) та спрогнозовано її високу пероральну біодоступність.
3. За результатами розрахунку токсичності визначено, що сполука SI32E належить до IV класу токсичності та є придатною для подальших поглиблених *in vivo* досліджень – гострої токсичності, цитотоксичності, нейротоксичності та інших.
4. Визначені біологічні мішені для *in silico* досліджень, ґрунтуючись на результатах протизапальної активності на моделі карагенанового набряку лапи щурів.
5. Валідовані методологічні характеристики процедури докінгу щодо референтних нативних лігандів – диклофенаку та целекоксибу – інгібіторів циклооксигенази-1 та циклооксигенази-2, відповідно.
6. За результатами розрахунку афінності та аналізу конформаційного розміщення в активних сайтах відносно нативних лігандів визначено молекулярний механізм реалізації активності сполука SI32E: інгібування ЦОГ-2 є механізмом протизапальної активності, інгібування ЦОГ-1 є також ймовірним, проте ця властивість має бути доведена в експериментах *in vitro*.

СПИСОК ВИКОРСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Quinazoline and quinazolinone as important medicinal scaffolds: a comparative patent review (2011-2016) / A. Hameed et al. *Expert Opin Ther Pat.* 2018. . Vol. 28. P. 281-297.
2. Anti-inflammatory drug discovery. RSC drug discovery series № 26 / eds. J. I. Levin, S. Laufer. Cambridge : Royal Society of Chemistry, 2012. 528 p.
3. Padoley K. V., Mudliar S. N., Pandey R. A. Heterocyclic nitrogenous pollutants in the environment and their treatment options – An overview. *Bioresource Technology.* 2008. Vol. 99. P. 4029–4043.
4. An overview of quinazolines: Pharmacological significance and recent developments / V. Alagarsamy et al. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 2018. Vol. 151. P. 628–685.
5. Synthesis, analgesic, anti-inflammatory and antibacterial activities of some novel 2-methylthio-3-substituted quinazolin-4-(3H)-ones / V. Alagarsamy et al. *Biological and Pharmaceutical Bulletin.* 2004. Vol. 27. P. 652–656.
6. Rakesh K. P., Manukumar H. M., Gowda D. C. Schiff's bases of quinazolinone derivatives: synthesis and SAR studies of a novel series of potential anti-inflammatory and antioxidants. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters.* 2015. Vol. 25. P. 1072–1077.
7. Design, synthesis, and biological evaluation of novel quinazoline derivatives as anti-inflammatory agents against lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats / J. Hu et al. *Chemical Biology Drug Design.* 2015. Vol. 85. P. 672–684.
8. Synthesis and molecular docking of novel 1,3-thiazole derived 1,2,3-triazoles and in vivo biological evaluation for their antianxiety and anti-inflammatory activity / K. N. Ankali et al. *Journal of Molecular Structure.* 2021. Vol. 123 (6). P. 130357.

9. Bansal R., Malhotra A. Therapeutic progression of quinazolines as targeted chemotherapeutic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2021. Vol. 211. P. 113016.
10. Beneficial effects of non-quinazoline α 1-adrenolytics on hypertension and altered metabolism in fructose-fed rats. A comparison with prazosin / M. Kubacka et al. *Nutrition, Metabolism Cardiovascular Diseases*. 2019. Vol. 29. P. 751–760.
11. Design, synthesis, and biological evaluation of 1,2,4-triazole bearing 5-substituted biphenyl-2-sulfonamide derivatives as potential antihypertensive candidates / J. Liu et al. *Bioorganic Medicinal Chemistry*. 2013. Vol. 21. P. 7742–7751.
12. Quinazolinone and quinazoline derivatives: recent structures with potent antimicrobial and cytotoxic activities / E. Jafari et al. *Research in Pharmaceutical Sciences*. 2016. Vol. 11. P. 1–14.
13. Antimicrobial activity of new 2-thioxo-benzo[g]quinazolin-4(3H)-one derivatives / R. Al-Salahi et al. *Medicinal Chemistry*. 2017. Vol. 13 (1). P. 85–92.
14. Design and synthesis of new indanol-1,2,3-triazole derivatives as potent antitubercular and antimicrobial agents / P. S. Phatak et al. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*. 2020. Vol. 30. P. 127579.
15. 1,2,3-triazole-thiazole hybrids: Synthesis, in vitro antimicrobial activity and antibiofilm studies / R. Gondru et al. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*. 2021. Vol. 33. P. 127746.
16. Novel isoniazid embedded triazole derivatives: Synthesis, antitubercular and antimicrobial activity evaluation / P. S. Patil et al. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*. 2020. Vol. 30. P. 127434.
17. 1,2,3-Triazole β -lactam conjugates as antimicrobial agents / R. Kaur et al. *Heliyon*. 2020. Vol. 6. P. e04241.
18. Design, synthesis and structure-activity relationships of 4-phenyl-1H-1,2,3-triazole phenylalanine derivatives as novel HIV-1 capsid inhibitors with

- promising antiviral activities / L. Sun et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2020. Vol. 190. P. 112085.
19. Asymmetric synthesis of novel triazole derivatives and their in vitro antiviral activity and mechanism of action / X. Cao et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017. Vol. 139. P. 718–725.
20. Synthesis and in vitro anticancer evaluation of some fused indazoles, quinazolines and quinolines as potential EGFR inhibitors / E. A. Abdelsalam et al. *Bioorganic Chemistry*. 2019. Vol. 89. P. 102985.
21. Synthesis, biological evaluation, and structure-activity relationships of new tubulin polymerization inhibitors based on 5-amino-1,2,4-triazole scaffold / F. Yang et al. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*. 2021. Vol. 38. P. 127880.
22. Discovery of antiproliferative and anti-FAK inhibitory activity of 1,2,4-triazole derivatives containing acetamido carboxylic acid skeleton / M. Mustafa et al. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*. 2021. Vol. 40. P. 127965.
23. Synthesis and anticancer activity evaluation of naphthalene-substituted triazole spirodienones / L. Luo et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2021. Vol. 213. P. 113039.
24. Synthesis, antioxidant and anti-tyrosinase activity of 1,2,4-triazole hydrazones as antibrowning agents / Z. Peng et al. *Food Chemistry*. 2021. Vol. 341. P. 128265.
25. Antiproliferative and antiangiogenic properties of new VEGFR-2-targeting 2-thioxobenzo[g]quinazoline derivatives (In Vitro) / H. A. Abuelizz et al. *Molecules*. 2021. Vol. 25 (24). P. 594.
26. Synthesis, characterization, and antioxidant and anticancer activity of 1,4-disubstituted 1,2,3-triazoles / I. Şahin et al. *Journal of Molecular Structure*. 2021. Vol. 1232. P. 13004.

27. Antioxidant and anti-sickling activity of glucal-based triazoles compounds – An in vitro and in silico study / R. V. Veloso et al. *Bioorganic Chemistry*. 2021. Vol. 109. P. 104709.
28. Devipriya D., Roopan S. M. UV–light intervened synthesis of imidazo fused quinazoline and its solvatochromism, antioxidant, antifungal and luminescence properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2019. Vol. 190. P. 42–49.
29. Antioxidant activities and molecular docking of 2-thioxobenzo[g]quinazoline derivatives / R. Al–Salahi et al. *Pharmacological Reports*. 2019. Vol. 71. P. 695–700.
30. Molecular docking and anticonvulsant activity of newly synthesized quinazoline derivatives / H. A. Abuelizz et al. *Molecules*. 2017. Vol. 22 (7). P. 1094
31. Asif M. Chemical characteristics, synthetic methods, and biological potential of quinazoline and quinazolinone derivatives. *International Journal of Medicinal Chemistry*. 2014. Vol. 6. P. 395637.
32. Kharb R., Sharma P. C., Yar M. S. Pharmacological significance of triazole scaffold. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2011. Vol. 26. P. 1–21.
33. 2-Heteroaryl-[1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazoline-5(6H)-thiones and their S-substituted derivatives: Synthesis, spectroscopic data, and biological activity / A. K. Bilyi et al. *Chem. Plus.Chem.* 2015. Vol. 80. P. 980.
34. Substituted 1,2,3-triazolo[1,5-a]quinazolines: synthesis and binding to benzodiazepine and adenosine receptors / L. Bertelli et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2000. Vol. 35. P. 333–341.
35. Al–Salahi R. A., Geffken D. Synthesis and reactivity of [1,2,4]triazolo-annulated quinazolines. *Molecules*. 2010. Vol. 15. P. 7016–7034.
36. Break L. M., Abdelnabi Mosselhi M., Elshafai N. M. Nucleosides 8 [18]: ribosylation of fused quinazolines synthesis of new [1,2,4]triazolo[5,1-b] and

- [1,2,4]triazino[3,2-b]quinazoline nucleosides of fluorescence interest. *Journal of Chemistry*. 2013. Vol. 45. P. 612756.
37. Murdoch R., Tully W. R., Westwood R. Synthesis of [1,2,4]triazoloquinazolinones and imidazoquinazolinones. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 1986. Vol. 23. P. 833–841.
38. Synthesis and pharmacological investigation of novel 4-(2-methylphenyl)-1-substituted-4H-[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazolin-5-ones as new class of H1-antihistaminic agents / V. Alagarsamy et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2008. Vol. 43. P. 2331–2337.
39. Elmorsy M. A., El-Messery S. M., Nasr M. N. A. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study of [1,2,4]-triazolo[4,3-c]quinazolines: New class of EGFR-TK inhibitors / W. A. Ewes et al. *Bioorganic Medicinal Chemistry*. 2020. Vol. 28. P. 115373.
40. 5,6-dihydro-[1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazolines. Message 4. Spirocompounds with [1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazolines moieties: The synthesis and spectral characteristics / S. V. Kholodnyak et al. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2016. Vol. 14. P. 55.
41. Retro Diels-Alder protocol for regioselective synthesis of novel [1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrimidin-7(1H)-ones / A. I. Said et al. *RSC Advances*. 2020. Vol. 10. P. 33937–33943.
42. 2-Methylsulfanyl-1,2,4-triazolo[1,5-a]quinazoline-5(4H)-thione / R. Al-Salahi et al. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*. 2013. Vol. 69. P. o434.
43. 2-Methylsulfonyl-1,2,4-triazolo[1,5-a]quinazolin-5(4H)-one / R. Al-Salahi et al. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*. 2012. Vol. 68. P. o1806.
44. Characteristics and anti-inflammatory activity / V. Stavytskyi et al. *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii*. 2020. Vol. 1. P. 61–70.
45. Angular regioselectivity in the reactions of 2-thioxopyrimidin-4-ones and hydrazonoyl chlorides: synthesis of novel stereoisomeric

- octahydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazolin-5-ones / A. I. Said et al. *Molecules*. 2020. Vol. 25. P. 5673.
46. Al-Salahi R., Geffken D. Synthesis of novel 2-methylsulfanyl-4H-[1,2,4]triazolo[1,5-a]quinazolin-5-one and derivatives. *Synthetic Communications*. 2011. Vol. 41. P. 3512–3523.
47. 1,8-Disubstituted xanthine derivatives: synthesis of potent A2B-selective adenosine receptor antagonists / A. M. Hayallah et al. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2002. Vol. 45. P. 1500–1510.
48. Derivatives of the triazoloquinazoline adenosine antagonist (CGS 15943) having high potency at the human A(2B) and A3 receptor subtypes / Y. C. Kim et al. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1998. Vol. 41. P. 2835–2845.
49. Clasby M. C., Samuel C., Andrew S. Preparation of triazoloquinazoline amine as adenosine A2a receptor antagonists. *PCT International Application*. 2008. WO 2008002596 A2.
50. Design and Synthesis of 1-Substituted-4-(4-Nitrophenyl)-[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazolin-5(4H)-ones as a new class of antihistaminic agents / M. Gobinath et al. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2020. Vol. 46. P. 403–408.
51. Synthesis of 4-(2-ethylphenyl)-1-substituted [1,2,4]triazoloquinazolin-5(4H)-ones for their H1-antihistamine activity / V. Alagarsamy et al. *International Journal of Drug Design Discovery*. 2010. Vol. 1. P. 49–56.
52. Antihistamine activity of 1,2,4-triazolo[1,5-a]quinazolines / R. Al-Salahi et al. *Asian Journal of Chemistry*. 2014. Vol. 26. P. 8617–8619.
53. A practical green visit to the functionalized [1,2,4]triazolo[5,1-b]quinazolin-8(4H)one scaffolds using group-assisted purification (GAP) chemistry and their pharmacological testing / D. M. Patel et al. *Chem. Select*. 2019. Vol. 4. P. 1031–1041.
54. Synthesis and characterization of novel N-(phenyl, benzyl, hetaryl)-2-([1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazolin-2-ylthio)acetamides by spectral data, antimicrobial activity, molecular docking, and QSAR studies / L. M.

- Antypenko et al. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2017. Vol. 54. P. 1267–1278.
55. 1-R-2-([1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazoline-2-ylthio)ethanon(ol)s: Synthesis, bioluminescence inhibition, molecular docking studies, antibacterial and antifungal activities / L. M. Antypenko et al. *Current Computational Aided Drug Design*. 2016. Vol. 12. P. 29–41.
56. R. Al-Salahi, E.D. Rabab, M. Mohamed, Antibacterial Activity of Newly Synthesized 5-Hydrazono-triazoloquinazolines, *Lat. Amer. J. Pharm.* 34 (2015) 1594–1600.
57. [1,2,4]Triazolo[4,3-c]quinazoline and bis([1,2,4]triazolo)[4,3-a:4',3'-c]quinazoline derived DNA intercalators: Design, synthesis, in silico ADMET profile, molecular docking and anti-proliferative evaluation studies / K. El-Adl et al. *Bioorganic Medicinal Chemistry*. 2021. Vol. 30. P. 115958.
58. Synthesis, anticancer, and QSAR studies of 2-alkyl (aryl, hetaryl)quinazolin-4(3H)-thiones and [1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazoline-2-thione's thioderivatives / O. M. Antypenko et al. *Helvetica Chimica Acta*. 2016. Vol. 99. P. 621–631.
59. Synthesis, characterization, and cytotoxicity evaluation of 5-hydrazono-[1,2,4]triazolo[1,5-a]quinazolines (Part I) / R. Al-Salahi et al. *Latin American Journal of Pharmacy*. 2016. Vol. 35. P. 58–65.
60. Synthesis and anticonvulsant activity evaluation of 4-phenyl-[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazolin-5(4H)-one and its derivatives / H. Zhang et al. *Archiv der Pharmazie (Weinheim)*. 2015. Vol. 348. P. 564–574.
61. Synthesis and anticonvulsant activity of 5-substituted-[1,2,4]triazolo[4,3-a]quinazolines / D. Xianqing et al. *Chinese Journal of Organic Chemistry*. 2011. Vol. 31. P. 2082–2087.
62. Biological effects of a new set of 1,2,4-triazolo[1,5-a]quinazolines on heart rate and blood pressure / R. Al-Salahi et al. *Chemical Central Journal*. 2014. Vol. 8. P. 3.

63. Alagarsamy V., Pathak U. S. Synthesis and antihypertensive activity of novel 3-benzyl-2-substituted-3H-[1,2,4]triazolo[5,1-b]quinazolin-9-ones. *Bioorganic Medicinal Chemistry*. 2007. Vol. 15. P. 3457–3462.
64. Synthesis and anti-inflammatory evaluation of some new quinazoline derivatives / S. M. Mosaad et al. *International Journal of Pharmacology*. 2005. Vol. 1. P. 261–266.
65. Synthesis and anti-inflammatory evaluation of new 2- and 3-substituted 1,2,4-triazolo(4,3-c) and (1,5-c)quinazoline derivatives / M. M. Gineinah et al. *Medicinal Chemistry Research*. 2000. Vol. 10. P. 243–252.
66. Cytotoxic and Anti-Inflammatory Active Methylsulfanyltriazoloquinazolines / R. Al-Salahi et al. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 2013. Vol. 7. P. 189–198.
67. 5+1-Heterocyclization as preparative approach for carboxy-containing triazolo[1,5-c]quinazolines with anti-inflammatory activity / N. Krasovska et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2024. Vol. 266. P. 16137.
68. Protein Data Bank. URL: <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> (Date of access: 11.05.2024).
69. Vane J. R., Botting R. M. Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *American Journal of Medicine*. 1998. Vol. 104. P. 2S–8S.
70. Martel–Pelletier J. Therapeutic role of dual inhibitors of 5-LOX and COX, selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2003. Vol. 62, № 6. P. 501–509. DOI: <https://doi.org/10.1136/ard.62.6.501>.
71. Trott O., Olson A. J. AutoDock Vina, Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. 2010. Vol. 31. P. 455–461.

72. Molecular docking investigation of anti-inflammatory herbal compounds as potential LOX-5 and COX-2 inhibitors / L. Vyshnevskaya et al. *Pharmacia*. 2022. Vol. 69. P. 733–744. DOI: 10.3897/pharmacia.69.e89400.
73. 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.
74. Markers of inflammation / D. R. Germolec et al. *Methods in Molecular Biology*. 2018. Vol. 1803. P. 57–79. DOI: 10.1007/978-1-4939-8549-4_5.
75. Comparison of cyclooxygenase-1 crystal structures: cross-talk between monomers comprising cyclooxygenase-1 homodimers / R. S. Sidhu et al. *Biochemistry*. 2010. Vol. 49. P. 7069–7079. DOI: 10.1021/bi1003298.
76. The novel benzopyran class of selective cyclooxygenase-2 inhibitors. Part 2: The second clinical candidate having a shorter and favorable human half-life / J. L. Wang et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2010. Vol. 20. P. 7159–7163.

ДОДАТКИ

DETERMINATION OF MOLECULAR MECHANISMS OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF A [1,2,4]TRIAZOLO[1,5-c]QUINAZOLINE DERIVATIVE

Kultenko M. V.

Scientific supervisor: Severina H. I.

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

rita20021603029@gmail.com

Introduction. Non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are among the most widely used medications for treatment of pain, fever, inflammation etc. Mechanism of their action as usual associated with inhibition of cyclooxygenases (COX) and biosynthesis of inflammation mediators – prostaglandins. However, abovementioned mechanisms inseparably associated with various side effects including ulcerogenicity, hepatotoxicity, nephrotoxicity, and others. Abovementioned side effects frequently observed during the long-term administration of NSAIDs. Thus, improvement of the NSAIDs safety profile is one of the most urgent tasks of modern medicinal chemistry and pharmacology. Current anti-inflammatory therapeutics focus mainly on reducing the production or

16

Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю
«YOUTH PHARMACY SCIENCE»

activity of inflammatory eicosanoids or certain cytokines or blocking their receptors, while others can block lymphocyte trafficking into tissues, prevent the binding of monocyte-lymphocyte costimulatory molecules, or reduce the number of circulating B lymphocytes. Under the guidance of Professor Kovalenko S.I. Kovalenko, the expressed anti-inflammatory activity of the new derivative [1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazolin was synthesized and proved in animal experiments.

Aim. The aim of our study was to determine the molecular mechanisms of anti-inflammatory activity of the 4-(2-(ethoxycarbonyl)-5,6-dihydro[1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazolin-5-yl)benzoic acid.

Materials and methods. BIOVIA Draw 2021, AutoDockTools-1.5.6., AutoDock Vina, Discovery Studio Visualizer 2021 programs were used for experiments.

Research results. The *in silico* study of compound 3.2 affinity to the active sites of key for inflammatory processes enzymes COX-1 and COX-2 was conducted. The quantitative characteristic of ligand affinity towards the COX-1 exceeds the values of reference compound diclofenac (-9.2 kcal/mol and -8.5 kcal/mol correspondingly). However it should be mentioned that ligand forms hydrogen bonds via ethoxycarbonyl group (Ser530, 2.52 Å) and Nitrogen of triazole cycle (Tyr385, 2.67 Å). At the same time carboxylic group does not take part in fixation of conformation. The formation of the interactions with methionine (Met522) and leucine (Leu384) was established. The latter are not amino acids of active site but are visualized in the nearest environment at fixation of diclofenac. It was estimated that ligand has high affinity towards the COX-2 enzyme. However, the affinity of studied compound (-11.1 kcal/mol) is slightly inferior to the affinity of the reference compound celecoxib (-12.2 kcal/mol). The fixation in hydrophobic pocket occurs solely via interactions with amino acid moieties that form active sites in experiment. It should be noted that interactions with non-polar amino-acids moieties valine (Val509, 335), alanine (Ala513) and leucine (Leu338) (length < 4 Å) that are essential for formation of stable conformations and coxib's inhibitory effects were observed as well.

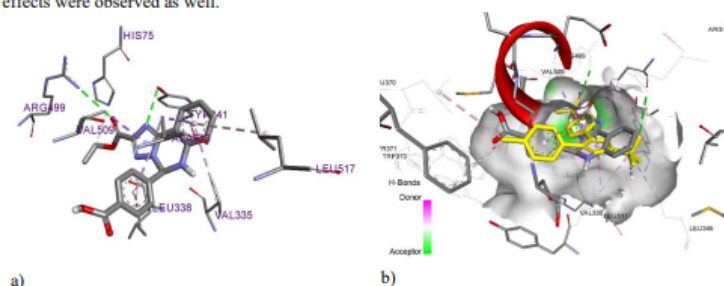


Fig. Interaction of ligand with amino acid's moieties of COX-2 active site (a) and combined conformation with native celecoxib (b) (yellow molecule)

Conclusion. The results *in silico* studies established the COX-2 inhibition as probable mechanism of anti-inflammatory activity of 4-(2-(ethoxycarbonyl)-5,6-dihydro[1,2,4]triazolo[1,5-c]quinazolin-5-yl)benzoic acid. Molecular docking showed the possibility of COX-1 inhibitory activity of obtained compounds, abovementioned property should be proven by experiments *in vitro*.



Міністерство
охорони здоров'я
України

Національний
фармацевтичний
університет



СЕРТИФІКАТ

Цим засвідчується, що

Kultenko M. V.

Науковий керівник:
Severina H. I.

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

**YOUTH
PHARMACY
SCIENCE**

Ректор НФаУ,
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

10-11 грудня 2024 р.
м. Харків,
Україна