

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

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: «Молекулярні аспекти протизапальної активності
біологічноактивних речовин *Matricaria discoidea*»

Виконав: здобувачка вищої освіти групи Фм21(4,6з)-01
спеціальності: 226 Фармація, промислова фармація
освітньо-професійної програми Фармація
Марина КОВТУН

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

Рецензент: професор закладу вищої освіти кафедри
фармакогнозії та нутріціології, д.фарм.н., професор
Надія БУРДА

Харків – 2026 рік

АНОТАЦІЯ

За результатами прогнозування спорідненості, а також детального аналізу конформаційного розміщення та характеру взаємодії з амінокислотними залишками активних сайтів ферментів (COX-1, COX-2 та LOX-5), було встановлено молекулярні механізми реалізації протизапального ефекту біологічно активних речовин, ідентифікованих в екстрактах *Matricaria discoidea*.

Робота складається зі вступу, 4 розділів, загальних висновків і списку використовуваної літератури, що складається зі 46 джерел. Робота викладена на 51 сторінці та містить 6 таблиць, 10 рисунків.

Ключові слова: *Matricaria discoidea*, молекулярний докінг, протизапальна дія, циклооксигеназа, ліпооксигеназа.

ANNOTATION

Based on affinity prediction and detailed analysis of conformational positioning and interactions with amino acid residues of the active sites of enzymes (COX-1, COX-2, and LOX-5), the molecular mechanisms underlying the anti-inflammatory effects of biologically active compounds identified in *Matricaria discoidea* extracts were elucidated.

The thesis consists of an introduction, four chapters, general conclusions, and a list of references comprising 46 sources. The manuscript is presented on 51 pages and includes 6 tables and 10 figures.

Keywords: *Matricaria discoidea*, molecular docking, anti-inflammatory activity, cyclooxygenase, lipoxygenase.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень	5
Вступ	7
РОЗДІЛ 1	МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ ОСНОВИ
	ЗАПАЛЕННЯ ТА ЙОГО ФАРМАКОЛОГІЧНІ
	МІШЕНІ
1.1	Сучасні уявлення про молекулярні механізми запалення та їх біологічне значення 11
1.1.1	Арахідонатний каскад та роль циклооксигеназного шляху у запаленні 11
1.1.2	Ліпооксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти 14
1.1.3	Участь факторів транскрипції в запаленні 15
1.1.4	Значення прозапальних цитокінів 16
1.1.5	Оксидативний стрес і індукцйбельна NO-синтаза 16
1.2	Роль фенолкарбонових кислот у регуляції запальної відповіді 17
1.2.1	Антиоксидантні та протизапальні властивості хлорогенових кислот. 17
1.2.2	Кумарини та їх протизапальна активність 20
1.2.3	Терпеноїди ефірної олії та їх внесок у протизапальну активність 21
1.3	Історичні аспекти та наукові дані щодо застосування Ромашки пахучої (<i>Matricaria discoidea</i>) 24
РОЗДІЛ 2	ОБГОВОРЕННЯ ФІТОХІМІЧНОГО ПРОФІЛЮ
	ЕКСТРАКТІВ <i>MATRICARIA DISCOIDEA</i> ЯК ОСНОВИ ЇХ
	БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ
	ДОСЛІДЖЕННЯ
2.1	Фітохімічний склад ефірної олії та сухих екстрактів <i>Matricaria discoidea</i> 27

2.2	Обговорення результатів знеболюючої активності екстрактів	29
2.3	Молекулярний докінг біологічно активних речовин <i>Matricaria discoidea</i> з запальними мішенями	30
РОЗДІЛ 3	МОЛЕКУЛЯРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ СПОРІДНЕНOSTІ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН MATRICARIA DISCOIDEA ДО COX-1 ТА COX-2	33
3.1	Структура активного центру та відмінності зв'язування лігандів	33
3.2	Результати молекулярного докінгу біологічно активних речовин в COX-1	34
3.3	Результати молекулярного докінгу біологічно активних речовин в COX-2	39
	Висновки до розділу 3	42
РОЗДІЛ 4	МОЛЕКУЛЯРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ СПОРІДНЕНOSTІ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН MATRICARIA DISCOIDEA ДО LOX-5	44
4.1	Структура активного центру LOX-5	44
4.2	Результати молекулярного докінгу біологічно активних речовин в LOX-5	45
	Висновки до розділу 4	48
	ВИСНОВКИ	50
	СПИСОК ВИКОРСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	52
	ДОДАТКИ	56

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

AA – арахідонова кислота

AP-1 (Activator Protein-1) – активаторний білок-1, транскрипційний фактор

АТР – аденозинтрифосфат

BLT1, BLT2 – рецептори лейкотрієну B₄ (LTB₄)

Ca²⁺ – іони кальцію

CGA (Chlorogenic Acid) – хлорогенова кислота

COX (Cyclooxygenase) – циклооксигеназа

COX-1 – циклооксигеназа-1 (конститутивна форма)

COX-2 – циклооксигеназа-2 (індуцибельна форма)

CysLT1, CysLT2 – рецептори цистеїніл-лейкотрієнів

DC – ботанічне скорочення імені Augustin Pyramus de Candolle

DP1, DP2 – рецептори простагландину D₂

DUOX – дуал-оксидаза

EP1–EP4 – рецептори простагландину E₂

ERK (Extracellular Signal-Regulated Kinase) – позаклітинно регульована протеїнкіназа

FLAP (5-Lipoxygenase-Activating Protein) – активуючий білок 5-ліпооксигенази

FP – рецептор простагландину F_{2α}

GPCR (G-Protein-Coupled Receptor) – рецептор, сполучений з G-білком

HETE (Hydroxyeicosatetraenoic Acid) – гідроксіейкозатетраєнова кислота

HO-1 (Heme Oxygenase-1) – гемоксигеназа-1

HPETE (Hydroperoxyeicosatetraenoic Acid) – гідропероксіейкозатетраєнова кислота

IKK (IκB Kinase) – кіназа інгібітора κB

IL (Interleukin) – інтерлейкін

IP – рецептор простацикліну (PGI₂)

iNOS (Inducible Nitric Oxide Synthase) – індукцибельна NO-синтаза

JAK (Janus Kinase) – кіназа Януса

JNK (c-Jun N-terminal Kinase) – c-Jun-N-кінцева протеїнкіназа

LOX (Lipoxygenase) – ліпооксигеназа

LPS (Lipopolysaccharide) – ліпополісахарид

LT (Leukotriene) – лейкотрієн

LTA₄, LTB₄, LTC₄, LTD₄, LTE₄ – лейкотрієни відповідних класів

LTA₄H (LTA₄ Hydrolase) – гідролаза лейкотрієну A₄

LTC₄S (LTC₄ Synthase) – синтаза лейкотрієну C₄

LX (Lipoxin) – ліпоксин

MRP1 (Multidrug Resistance-Associated Protein-1) – білок мультилікарської резистентності-1

NF-κB (Nuclear Factor kappa B) – ядерний фактор κB

NO (Nitric Oxide) – оксид азоту

NOX (NADPH Oxidase) – NADPH-оксидаза

Nrf2 (Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2) – ядерний фактор, пов'язаний з антиоксидантною відповіддю

PCA (Principal Component Analysis) – аналіз головних компонент

PG (Prostaglandin) – простагландин

PGD₂, PGE₂, PGF_{2α}, PGI₂ – простагландини відповідних типів

PGHS (Prostaglandin H Synthase) – синтаза простагландину H

PGIS (Prostacyclin Synthase) – синтаза простацикліну

RAW – лінія мишачих макрофагів

ROS (Reactive Oxygen Species) – активні форми кисню

STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription) – сигнальний трансдуктор і активатор транскрипції

TRP (Transient Receptor Potential) – канали транзиторного рецепторного потенціалу

TNF-α (Tumor Necrosis Factor alpha) – фактор некрозу пухлин альфа

TXA₂ (Thromboxane A₂) – тромбоксан A₂

TXAS (Thromboxane Synthase) – синтаза тромбоксану

НПЗП – нестероїдні протизапальні препарати

ВСТУП

Актуальність дослідження. Запальні процеси є однією з ключових патофізіологічних ланок розвитку широкого спектра захворювань, зокрема хронічних запальних, аутоімунних, серцево-судинних, нейродегенеративних та онкологічних патологій. Незважаючи на значний арсенал синтетичних нестероїдних протизапальних засобів, їх тривале застосування часто супроводжується розвитком серйозних побічних ефектів, включаючи гастротоксичність, нефротоксичність та кардіоваскулярні ускладнення [1]. У зв'язку з цим зростає науковий і практичний інтерес до пошуку безпечних та ефективних протизапальних агентів природного походження.

Представники роду *Matricaria*, зокрема *Matricaria chamomilla* та *Matricaria discoidea*, традиційно застосовуються в народній та офіційній медицині як протизапальні засоби. Їх фармакологічна активність пов'язана з наявністю комплексу біологічно активних речовин, серед яких флавоноїди, фенолкарбонові кислоти, кумарини та компоненти ефірної олії. Водночас більшість наявних даних стосується загальної активності екстрактів або ефірних олій, тоді як внесок окремих компонентів у реалізацію протизапального ефекту залишається недостатньо вивченим [2].

Актуальність встановлення протизапальної активності індивідуальних компонентів екстракту *Matricaria discoidea* обумовлена необхідністю глибшого розуміння механізмів дії цих фітосполук на молекулярному та клітинному рівнях. Ідентифікація активних речовин та з'ясування їх здатності впливати на ключові ланки запальної відповіді, зокрема інгібування циклооксигенази, ліпооксигенази, факторів транскрипції, а також продукції прозапальних цитокінів, є важливим етапом у створенні науково обґрунтованих фітопрепаратів.

Крім того, встановлення протизапальної активності окремих компонентів екстракту *Matricaria discoidea* дозволяє оцінити можливі синергічні або антагоністичні взаємодії між біологічно активними речовинами, що є критично важливим для оптимізації складу

багатокомпонентних фітопрепаратів. Такий підхід сприяє підвищенню ефективності та відтворюваності дії лікарських засобів рослинного походження, а також зменшенню ризику небажаних ефектів.

Не менш важливим аспектом є перспективність використання компонентів екстракту *Matricaria* як джерела нових протизапальних субстанцій для фармацевтичної промисловості. Наукове обґрунтування їх активності створює передумови для розробки стандартизованих екстрактів, нових лікарських форм та дієтичних добавок, що відповідають сучасним вимогам доказової медицини та фармацевтичної якості.

Таким чином, дослідження протизапальної активності компонентів екстракту *Matricaria* є актуальним і науково значущим завданням, яке має як фундаментальне, так і прикладне значення для розвитку сучасної фармакогнозії, фармакології та фітотерапії.

Метою дослідження є встановлення молекулярних механізмів протизапальної активності біологічно активних речовин, ідентифікованих в екстрактах ромашки пахучої (*Matricaria discoidea*).

Для досягнення поставленої мети важливо було вирішити наступні завдання дослідження:

- проаналізувати сучасні наукові дані щодо молекулярних механізмів запалення та ролі ферментів циклооксигеназного і ліпооксигеназного шляхів у розвитку запальної відповіді.
- Дослідити фітохімічний склад екстрактів *Matricaria discoidea* та ідентифікувати основні біологічно активні речовини поліфенольної природи.
- Провести молекулярний докінг ідентифікованих біологічно активних сполук до активних сайтів ферментів COX-1, COX-2 та LOX-5.
- Проаналізувати енергетичні параметри зв'язування, конформаційне розміщення лігандів та характер їх взаємодії з амінокислотними залишками активних сайтів досліджуваних ферментів.

- Оцінити потенційну селективність біологічно активних речовин щодо індукованих ферментів запалення на основі результатів *in silico* досліджень.
- Узагальнити отримані результати та обґрунтувати перспективність використання *Matricaria discoidea* як джерела протизапальних біологічно активних речовин.

Об'єкт дослідження – молекулярні механізми протизапальної дії біологічно активних речовин ромашки пахучої (*Matricaria discoidea*).

Предмет дослідження – біологічно активні речовини, ідентифіковані в екстрактах ромашки пахучої, та їх взаємодія з ферментативними молекулярними мішенями, залученими до розвитку запальної відповіді.

Методи дослідження. Для моделювання взаємодії біологічно активних речовин ромашки пахучої з молекулярними мішенями застосовано методи *in silico* досліджень. Віртуальні експерименти проводилися з використанням програмного забезпечення BIOVIA Draw 2017 для побудови та візуалізації молекулярних структур, BIOVIA Discovery Studio 2021 для підготовки білкових мішеней та аналізу міжмолекулярних взаємодій, AutoDock Vina та AutoDock Tools для автоматичного молекулярного докінгу й розрахунку енергетичних параметрів зв'язування, а також OpenBabel для перетворення форматів молекулярних файлів і оптимізації просторових структур.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати створюють наукове підґрунтя для визначення протизапального та анальгетичного потенціалу ромашки пахучої й можуть бути використані при розробці нових фітопрепаратів на основі *Matricaria discoidea*. Встановлені молекулярні механізми дії біологічно активних речовин сприятимуть оптимізації подальших фармакологічних досліджень завдяки кореляції «фармакологічний ефект – механізм дії – експериментальна модель *in vivo*».

Апробація результатів дослідження і публікації. За результатами досліджень опубліковано 1 тези у Міжнародній internet-конференції «Modern chemistry of medicines» 2025 (7 листопада 2025р.) (Додаток А).

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, чотири розділи, висновки, список використаної літератури та додатки. Робота складається з 51 сторінки, містить 6 таблиць, 10 рисунків. У списку використаної літератури наведено 46 джерел літератури.

РОЗДІЛ 1

МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ ОСНОВИ ЗАПАЛЕННЯ ТА ЙОГО ФАРМАКОЛОГІЧНІ МІШЕНІ

1.1 Сучасні уявлення про молекулярні механізми запалення та їх біологічне значення

Запалення є еволюційно сформованою захисною реакцією організму на ушкодження тканин або дію інфекційних агентів, що спрямована на елімінацію шкідливого чинника, обмеження зони ураження та ініціацію репаративних процесів. На молекулярному рівні запальна відповідь реалізується через скоординовану активацію клітин вродженого й адаптивного імунітету, ендотелію, фібробластів та епітеліальних клітин, а також через індукцію медіаторів запалення, які змінюють судинну проникність, хемотаксис, ноцицепцію та метаболізм тканин [3].

Ключовими «вузлами» регуляції запалення вважаються арахідонатний каскад (ейкозаноїди), сигнальні шляхи, що контролюють транскрипцію прозапальних генів (NF- κ B, AP-1, STAT), цитокінова мережа (TNF- α , IL-1 β , IL-6), а також механізми, пов'язані з оксидативним стресом і продукцією оксиду азоту (NO) за участю індукцибельної NO-синтази (iNOS). Саме ці ланки є найбільш типовими фармакологічними мішенями протизапальних засобів, включно з фітосполуками [4].

1.1.1 Арахідонатний каскад та роль циклооксигеназного шляху у запаленні

Арахідонова кислота (AA) є центральним попередником синтезу ейкозаноїдів—біологічно активних ліпідних медіаторів, які відіграють ключову роль у регуляції запальної відповіді, судинного тонуусу, агрегації тромбоцитів, бронхіальної реактивності та ноцицепції. Після вивільнення з мембранних фосфоліпідів під дією фосфоліпази A₂ арахідонова кислота метаболізується за

участю циклооксигеназного та ліпооксигеназного шляхів, серед яких провідне значення у розвитку запалення має саме циклооксигеназний каскад [4].

Циклооксигеназа (COX) є біфункціональним мембранозв'язаним ферментом, який послідовно каталізує дві реакції. На першому етапі арахідонова кислота за участю оксигеназної активності перетворюється на нестабільний простагландин G_2 (PGG_2), а на другому—за участю пероксидазної активності—на більш стабільний простагландин H_2 (PGH_2). У зв'язку з цим циклооксигеназу також називають простагландин-Н-синтазою (PGHS) [5]. Утворений PGH_2 є універсальним попередником для синтезу різних простаноїдів, і подальша його біотрансформація має клітинно- та тканинно-специфічний характер. Відомі дві основні ізоформи циклооксигенази COX-1 і COX-2, які відрізняються регуляцією експресії та біологічною функцією. COX-1 є конститутивною ізоформою, що постійно експресується в більшості тканин і забезпечує базальний синтез простагландинів, необхідних для підтримання фізіологічного гомеостазу, зокрема захисту слизової оболонки шлунково-кишкового тракту, регуляції ниркового кровотоку та агрегації тромбоцитів. Натомість COX-2 є індукцибельною формою ферменту, експресія якої різко зростає під впливом прозапальних цитокінів, бактеріальних ліпополісахаридів (LPS), факторів росту та пухлинних промоторів. Саме COX-2 відіграє провідну роль у надмірному синтезі простагландинів у вогнищі запалення. Подальший метаболізм PGH_2 здійснюється за участю специфічних синтаз, локалізованих у різних типах клітин. Так, тромбоксансинтаза (TXAS) експресується переважно в тромбоцитах і макрофагах та каталізує утворення тромбоксану A_2 (TXA_2), який проявляє вазоконстрикторну та проагрегантну дію. Простациклінсинтаза (PGIS), локалізована в ендотеліальних клітинах, відповідає за синтез простацикліну (PGI_2), який, навпаки, чинить вазодилатуючий та антиагрегантний ефекти. Простагландин-F-синтаза (PGFS) представлена, зокрема, в тканинах матки та забезпечує утворення $PGF_{2\alpha}$. Простагландин-D-синтази (PGDS) існують у двох формах і виявляються в клітинах мозку та опастистих клітинах [4]. Особливу увагу привертає

мікросомальна простагландин-Е-синтаза-1 (mPGES-1), що належить до родини мембраноасоційованих білків метаболізму ейкозаноїдів і глутатіону. Цей фермент є одним з ключових у синтезі простагландину E₂ (PGE₂), який є одним з найважливіших медіаторів запалення. На відміну від COX-1, mPGES-1 функціонально пов'язана з COX-2 і індукується за запальних умов, що робить її перспективною мішенню для селективної протизапальної терапії. Простаноїди, утворені внаслідок дії зазначених ферментів, реалізують свої біологічні ефекти через специфічні рецептори, пов'язані з G-білками (GPCR). На сьогодні ідентифіковано дев'ять простаноїдних рецепторів, які селективно зв'язують PGD₂ (DP₁, DP₂), PGE₂ (EP₁–EP₄), PGF_{2α} (FP), PGI₂ (IP) та TXA₂ (TP) [6]. Простагландини, насамперед PGE₂, є ключовими медіаторами запалення та болю. PGE₂ відповідає за розвиток класичних симптомів запалення, таких як гіперемія, набряку та больової чутливості, що зумовлює особливий інтерес до ферментів його біосинтезу як терапевтичних мішеней. У зв'язку з цим циклооксигеназа тривалий час залишається однією з найпопулярніших мішеней протизапальної терапії. Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) інгібують активність COX-1 і COX-2, знижуючи утворення прозапальних простаноїдів, зокрема PGE₂, що забезпечує їх аналгетичну та протизапальну дію. Однак неселективне пригнічення COX-1 асоціюється з небажаними побічними ефектами з боку шлунково-кишкового тракту та центральної нервової системи. Це зумовило розробку селективних інгібіторів COX-2 (коксибів), які демонстрували виражену протизапальну активність при зменшенні гастротоксичності [7]. Водночас подальші клінічні спостереження, зокрема відкликання препарату рофекоксиб у 2004 році через підвищений ризик серцево-судинних ускладнень, поставили під сумнів безпеку цього підходу. У зв'язку з цим на сучасному етапі значна увага приділяється пошуку альтернативних мішеней у межах арахідонатного каскаду. Однією з таких перспективних мішеней є mPGES-1, селективне інгібування якої дозволяє зменшити синтез PGE₂ без істотного впливу на інші простаноїди, що

потенційно може забезпечити ефективну протизапальну дію з кращим профілем безпеки [7].

1.1.2 Ліпооксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти

Ліпооксигеназний шлях в організмі людини включає три основні ферменти: 5-, 12- та 15-ліпооксигенази (LO), які перетворюють арахідонову кислоту на їх відповідні прозапальні гідропероксидкозатетраєнові кислоти (HPETEs). Ці проміжні сполуки потім відновлюються до відповідних алкохолів–HETEs. Взаємодія 5-LO з 12-LO або 15-LO є відповідальною за синтез ліпоксинів, які беруть участь у зворотному розвитку запалення та відновленні тканин. 5-LO, який є ключовим ферментом цього шляху, є діоксигеназою, що каталізує два етапи біосинтезу лейкотрієнів (LT), залежно від ко-факторів Ca^{2+} і АТФ, а також взаємодії з білками, такими як 5-LO активуючий білок (FLAP). На відміну від 12-LO та 15-LO, 5-LO каталізує другий етап окислення, що веде до утворення епоксидлейкотрієну LTA_4 з 5-HPETE [8]. Лейкотрієни є паракринними ліпідними медіаторами, які регулюють вроджену імунну відповідь і відіграють важливу роль у розвитку хронічних запальних захворювань, таких як астма та атеросклероз. Також розглядається можливий зв'язок між лейкотрієнами та розвитком раку [9].

Лейкотрієни функціонують через рецептори, зв'язані з G-білками (GPCRs). На сьогодні виділено та клонується чотири лейкотрієнові рецептори: два рецептори цистеїнових лейкотрієнів (CysLT1 та CysLT2) і два рецептори LTB_4 (BLT1 та BLT2). Цистеїнові лейкотрієни беруть участь в реакціях негайної гіперчутливості та є потужними скорочувачами гладкої мускулатури дихальних шляхів, що спричиняє бронхokonстрикцію, тоді як LTB_4 виступає хемотактичним агентом для запальних клітин, таких як нейтрофіли, макрофаги та еозинофіли [10].

Препарати, що впливають на ліпооксигеназний шлях, можуть діяти на різних етапах: інгібування 5-LO, інгібування FLAP, інгібування LTA_4H , а також антагонізм лейкотрієнових рецепторів. За останні 25 років були розроблені

інгібітори 5-LO, але єдиним препаратом, що був зареєстрований на ринку США, є зилетон (fig. 1), що застосовується для лікування астми, хоча його використання обмежується через токсичність для печінки та короткий період напіврозпаду. [11].

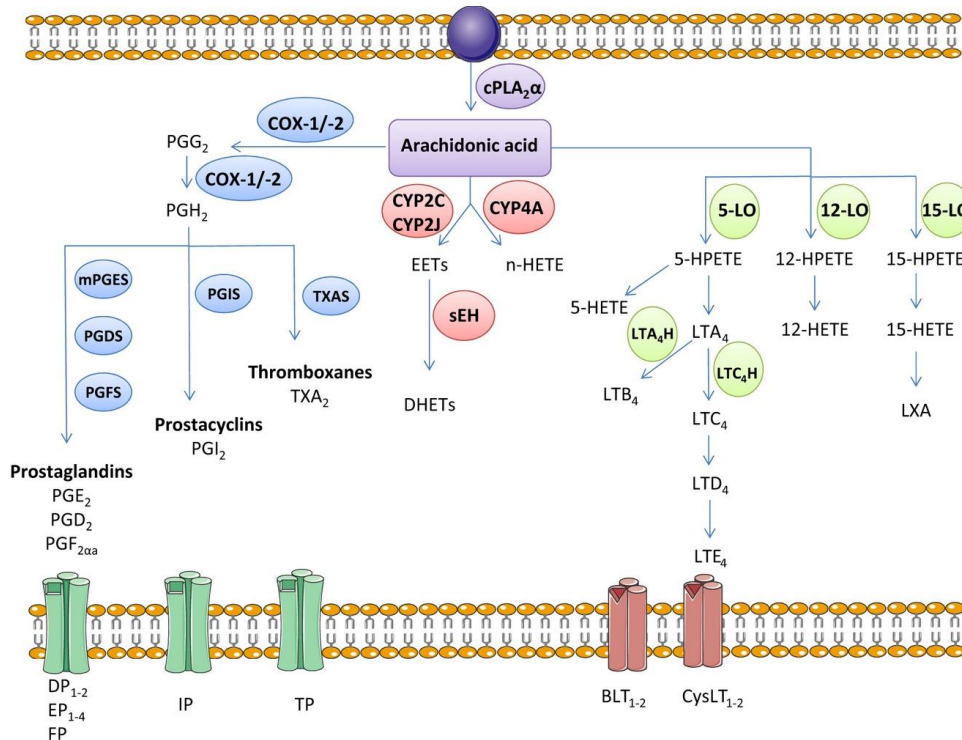


Рис.1.1 Схематичний огляд основних ферментів, що беруть участь у каскаді арахідонової кислоти [12].

1.1.3 Участь факторів транскрипції в запаленні

Молекулярна інтенсивність запалення значною мірою визначається активацією факторів транскрипції, які запускають експресію «пакета» прозапальних генів. Провідне місце серед них займає NF-κB—універсальний регулятор, що контролює транскрипцію цитокінів (TNF-α, IL-1β, IL-6), хемокінів, молекул адгезії (ICAM-1, VCAM-1), ферментів запалення (COX-2, iNOS) та білків гострої фази. За відсутності стимулу NF-κB утримується в цитоплазмі інгібітором IκB; після активації рецепторів вродженого імунітету (наприклад, TLR) або під дією TNF-α/IL-1β відбувається фосфорилування й деградація IκB, що дозволяє NF-κB транслокуватися в ядро й активувати транскрипцію [13, 14].

AP-1 (комплекс білків родин Jun/Fos) активується переважно через MAPK-каскади (ERK, JNK, p38) у відповідь на стресові сигнали та цитокіни. AP-1 регулює експресію генів, пов'язаних із запаленням, ремоделюванням матриксу та проліферацією, тому має значення при хронічному запаленні та фіброзі [15? 16].

STAT-білки (особливо STAT1/STAT3) є ефекторами JAK/STAT-сигналіngu, що активується цитокінами та факторами росту. STAT3 часто розглядають як ключову ланку, яка підтримує хронічне запалення, виживання клітин та патологічну проліферацію; STAT1, навпаки, асоціюється з інтерферон-опосередкованими відповідями. Таким чином, модулювання NF-κB/AP-1/STAT розглядають як перспективний напрям протизапальної терапії, зокрема для природних поліфенолів [17, 18].

1.1.4 Значення прозапальних цитокінів

Цитокіни формують «комунікаційну мережу» запалення та забезпечують взаємодію між імунними клітинами й тканинами. TNF-α є одним із ранніх і найбільш потужних медіаторів: він активує ендотелій (підвищує експресію молекул адгезії), стимулює продукцію інших цитокінів, посилює проникність судин та сприяє розвитку системних проявів запалення. IL-1β має подібну роль, підсилює лихоманку, больову чутливість і експресію COX-2; його біологічна активність тісно пов'язана з інфламасомною активацією та процесингом про-IL-1β до активної форми. IL-6 виконує подвійну функцію: з одного боку, підтримує гостру фазу та диференціацію імунних клітин, а з іншого—при тривалому підвищенні асоціюється з хронізацією запалення і системними метаболічними ефектами [19].

1.1.5 Оксидативний стрес і індукцйбельна NO-синтаза

В осередку запалення активовані нейтрофіли та макрофаги продукують активні форми кисню (АФК) як механізм антимікробного захисту. Однак надлишкова генерація АФК призводить до оксидативного стресу, пероксидації

ліпідів, ушкодження білків і ДНК та посилює тканинну деструкцію. Оксидативний стрес також виступає сигнальним стимулом, що підтримує активацію NF- κ B і MAPK-каскадів, формуючи «порочне коло» хронічного запалення [20].

Окреме місце займає оксид азоту (NO), синтез якого при запаленні різко зростає через індукцію iNOS у макрофагах, ендотеліальних і деяких інших клітинах. Фізіологічно NO виконує регуляторні функції, але його надмірна продукція, особливо в присутності супероксид-аніону, сприяє утворенню пероксинітриту та розвитку нітрозативного стресу. iNOS, як і COX-2, є «індукованим» ферментом, експресія якого часто контролюється NF- κ B. Тому зниження експресії/активності iNOS та нормалізація редокс-балансу є важливими маркерами протизапальної дії, зокрема для поліфенольних сполук рослинного походження [21].

Отже, сучасна концепція запалення ґрунтується на взаємопов'язаній роботі арахідонатного каскаду (COX/LOX-медіатори), транскрипційних регуляторів (NF- κ B, AP-1, STAT), цитокінової мережі (TNF- α , IL-1 β , IL-6) та редокс-залежних механізмів (АФК/NO, iNOS). Саме ці ланки формують науково обґрунтовані «точки прикладання» для протизапальних агентів.

1.2 Роль фенолкарбонових кислот у регуляції запальної відповіді

1.2.1. Антиоксидантні та протизапальні властивості хлорогенових кислот.

Упродовж останніх років інтерес до вивчення протизапальних механізмів хлорогенових (CGA) (рис. 1.2) суттєво зріс, що зумовлено накопиченням експериментальних даних, які підтверджують її багатоспрямований вплив на ключові ланки запального процесу. На молекулярному рівні хлорогенова кислота здатна модулювати синтез і вивільнення основних прозапальних медіаторів, зокрема TNF- α , NO, COX-2 та PGE₂. Встановлено, що CGA пригнічує активацію макрофагів і моноцитів,

унаслідок чого знижується продукція прозапальних цитокінів. Паралельно спостерігається зменшення біосинтезу NO та супероксид-аніону, що обмежує поширення запального сигналу та знижує інтенсивність оксидативного і нітрозативного стресу. За умов індукованої експресії COX-2, характерної для гострого та хронічного запалення, хлорогенова кислота зменшує утворення PGE₂, тим самим запобігаючи запально індукованому ушкодженню тканин [22].

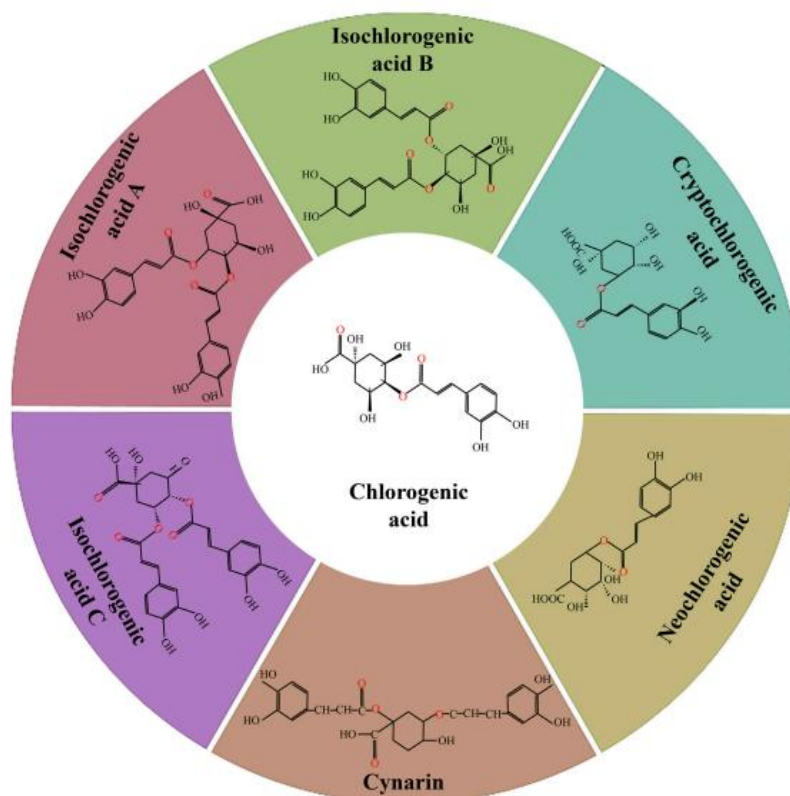


Рис. 1.2 Молекулярна будова хлорогенової кислоти та її ізомерів [23].

Молекулярні механізми протизапальної дії CGA пов'язані з модифікацією внутрішньоклітинних сигнальних каскадів. Зокрема, хлорогенова кислота пригнічує активацію транскрипційного фактора NF-κB шляхом інгібування фосфорилування його регуляторних компонентів, що перешкоджає ядерній транслокації NF-κB і подальшій експресії прозапальних генів [22].

Важливим елементом механізму дії хлорогенової кислоти є активація антиоксидантного захисту через Nrf2-залежний сигнальний шлях. Активація

Nrf2 супроводжується підвищенням експресії ферментів антиоксидантного захисту, зокрема гемоксигенази-1 (HO-1) та NAD(P)H-хіноноксидоредуктази-1 (NQO-1), що корелює зі зниженням секреції прозапальних цитокінів. Таким чином, протизапальний ефект CGA значною мірою опосередковується її антиоксидантною дією та здатністю нормалізувати клітинний редокс-баланс [24].

Окремі дослідження свідчать, що похідні хлорогенової кислоти, зокрема дикофеїлхінні кислоти, можуть проявляти більш виражену протизапальну активність порівняно з монокофеїлхініними сполуками. Це пов'язують із наявністю катехольних фрагментів та більшої кількості гідроксильних груп у молекулі, що підсилює як антиоксидантний потенціал, так і здатність до інгібування синтезу прозапальних медіаторів [22].

Дані, отримані La Rosa та співавт. (2023), переконливо демонструють, що хлорогенова кислота реалізує свій протизапальний ефект через первинний вплив на редокс-гомеостаз клітини. Зокрема, показано достовірне зниження внутрішньоклітинного рівня супероксид-аніону та мітохондріальних активних форм кисню, що супроводжується пригніченням експресії та активності NADPH-оксидаз. Оскільки NADPH-оксидази є одним з основних джерел ROS у клітинах та відіграють ключову роль у підтриманні запального сигналіngu, їх інгібування хлорогеновою кислотою можна розглядати як базовий механізм, що лежить в основі подальшого гальмування прозапальних каскадів. Важливо, що антиоксидантний ефект CGA проявлявся як за базальних умов, так і в моделі TNF- α -індукованого запалення, що свідчить про її здатність ефективно протидіяти як фізіологічному, так і патологічному оксидативному стресу [25].

Подальший аналіз результатів дозволяє зробити висновок, що зниження рівня ROS є не лише наслідком, але й ключовим регуляторним чинником протизапальної дії хлорогенової кислоти. Автори показали, що TNF- α -індукована активація NF- κ B та MAPK/ERK-сигнального шляху у клітинах повністю або частково нівелюється за присутності CGA, причому цей ефект не посилюється додатковим застосуванням фармакологічного інгібітора NADPH-

оксидаз. Це вказує на те, що хлорогенова кислота діє переважно через пригнічення NOX-залежної генерації ROS, які виступають вторинними месенджерами для активації NF-κB та ERK. Таким чином, протизапальний ефект CGA має чітко виражений опосередкований характер: антиоксидантна дія – зниження ROS – пригнічення NF-κB-залежної транскрипції прозапальних генів. Отримані результати підтверджують концепцію, згідно з якою фенолкарбонові кислоти можуть розглядатися як регулятори запалення через контроль клітинного редокс-стану, а не лише як прямі інгібітори окремих запальних медіаторів [25].

1.2.2 Кумарини та їх протизапальна активність

Кумарини (2H-1-бензопіран-2-они) є великою групою природних фенольних сполук, широко поширених у рослинному світі. За даними оглядових досліджень, на сьогодні ідентифіковано понад 1300 природних кумаринів, багато з яких проявляють виражену біологічну активність, включно з протизапальною, антиоксидантною, антикоагулянтною та імуномодулювальною дією [26]. Значний інтерес до кумаринів як фармакологічно активних сполук зумовлений їх відносно низькою токсичністю, природним походженням і здатністю впливати на декілька молекулярних мішеней одночасно, що є особливо важливим у контексті багатофакторної природи запалення.

Протизапальна активність кумаринів реалізується через вплив на ключові ферментні та сигнальні ланки запального процесу. Показано, що прості кумарини та їх гідрокси- і метокси-заміщені похідні здатні інгібувати активність індукцибельної NO-синтази та COX-2, що призводить до зниження синтезу оксиду азоту та простагландинів, зокрема PGE₂ [26]. Окрім цього, деякі кумарини пригнічують ліпооксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти та зменшують утворення лейкотрієнів, що додатково обмежує розвиток запальної реакції.

Важливим механізмом дії кумаринів є їх здатність модулювати внутрішньоклітинні сигнальні каскади. Експериментальні дослідження показали, що низка кумаринових сполук пригнічує активацію транскрипційного фактора NF- κ B, зменшуючи експресію прозапальних цитокінів, таких як TNF- α , IL-1 β та IL-6, у макрофагах та інших імунокомпетентних клітинах. Паралельно кумарини можуть впливати на MAPK-сигнальний шлях, знижуючи фосфорилування ERK, JNK та p38, що обмежує транскрипцію генів, відповідальних за підтримання запального стану [27].

Окремої уваги заслуговує антиоксидантний компонент протизапальної дії кумаринів. Показано, що деякі представники цієї групи здатні ефективно нейтралізувати активні форми кисню та інгібувати утворення супероксид-аніону нейтрофілами, зменшуючи тим самим оксидативний стрес, який є потужним тригером активації прозапальних сигнальних шляхів. Саме поєднання антиоксидантної та протизапальної дії розглядається як один з ключових чинників фармакологічного потенціалу кумаринів [26].

Таким чином, літературні дані свідчать, що кумарини є багатомішеневими модуляторами запальних процесів, здатними впливати як на синтез медіаторів запалення, так і на внутрішньоклітинні сигнальні механізми та редокс-гомеостаз клітини. Це робить їх перспективними кандидатами для використання як допоміжні протизапальні агенти, особливо у складі багатокомпонентних рослинних екстрактів, де можливі синергічні взаємодії з флавоноїдами та фенолкарбоновими кислотами. Такий підхід є особливо актуальним для фітопрепаратів на основі *Matricaria discoidea*, біологічна активність яких визначається сумарною дією різних класів біологічно активних речовин.

1.2.3 Терпеноїди ефірної олії та їх внесок у протизапальну активність

Терпени – це велика група природних сполук (особливо монотерпени та сесквітерпени), які демонструють виражену протизапальну активність.

Сучасні дослідження показують, що багато терпенів здатні одночасно впливати на кілька молекулярних ланок запального процесу, зменшуючи утворення прозапальних медіаторів та пригнічуючи ключові сигнальні шляхи запалення [28]. Така багатогранна дія робить їх перспективними кандидатами для протизапальної терапії на основі природних сполук.

Основні класи терпенів – монотерпени (C₁₀) та сесквітерпени (C₁₅) – реалізують протизапальний ефект шляхом впливу на різні молекулярні мішені запалення. Зокрема, показано, що представники цих класів знижують експресію прозапальних цитокінів, а також ферментів індукцибельної iNOS та COX-2 – ключових ензимів, відповідальних за утворення оксиду азоту (NO) та простагландинів при запаленні [28]. Внаслідок такого впливу терпенів зменшується продукція зазначених медіаторів: наприклад, встановлено, що монотерпен борнеол та його похідний борнілацетат значно знижують рівень NO та PGE₂ в активованих макрофага [29].

Ліпофільна природа терпенів зумовлює їх легке проникнення через клітинні мембрани та накопичення в фосфоліпідному бішарі. Інтегруючись у мембрани, терпени можуть змінювати їхню структуру і фізико-хімічні властивості, стабілізуючи клітинні мембрани та впливаючи на функції мембранних білків. Зокрема, монотерпен борнеол виявляє властивості мембраностабілізатора: показано, що він стабілізує мембрани опасистих клітин, пригнічуючи їх дегрануляцію і вивільнення гістаміну майже на 40% [29]. Завдяки цьому борнеол чинить протизапальну та протиалергічну дію при реакціях негайного типу. Інший приклад – монотерпен фенольної природи тимол: за рахунок вираженої гідрофобності ця сполука проникає в ліпідне оточення і може безпосередньо взаємодіяти з іонними каналами. Встановлено, що тимол здатен «відключати» кальцієві канали в мембранах нейтрофілів, знижуючи притік Ca²⁺ у цитозоль, що веде до зменшення секреції кальційзалежних ферментів запалення (наприклад, нейтрофільної еластази [29]. Таким чином, модифікуючи властивості ліпідного бішару та іонну проникність, терпени опосередковано підтримують кальцієвий гомеостаз

клітин і запобігають надмірній активації запальних клітин. Мембраностабілізувальна дія терпенів доповнює їх прямий вплив на сигнальні шляхи, забезпечуючи комплексний протизапальний ефект [29].

Здатність терпенів одночасно впливати на різні ланки запальної каскаду (ферменти, медіатори, рецептори) підкреслює їхній високий терапевтичний потенціал як протизапальних засобів рослинного походження. На відміну від моноцільових синтетичних препаратів, природні терпеноїди забезпечують мультитаргетну дію – вони одночасно зменшують продукцію цитокінів, NO, метаболітів арахідонової кислоти та інших факторів запалення [28]. Сучасні наукові огляди відзначають перспективність використання терпенів та ефірних олій у медицині для корекції запальних станів [30].

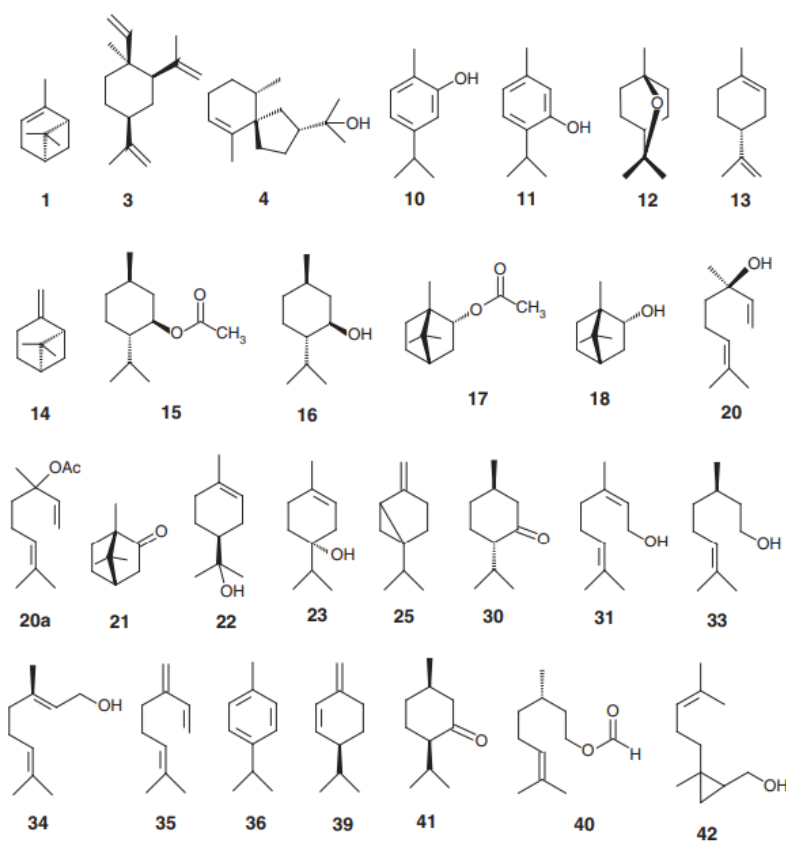


Рис. 1.3 Хімічна структура монотерпеноїдів [31].

Враховуючи їхню ефективність у доклінічних дослідженнях, терпени можуть застосовуватися як самостійно (окремі виділені сполуки, наприклад, евкаліптол у респіраторних захворюваннях), так і в складі комплексних

фітопрепаратів (багатокомпонентні екстракти та ефірні олії). Отже, терпени становлять цінну основу для створення нових протизапальних засобів з рослинної сировини, що поєднують ефективність з природним походженням та потенційно кращою безпечністю.

1.3 Історичні аспекти та наукові дані щодо застосування Ромашки пахучої (*Matricaria discoidea*)

Ромашка пахуча (*Matricaria discoidea* DC., синоніми: *Chamomilla suaveolens* (Pursh) Rydb., *Matricaria suaveolens* (Pursh) є представником роду *Chamomilla* родини *Asteraceae*. Вид широко поширений у країнах Європи та Північної Америки. Незважаючи на значні запаси дикорослої сировини, *M. discoidea* практично не залучена до промислового культивування, що обумовлює необхідність раціонального використання надземної частини рослини [32].

Історія застосування *M. discoidea* у народній медицині налічує понад століття і сягає XIX століття. Традиційно рослину використовували у вигляді водних витягів, настоїв або настоянок, зокрема як протизапальний, спазмолітичний та заспокійливий засіб. Важливим історичним фактом є те, що Фармакопея СРСР дозволяла використання *M. discoidea* для зовнішнього застосування як допоміжної лікарської рослинної сировини поряд із суцвіттями *Matricaria chamomilla* L., що свідчить про офіційне визнання її фармакологічної цінності [33].

Фітохімічні дослідження *M. discoidea* підтверджують наявність широкого спектра біологічно активних речовин. Зокрема, у складі ефірної олії рослини було ідентифіковано 44 хімічні сполуки, серед яких найбільш фармакологічно значущими вважаються (Z)-енін-дисиклоетер, (E)- β -фарнезен, гераніл ізовалеріат, мірцен та пальмітинова кислота [34]. Встановлено, що кількісний вміст ефірної олії в різних надземних органах рослини не має статистично значущих відмінностей, що робить доцільним використання всієї трави *M.*

discoidea, а не лише суцвіть, з метою підвищення виходу лікарської рослинної сировини та оптимізації біомасообігу [34].

Квітки *Matricaria discoidea* DC. характеризуються вираженим ароматом, подібним до ромашки лікарської, однак морфологічно відрізняються відсутністю білих язичкових квіток [35]. Надземна частина цього виду містить близько 10 % поліфенольних сполук, серед яких переважають похідні гідроксикоричних кислот, а також кумарини – герніарин (7-метоксикумарин) та умбеліферон (7-гідроксикумарин) [36]. Ці сполуки належать до простих кумаринів і розглядаються як важливі компоненти біологічної активності екстрактів *M. discoidea*, доповнюючи дію флавоноїдів і фенолкарбонових кислот [36]. Літературні дані свідчать, що прості кумарини здатні впливати на ключові молекулярні механізми запалення, що обґрунтовує їх роль як модуляторів запальної відповіді [37].

Експериментальними дослідженнями встановлено, що герніарин і умбеліферон проявляють протизапальну активність шляхом інгібування синтезу основних медіаторів запалення. Зокрема, для герніарину показано здатність пригнічувати експресію індукцибельної NO-синтази (iNOS) та циклооксигенази-2 (COX-2), що супроводжується зниженням утворення оксиду азоту та простагландину E₂ (PGE₂) [38]. Важливим механізмом протизапальної дії герніарину та умбеліферону є модуляція внутрішньоклітинних сигнальних каскадів.

Окремої уваги заслуговує вплив кумаринів *M. discoidea* на кальцієвий сигналінг. Відомо, що іони Ca²⁺ відіграють ключову роль в активації імунних клітин та індукції iNOS. Літературні дані свідчать, що прості кумарини здатні модулювати кальцієві канали або Ca²⁺-залежні сигнальні механізми, що опосередковано призводить до зниження продукції NO та прозапальних цитокінів. Такий механізм розглядається як додатковий шлях протизапальної дії герніарину та умбеліферону [39].

Основними компонентами ефірної олії *M. discoidea* є β-фарнезен, гераніл ізовалеріат та (Z)-спіроетер [37] (рис. 1.2).

Figure 2. Structures of selected representatives characterized in *M. recutita* root dichloromethane extracts.

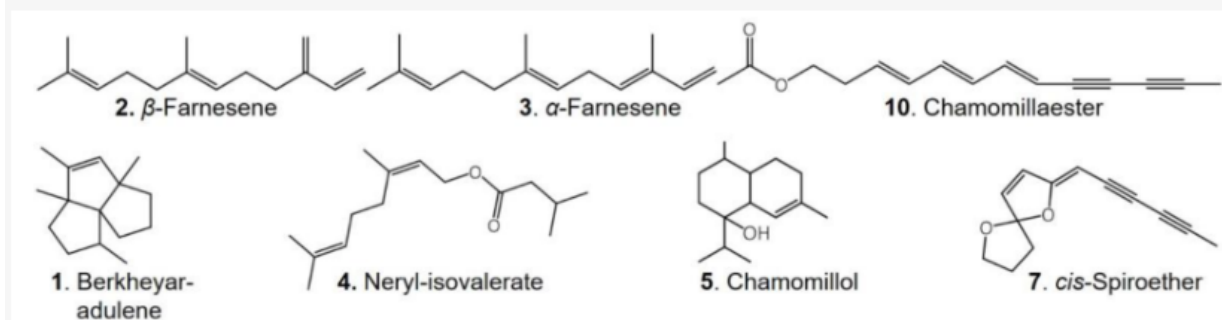


Рис. 1.2 Компоненти ефірної олії *M. discoidea* [37] (рис. 1.2).

Дослідження, проведені Cantrell та співавторами, продемонстрували виражену інсектицидну та репелентну активність ефірної олії цієї рослини, що розширює потенційні напрями її практичного використання [38].

На сьогодні *Matricaria discoidea* здебільшого використовується у практиці народної медицини у формі водних відварів або спиртових настоек, застосування яких не повною мірою узгоджується з принципами сучасної фармацевтичної технології та може знижувати прихильність пацієнтів до лікування. Разом із тим вторинні фракції, що утворюються в процесі виробництва настоек і ефірних олій, характеризуються високим вмістом біологічно активних сполук, проте залишаються недостатньо залученими до фармацевтичного використання. У цьому контексті актуальним є розроблення інноваційних підходів до комплексної переробки *M. discoidea* та вдосконалення наявних технологічних рішень з метою отримання ефективних лікарських препаратів і дієтичних добавок рослинного походження.

РОЗДІЛ 2

ОБГОВОРЕННЯ ФІТОХІМІЧНОГО ПРОФІЛЮ ЕКСТРАКТІВ *MATRICARIA DISCOIDEA* ЯК ОСНОВИ ЇХ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження фітохімічного профілю лікарських рослин є ключовою передумовою для розуміння механізмів їх біологічної дії та наукового обґрунтування фармакологічного потенціалу. *Matricaria discoidea* DC. привертає значну увагу як джерело біологічно активних речовин різної хімічної природи, зокрема терпенів ефірної олії, фенольних кислот, флавоноїдів та кумаринів, які можуть діяти синергічно та зумовлювати протизапальні й аналгетичні властивості рослини. У цьому розділі наведено обговорення фітохімічного складу екстрактів *M. discoidea*, а також описано матеріали і методи, використані для отримання біологічно активних сполук і експериментального підтвердження їх фармакологічної дії.

2.1 Фітохімічний склад ефірної олії та сухих екстрактів *Matricaria discoidea*

Фітохімічний аналіз показав, що ефірна олія *Matricaria discoidea* характеризується відносно простою, але домінантною терпеноїдною композицією. Ідентифіковані дев'ять основних терпенових компонентів формують близько 96 % загального складу ефірної олії, що свідчить про її високу хімічну однорідність та потенційно прогнозовану біологічну активність.

На відміну від ефірної олії, сухі екстракти *M. discoidea* характеризуються значно складнішим фенольним профілем. За допомогою методу UPLC-MS/MS у сухих екстрактах (P1–P3) ідентифіковано загалом 16 фенольних сполук, серед яких 7 флавоноїдів, 7 гідроксикоричних кислот та 2 фенольні кислоти (рис. 2.1). Така різноманітність фенольних компонентів підтверджує поліфункціональний характер біологічної активності досліджуваних екстрактів [32].

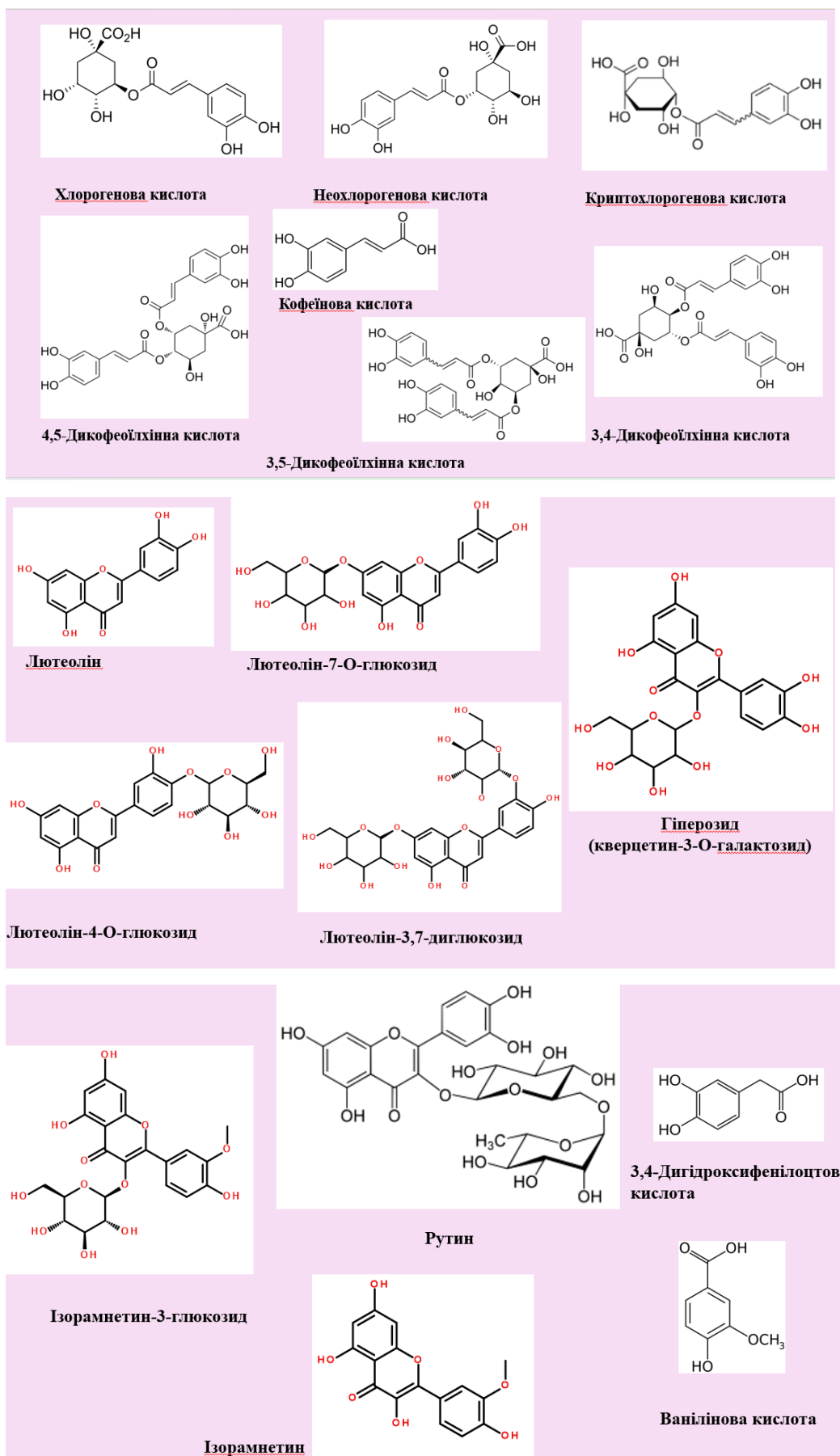


Рис. 3.1 Хімічний склад екстрактів *M. discoidea* та об'єкти *in silico* досліджень

Кількісний аналіз виявив суттєві відмінності у фенольному профілі різних типів екстрактів *Matricaria discoidea*. Найвищий сумарний вміст фенольних сполук, гідроксикоричних кислот і флавоноїдів зафіксовано у спиртовому екстракті Р2, що зумовлено високою екстрагувальною здатністю 70 % етанолу щодо сполук середньої полярності. У цьому екстракті переважали хлорогенова кислота, лютеолін, лютеолін-7-О-глюкозид і похідні дикафеїлхінічних кислот [32].

Водний екстракт після гідродистиляції ефірної олії (Р1) також містив значні кількості фенольних кислот, що свідчить про збереження фенольних компонентів у водному залишку. Натомість екстракт Р3 характеризувався найнижчим загальним вмістом фенольних сполук, хоча містив окремі біологічно активні кислоти, зокрема хлорогенову та кофейнову. Отримані результати підтверджують, що *M. discoidea* є перспективним джерелом фенольних сполук, а їх кількісний і якісний склад істотно залежить від методу екстракції, що створює передумови для комплексної біологічної дії рослини [32]

.

2.2 Обговорення результатів знеболюючої активності екстрактів

Аналгетичну дію екстрактів трави *Matricaria discoidea* (Р1, Р2, Р3), а також препарату порівняння – диклофенак (таблетки диклофенаку, 50 мг; ПРАТ «ХІМФАРМЗАВОД «ЧЕРВОНА ЗІРКА», м. Харків, Україна) оцінювали в експерименті на мишах із використанням стандартного тесту «гарячої пластини» (hot plate test) [32]. Як препарати порівняння застосовували диклофенак (50 мг). Дослідження проводили одноразово без періоду відмивання після 14-добового періоду адаптації тварин. У досліді використовували мишей масою 22–40 г, яких випадковим чином розподіляли на 11 груп по 6 тварин. Контрольна група отримувала 0,9 % розчин натрію хлориду (1 мл/100 г). Тваринам дослідних груп вводили екстракти Р1, Р2 або Р3 у дозах 25, 50 та 100 мг/кг внутрішньошлунково за 30 хв до тестування. Після введення досліджуваних речовин тварин розміщували на

термостатованій пластині з температурою 55 °С та визначали латентний період больової реакції за часом до появи поведінкової відповіді. Реєстрацію проводили через 0,5; 1; 2; 3 та 4 години після введення. Максимальна тривалість перебування на пластині не перевищувала 60 секунд. Аналгетичну активність оцінювали за подовженням латентного періоду порівняно з контрольною групою.

Таблиця 2.1

Результати вивчення анальгетичної активності екстрактів

Агент	Група	Доза, мг/кг	30-хв	60-хв	120-хв	180-хв	240-хв
Контрольна група	1	—	7,10 ± 0,32	7,00 ± 0,50	7,05 ± 0,28	6,98 ± 0,52	6,40 ± 0,63
Екстракт-Р1	2	25	8,85 ± 0,69 [25%]	9,13 ± 0,77 [30%]*	10,67 ± 0,49 [51%]*	10,40 ± 0,55 [49%]*	9,12 ± 0,51 [42%]*
	3	50	10,15 ± 1,49 [43%]*	10,30 ± 1,01 [47%]*	12,15 ± 0,39 [72%]*	11,07 ± 0,54 [58%]*	9,65 ± 0,28 [51%]*
	4	100	10,67 ± 2,79 [50%]	12,07 ± 2,40 [72%]	11,12 ± 1,27 [58%]*	10,57 ± 1,19 [50%]*	8,87 ± 1,27 [39%]
Екстракт-Р2	5	25	10,63 ± 1,01 [50%]*	10,42 ± 0,88 [49%]*	10,72 ± 0,62 [52%]*	10,47 ± 0,67 [50%]*	9,48 ± 0,92 [48%]*
	6	50	10,98 ± 0,58 [55%]*	11,67 ± 0,53 [67%]*	12,78 ± 1,87 [81%]*	11,72 ± 1,76 [68%]*	10,10 ± 1,20 [58%]*
	7	100	11,65 ± 1,46 [64%]*	12,72 ± 1,58 [82%]*	12,55 ± 1,53 [78%]*	10,30 ± 0,94 [47%]*	9,93 ± 1,01 [55%]*
Екстракт-Р3	8	25	8,97 ± 0,83 [26%]	9,42 ± 1,31 [35%]	9,93 ± 1,11 [41%]*	9,57 ± 0,74 [37%]*	9,00 ± 0,79 [41%]*
	9	50	7,98 ± 0,47 [12%]	9,85 ± 1,17 [41%]	10,37 ± 1,21 [47%]	10,08 ± 0,99 [44%]	8,12 ± 1,02 [27%]
	10	100	9,07 ± 0,77 [28%]	10,33 ± 0,65 [48%]*	11,03 ± 0,75 [57%]*	10,25 ± 1,10 [47%]*	8,75 ± 0,60 [37%]*
Диклофенак	11	50	10,45 ± 0,73 [45%]*	10,43 ± 0,59 [49%]*	10,57 ± 0,71 [50%]*	9,50 ± 0,57 [36%]*	8,38 ± 0,33 [31%]*

2.3 Молекулярний докінг біологічно активних речовин *Matricaria discoidea* з запальними мішенями

Молекулярний докінг біологічно активних речовин *Matricaria discoidea* (БАР) проводили з використанням програмного забезпечення AutoDock Vina

та AutoDockTools 1.5.6. Як біологічні мішені використовували макромолекули з бази даних Protein Data Bank (PDB), що відіграють ключову роль у розвитку запального процесу [40].

Віртуальну бібліотеку кандидатних сполук формували за допомогою програми BIOVIA Draw 2021, збереження структур здійснювали у форматі *.mol*. Геометричну оптимізацію молекул проводили у програмі Chem3D із застосуванням алгоритму молекулярної механіки MM2. Оптимізовані структури зберігали у форматі *.pdb* та конвертували у формат *.pdbqt* за допомогою AutoDockTools 1.5.6.

Підготовку білкових мішеней здійснювали з використанням Discovery Studio Visualizer 2021, де видаляли нативні ліганди та молекули розчинника. До білкових структур додавали полярні атоми водню та виконували перетворення у формат *.pdbqt*. Параметри докінгу (розмір і центр ґраткового поля) визначали на основі положення нативних лігандів у відповідних кристалічних структурах.

Для дослідження протизапальної активності БАР *M. discoidea* як мішені обрано такі ферменти арахідонатного каскаду:

- Циклооксигеназа-1 (COX-1) – PDB ID 3N8Y; центр ґратки: $x = 33,14$; $y = -44,49$; $z = -3,76$; розмір ґратки: $24 \times 22 \times 20$ Å. Фермент досліджували у конформації з диклофенаком [41].
- Циклооксигеназа-2 (COX-2) – PDB ID 3LN1; центр ґратки: $x = 18,84$; $y = -52,89$; $z = -53,81$; розмір ґратки: $22 \times 24 \times 24$ Å. Структура містила селективний інгібітор целекоксиб [42].
- 5-ліпооксигеназа (LOX-5) – PDB ID 6NCF; центр ґратки: $x = 11,6$; $y = -23,38$; $z = -18,01$; розмір ґратки: $30 \times 28 \times 26$ Å. Структура містила природний неконкурентний інгібітор – пентациклічну тритерпеноїдну кислоту (АКВА) у активному сайті [43].

Молекулярний докінг виконували за допомогою AutoDock Vina з використанням стандартних параметрів. Аналіз енергій зв'язування, типів

міжмолекулярних взаємодій та візуалізацію комплексів ліганд–білок здійснювали у програмі Discovery Studio Visualizer 2021 Client.

Вибір ферментів COX-1, COX-2 та LOX-5 як біологічних мішеней дозволяє оцінити потенційну здатність біологічно активних речовин *Matricaria discoidea* модулювати ключові ланки арахідонатного каскаду та обґрунтувати їх можливу протизапальну активність на молекулярному рівні.

РОЗДІЛ 3

МОЛЕКУЛЯРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ СПОРІДНЕНOSTІ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН MATRICARIA DISCOIDEA ДО COX-1 ТА COX-2

3.1 Структура активного центру та відмінності зв'язування лігандів

Обидві ізоформи COX мають подібну загальну будову ($\approx 60\text{--}80\%$ гомології амінокислотних послідовностей) і функціонують як гомодимерні мембранні білки, прикріплені до ендоплазматичного ретикулу та ядерної мембрани [44]. Попри загальну схожість, активні центри COX-1 і COX-2 відрізняються просторовою організацією (рис. 3.1).

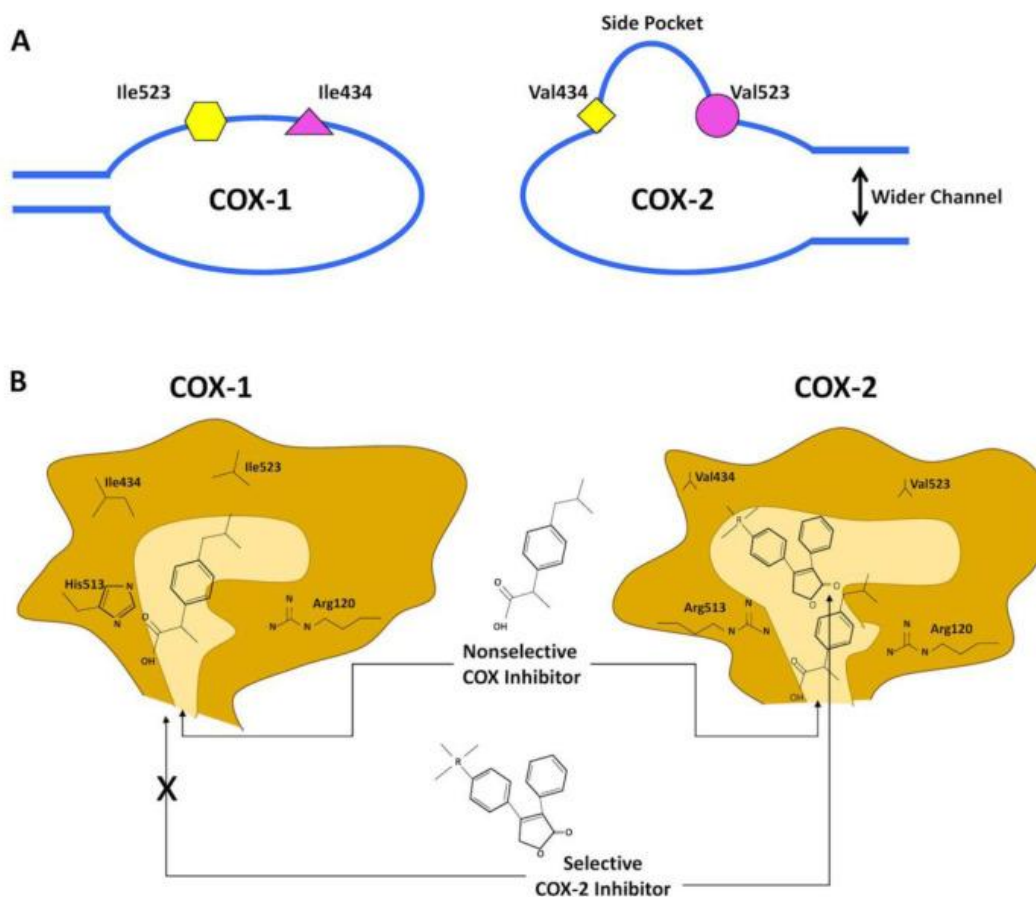


Рис. 3.1 Схематичне порівняння структурних відмінностей в активних сайтах COX-1 і COX-2.

Найважливіша різниця полягає в заміні кількох амінокислот, що вистилають канал зв'язування субстрату та інгібіторів. Зокрема, у COX-1 в положеннях 434 та 523 знаходяться залишки ізолейцину, тоді як у COX-2 на

цих позиціях – валін [41, 42]. Валін має менший бічний ланцюг, ніж ізолейцин, тому така заміна утворює в COX-2 додаткову порожнину («бічну кишеню») в активному сайті, якої немає у COX-1. Як наслідок, канал активного центру COX-2 ширший і більш гнучкий, ніж у COX-1, приблизно на 17–25% більший за об'ємом області зв'язування інгібіторів. Навпаки, в COX-1 більш громіздкі залишки (зокрема Ile434, Ile523 і His513) формують вузький «вхід» до активного центру, що перешкоджає проникненню великих лігандів [41, 42].

Описані структурні відмінності визначають селективність зв'язування субстратів та ліків. Обидва ферменти метаболізують арахідонову кислоту, проте COX-2 здатний ефективніше окиснювати також деякі інші жирні кислоти (γ-ліноленову, ейкозапентаєнову, α-ліноленову тощо), що вказує на більш «пристосований» активний центр COX-2 [41, 42]. Для лікарських засобів це критично: невеликі молекули традиційних НПЗЗ можуть зв'язуватися з обома ізоферментами, тоді як об'ємні селективні інгібітори COX-2 (коксиби) завдяки своїм крупним замісникам щільно вписуються саме в розширений активний сайт COX-2 і не можуть ефективно увійти до вузького каналу COX-1. Таким чином, на рівні структури активного центру закладено основу для вибіркової дії препаратів на той чи інший ізофермент [41, 42].

Більшість традиційних НПЗЗ неселективно інгібують і COX-1, і COX-2, забезпечуючи протизапальну та анальгетичну дію, але водночас впливаючи і на фізіологічні функції, опосередковані COX-1. Така неселективність пояснює типові побічні ефекти НПЗЗ, зумовлені пригніченням «домашнього» ферменту COX-1. Натомість селективні інгібітори COX-2 (коксиби) були створені спеціально, щоб блокувати переважно COX-2 і мінімально впливати на COX-1, тим самим зберігаючи протизапальну ефективність і зменшуючи небажані ефекти [45].

3.2 Результати молекулярного докінгу біологічно активних речовин в COX-1

За значенням афінності до активного сайту COX-1 більшість досліджуваних лігандів поступалися референс-ліганду диклофенаку, який відомий як потужний неселективний інгібітор COX-1 (табл. 3.1). Це узгоджується з фармакологічними даними щодо високої афінності диклофенаку до гідрофобної кишені активного центру ферменту та його здатності стабільно фіксуватися за рахунок розгалуженої мережі гідрофобних і водневих взаємодій [41]. Водночас результати *in silico* моделювання дозволяють виокремити низку фітосполук, які демонструють помірну, але структурно обґрунтовану спорідненість до COX-1.

Найвищу спорідненість серед досліджуваних сполук до COX-1 продемонстрували лютеолін (-8,1 ккал/моль) та ізорамнетин (-7,8 ккал/моль), значення яких наближаються до референс-препарату диклофенаку (-8,5 ккал/моль). Глікозиди флавоноїдів (лютеолін-глюкозиди, ізорамнетин-3-глюкозид, рутин, гіперозид) характеризуються різким зниженням афінності (від -0,6 до -5,6 ккал/моль), що вказує на їх обмежену здатність проникати у вузьку гідрофобну кишеню COX-1. Гідроксикоричні кислоти (хлорогенові та дикофеойліхінні) демонструють помірну афінність (-6,0...-7,1 ккал/моль), що свідчить про можливу, але не домінуючу взаємодію з COX-1.

Особливу увагу привертає істотна різниця в афінності між ізорамнетином (-7,8 ккал/моль) та його глікозидом ізорамнетин-3-глюкозидом (-1,8 ккал/моль). Така відмінність пояснюється передусім просторовими обмеженнями активного сайту COX-1, який характеризується вузьким гідрофобним каналом. Наявність полярного та об'ємного глікозидного фрагмента значно ускладнює проникнення молекули ізорамнетин-3-глюкозиду в гідрофобну кишеню ферменту, що призводить до поверхневого та нестабільного розміщення ліганда і, відповідно, до різкого зниження енергії зв'язування (рис. 3.2а). На відміну від цього, аглікони ізорамнетины завдяки своїй відносно компактній і ліпофільній структурі здатний глибоко проникати в активний сайт COX-1. Детальний аналіз міжмолекулярних взаємодій показав, що всі основні фрагменти молекули ізорамнетины стабілізуються в

активному сайті ферменту за рахунок розгалуженої мережі гідрофобних контактів (табл. 3.2).

Таблиця 3.1

Афінність БАР, виділених з ромашки пахучої, до активних сайтів біомішеней

Ліганд	Біомішень		
	COX-1 (3N8Y)	COX-2 (3LN1)	LOX-5 (6NCF)
АКВА	—	—	-10,0
Диклофенак	-8.5	-8.4	—
Целекоксиб	—	-12.2	—
неохлорогенова кислота	-7.1	-7.5	-7.9
хлорогенова кислота	-7.1	-7.5	-7.8
криптохлорогенова кислота	-6.6	-7.9	-7.8
лютеолін	-8.1	-9.8	-8.1
лютеолін-4-О-глюкозид	-5.6	-8.6	-9.0
лютеолін-7-О-глюкозид	-5.4	-6.2	-9.6
лютеолін-3,7-диглюкозид	-5.3	-6.8	-9.7
ізорамнетин-3-глюкозид	-1.8	-8.8	-7.8
ванілінова кислота	-6.2	-6.4	-6.7
кофеїнова кислота	-6.5	-7.4	-6.0
3,4-дигідроксифенілоцтова кислота	-6.1	-6.6	-6.7
ізорамнетин	-7.8	-9.6	-7.9
рутин	-0.6	-3.7	-8.9
гіперозид	-2.1	-8.2	-8.6
4,5-дикофеоїлхінна кислота	-6.1	-9.1	-8.8
3,5-дикофеоїлхінна кислота	-6.8	-8.5	-9.0
3,4-дикофеоїлхінна кислота	-6.0	-8.8	-8.8

Зокрема, бензопіраноновий цикл ізорамнетину утворює бідентантні взаємодії з амінокислотним залишком Gly526 та тетраедричні гідрофобні контакти з Ala527, а також додаткові стабілізуючі взаємодії з Val349 і Leu531 (рис. 3.2б).

Таблиця 3.2

Результати молекулярного докінгу біологічно активних речовин *Matricaria discoidea* з активним сайтом COX-1

Ліганд	Водневі взаємодії (a)	Гідрофобні взаємодії (b)
Лютеолін	Ser530 (2), Tyr385	Ala527 (4), Gly526 (2), Val349 (2), Leu531
Ізорамнетин	Ser530 (2), Met522, Ala527	Gly526 (2), Ala527 (4), Val349 (2), Leu531
Хлорогенова кислота	Tyr385, Ser530, Met522	Val349, Leu359, Ala527, Leu531

Важливо підкреслити, що саме ці амінокислотні залишки беруть безпосередню участь у фіксації диклофенаку в активному центрі COX-1, що було підтверджено кристалографічними дослідженнями [41]. Така подібність профілю взаємодій свідчить про часткове перекриття механізмів зв'язування ізорамнетиноу та класичних НПЗЗ.

Аналогічне конформаційне розміщення у просторі активного сайту спостерігалось і для лютеоліну, який продемонстрував порівняну за величиною афінність до COX-1 (табл. 3.2). Для лютеоліну характерні водневі взаємодії з Ser530 і Tyr385, а також гідрофобні контакти з Ala527, Gly526, Val349 і Leu531. Залучення залишку Tyr385 є особливо показовим, оскільки цей амінокислотний залишок входить до каталізуючого центру COX-1 і відіграє ключову роль у процесі окиснення арахідонової кислоти. Таким чином, зв'язування лютеоліну в цій ділянці може потенційно порушувати каталіз ферменту.

Результати молекулярного докінгу також свідчать про можливість інгібування COX-1 хлорогеновою та неохлорогеновою кислотами, хоча їх афінність поступається флавоноїдам. Для хлорогенової кислоти характерні водневі зв'язки з Tyr385 та Ser530 і гідрофобні контакти з Val349, Leu359, Ala527 і Leu531. Такий тип взаємодій забезпечує відносно стабільну фіксацію

молекули в активному сайті, однак її висока полярність і наявність кількох гідроксильних груп обмежують глибину проникнення в гідрофобний канал COX-1.

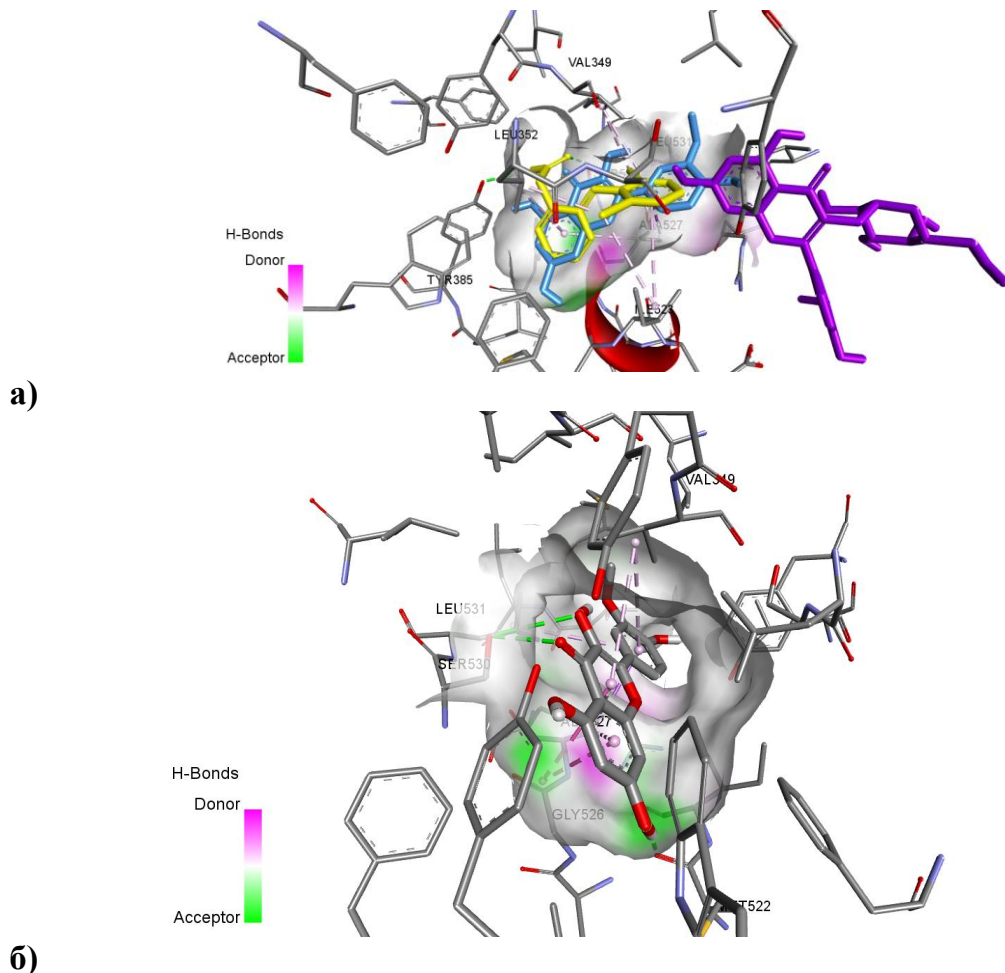


Рис. 3.2 Сумісне конформаційне розміщення ізорамнетин (чорний), ізорамнетин-3-глюкозид (фіолетовий) та диклофенаку (жовтий) в активному сайті COX-1; б) взаємодія ізорамнетину з амінокислотними залишками COX-1

Узагальнюючи, можна зробити висновок, що *in silico* аналіз підтверджує здатність окремих фітосполук *Matricaria discoidea*, насамперед лютеоліну та ізорамнетину, взаємодіяти з ключовими амінокислотними залишками активного сайту COX-1, залученими до зв'язування класичних нестероїдних протизапальних препаратів. Водночас глікозилування флавоноїдів суттєво знижує їх афінність до ферменту, що підкреслює важливу роль ліпофільності та просторової відповідності молекули для ефективного інгібування COX-1.

Отримані результати свідчать про потенційний внесок агліконів флавоноїдів у протизапальну та анальгетичну активність екстрактів *M. discoidea* та створюють підґрунтя для подальшого порівняльного аналізу селективності цих сполук щодо COX-2.

3.3 Результати молекулярного докінгу біологічно активних речовин в COX-2

Усі досліджувані біологічно активні речовини *Matricaria discoidea* за значеннями енергії зв'язування поступалися референс-препарату целекоксибу при молекулярному докінгу до активного сайту циклооксигенази-2 (COX-2) (табл. 3.1). Найвищу афінність до COX-2 демонструє целекоксиб (–12,2 ккал/моль), що підтверджує коректність докінг-моделі. Серед природних сполук найбільш перспективними є лютеолін (–9,8 ккал/моль), ізорамнетин (–9,6 ккал/моль), 4,5- та 3,4-дикофеїлхінічні кислоти (–9,1 та –8,8 ккал/моль). На відміну від COX-1, глікозиди флавоноїдів (лютеолін-4-О-, 7-О-, 3,7-диглюкозид; ізорамнетин-3-глюкозид; гіперозид) демонструють високу або помірно високу афінність (–8,2...–8,8 ккал/моль), що пов'язано з наявністю розширеної бічної кишені в COX-2. Рутин має низьку афінність до COX-2 (–3,7 ккал/моль), що корелює з несприятливим просторовим розміщенням у активному сайті (рис. 3.3).

Такий результат є очікуваним, оскільки целекоксиб належить до класу селективних інгібіторів COX-2 і був раціонально сконструйований з урахуванням просторових особливостей активного сайту цього ферменту, зокрема наявності розширеної гідрофобної кишені та бічної порожнини, характерної для COX-2 [42].

Таблиця 3.3

Результати молекулярного докінгу біологічно активних речовин *Matricaria discoidea* з активним сайтом COX-2

Ліганд	Енергія зв'язування, ккал/моль	Водневі взаємодії (a)	Гідрофобні взаємодії (b)
Ізорамнетин	-8,6	Tyr341, Ser516, Ser339, Tyr371, Leu338 (2)	Val509, Val335
Лютеолін	-8,2	Tyr341, Ser516, Ile503, Phe504, Tyr371	Leu338, Val509 (2), Val335
4,5-Дикафеоїлохінна кислота	-9,1	Arg106, Tyr371, Gly512	Val509 (3), Tyr341, Val102, Leu345, Ala502

Водночас, попри меншу афінність порівняно з референс-лігандом, окремі фітосполуки продемонстрували досить низькі значення енергії зв'язування та сприятливу конформацію в активному сайті ферменту.

Зокрема, для лютеоліну, ізорамнетину та 4,5-дикафеоїлохінної кислоти зафіксовано ефективне розміщення в активному сайті COX-2 з формуванням взаємодій з амінокислотними залишками, які вважаються магістральними для інгібувальної активності цього ферменту, зокрема Tyr341, Tyr371, Ser516, Val509 і Val335 [42]. Деталізований аналіз просторового суміщення досліджуваних лігандів із целекоксибом в активному сайті COX-2 показав майже повну ідентичність розташування бензопіранонових фрагментів флавоноїдів із відповідною гідрофобною частиною молекули референс-інгібітора (рис. 3.3 а). Така конформаційна подібність свідчить про здатність лютеоліну та ізорамнетину ефективно займати ключову гідрофобну ділянку активного сайту, яка відіграє визначальну роль у стабілізації комплексу фермент–інгібітор.

Характер міжмолекулярних взаємодій додатково підтверджує стабільність сформованих комплексів. Для ізорамнетину та лютеоліну

виявлено поєднання водневих зв'язків із полярними амінокислотними залишками та численних гідрофобних контактів з валіновими та лейциновими залишками, що формують бічну кишеню COX-2. Внаслідок цього спостерігається практично повне накладання ароматичних і гетероциклічних фрагментів фітосполук на відповідні структурні елементи целекоксибу (рис. 3.3а), що є характерною ознакою потенційної інгібувальної активності. Таким чином, *in silico* моделювання вказує на високу ймовірність прояву інгібувальної дії ізорамнетину та лютеоліну щодо COX-2.

Високу ймовірність інгібування COX-2 також спрогнозовано для 4,5-дикофеїлхінної кислоти. Особливістю цієї сполуки є її здатність повністю та глибоко занурюватися в активний сайт ферменту, займаючи просторове положення, майже ідентичне нативному ліганду (рис. 3.3б). Розгалужена структура молекули дозволяє одночасно залучати кілька ділянок активного сайту COX-2, формуючи стабільну мережу водневих та гідрофобних взаємодій з амінокислотними залишками Arg106, Tyr371, Gly512, Val509 і Leu345. Такий тип зв'язування є характерним для ефективних інгібіторів COX-2 і може компенсувати відсутність класичного бензопіранонового фрагмента, притаманного флавоноїдам.

Отже, отримані результати молекулярного докінгу свідчать, що хоча досліджувані фітосполуки *Matricaria discoidea* поступаються целекоксибу за абсолютними значеннями афінності, їх просторове розміщення та характер взаємодій з ключовими амінокислотними залишками активного сайту COX-2 дозволяють розглядати лютеолін, ізорамнетин і 4,5-дикофеїлхінну кислоту як потенційні природні інгібітори цього ферменту. Це створює молекулярні передумови для селективної протизапальної дії екстрактів *M. discoidea* та обґрунтовує доцільність подальших експериментальних досліджень їх біологічної активності *in vitro* та *in vivo*.

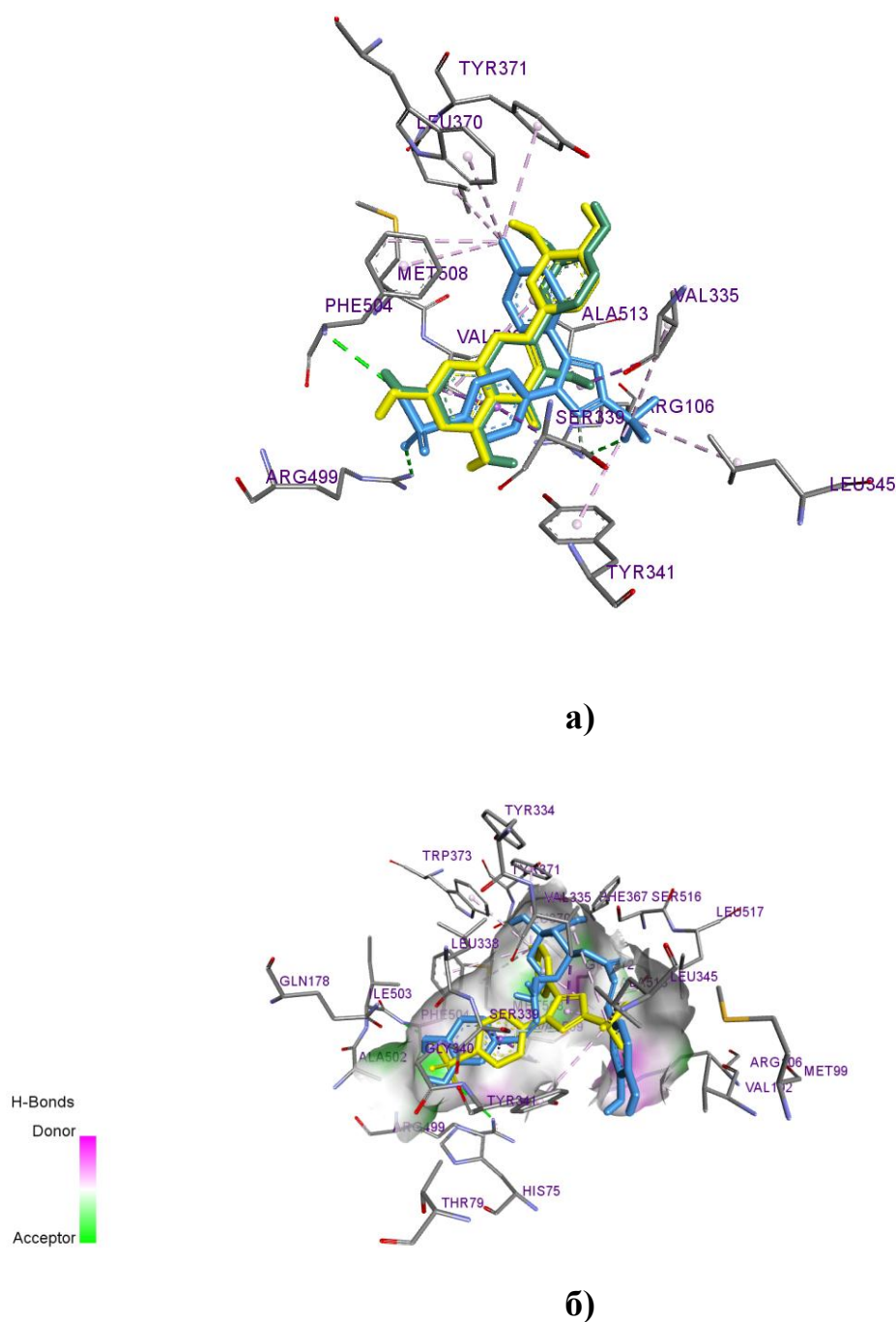


Рис. 3.3 Сумісне конформаційне розміщення ізорамнетину (зелений), лютеоліну (блакитний) та целекоксибу (жовтий) в активному сайті COX-2; б) взаємодія 4,5-дикафеїлохіної кислоти з амінокислотними залишками COX-2 порівняно з целекоксибом (жовтий)

Висновки до розділу 3

1. За результатами *in silico* досліджень встановлено, що біологічно активні речовини *Matricaria discoidea* виявляють різний ступінь спорідненості до циклооксигеназного ланцюга запалення, зокрема до циклооксигенази-1

(COX-1) та циклооксигенази-2 (COX-2), що зумовлено особливостями їх хімічної будови та просторової організації активних сайтів відповідних ферментів.

2. Молекулярний докінг до COX-1 показав, що аглікони флавоноїдів, зокрема лютеолін та ізорамнетин, демонструють помірну афінність до активного сайту ферменту та взаємодіють з амінокислотними залишками, які беруть участь у зв'язуванні класичних нестероїдних протизапальних препаратів. Водночас глікозильовані похідні характеризуються значно нижчою спорідненістю, що пояснюється їх обмеженою здатністю проникати в гідрофобну кишеню COX-1.
3. Результати докінгу до COX-2 свідчать, що лютеолін, ізорамнетин та 4,5-дикофеїлхінна кислота здатні формувати стабільні комплекси з активним сайтом ферменту, взаємодіючи з ключовими амінокислотними залишками, характерними для селективного інгібування COX-2. Хоча значення енергії зв'язування цих сполук поступаються референс-препарату целекоксибу, просторове розміщення та характер міжмолекулярних взаємодій свідчать про потенційну інгібувальну здатність щодо COX-2.
4. Порівняльний аналіз взаємодії досліджуваних лігандів з COX-1 та COX-2 показав відносну селективність фітосполук *Matricaria discoidea* до COX-2, що узгоджується з просторовими особливостями активного сайту цього ферменту та може зумовлювати більш сприятливий профіль безпеки порівняно з неселективними інгібіторами циклооксигеназ.
5. Отримані результати підтверджують, що протизапальний потенціал екстрактів *Matricaria discoidea* може реалізовуватися, принаймні частково, через модуляцію циклооксигеназного шляху запалення, з переважним впливом на індуковану ізоформу COX-2.
6. Проведене *in silico* моделювання створює теоретичне підґрунтя для подальших експериментальних досліджень *in vitro* та *in vivo* з метою підтвердження протизапальної та аналгетичної активності фітосполук *Matricaria discoidea* і їх потенційної селективності щодо COX-2.

РОЗДІЛ 4

МОЛЕКУЛЯРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ СПОРІДНЕНOSTІ БІОЛОГІЧНО
АКТИВНИХ РЕЧОВИН *MATRICARIA DISCOIDEA* ДО LOX-5

5-Ліпоксигеназа є ключовим ферментом ліпооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти та відіграє центральну роль у біосинтезі лейкотрієнів – потужних медіаторів запалення, бронхоконстрикції та хемотаксису імунних клітин. Надмірна активація LOX-5 асоціюється з розвитком хронічних запальних захворювань, зокрема бронхіальної астми, алергічних реакцій та аутоімунних патологій, що зумовлює значний інтерес до пошуку нових інгібіторів цього ферменту. У зв'язку з цим застосування методів молекулярного докінгу дозволяє на рівні просторової організації оцінити спорідненість біологічно активних речовин до активного сайту LOX-5, визначити характер міжмолекулярних взаємодій та спрогнозувати їх потенційну інгібувальну активність. Проведення *in silico* докінг-досліджень біологічно активних компонентів *Matricaria discoidea* щодо LOX-5 є доцільним для молекулярного обґрунтування їх протизапального потенціалу та виявлення можливих механізмів модуляції ліпооксигеназного каскаду запалення.

4.1 Структура активного центру інгібіторів LOX-5

Активний центр 5-ліпоксигенази (5-LOX) розташований у глибокій гідрофобній кишені ферменту. Кристалографічні дані показали, що ця видовжена порожнина вистелена декількома консервативними гідрофобними амінокислотами: Leu-368, Leu-373, Leu-414, Leu-607 та Ile-406. Ці залишки присутні в усіх ліпоксигеназах, що метаболізують арахідонову кислоту, і їхні розгалужені неполярні бокові ланцюги формують “кишеню” для розміщення пентадієнового фрагменту субстрату. Окрім них, у активному сайті є й унікальні для 5-LOX амінокислоти, Tyr-181, Ala-603, Ala-606, His-600, Thr-364, які впливають на форму порожнини. Зокрема, ароматичні залишки Phe-177 і

Tyr-181 утворюють так званий “FY-корок”, що закриває один із входів до активного центру, при цьому Trp-599 підпирає цей “корок” з одного боку. Інші амінокислоти, такі як Asn-407 і His-432, теж окреслюють межі активної порожнини [43, 46].

Багато інгібіторів 5-LOX зв’язуються саме в цій гідрофобній кишені. Наприклад, за даними рентгеноструктурного аналізу, природний інгібітор нордігідрогваяретова кислота (NDGA) у комплексі з 5-LOX (*PDB* 6N2W) розташовується в активному сайті і оточений низкою амінокислотних залишків ферменту. Залишки Arg-596, His-600, His-372, Leu-368, Ile-406, Leu-607, Trp-599, Phe-359, Gln-363, Ala-410, Pro-569 (та деякі інші) були ідентифіковані на відстані ~ 4 Å від зв’язаного NDGA. Особливо важливим є Arg-596, який формує водневий зв’язок з одним із катехольних гідроксилів NDGA (відстань $\sim 2,8$ Å). Інший ключовий контакт, гістидин His-372, розташований на відстані $\sim 3,3$ Å і здатен утворювати слабкий водневий зв’язок з другим гідроксилом NDGA. Фактично Arg-596 слугує точкою «якорування» для багатьох інгібіторів. Крім полярних контактів, гідрофобні фрагменти інгібітора займають положення всередині неполярної кишені, оточені лейцинами та ізолейцинами активного центру, що сприяє ван-дер-ваальсовій стабілізації комплексу. В інших моделях зв’язування також відзначено, що ароматичні інгібітори можуть взаємодіяти π – π стекінгом з ароматичними залишками ферменту: наприклад, передбачено T-подібні π – π взаємодії між кільцями деяких рослинних інгібіторів і боковими ланцюгами Trp-599, Phe-359, а також імідозольними кільцями His-367 і His-372 [43, 46].

4.2 Результати молекулярного докінгу біологічно активних речовин в LOX-5

Найвищий ступінь афінності до активного сайту інгібітора 5-ліпоксигенази (LOX-5) було розраховано для всіх досліджуваних глікозидів лютеоліну, значення енергії зв’язування яких перевищували $-9,0$ ккал/моль. Порівнянні показники спорідненості також продемонстрували 3,5-

дикофеїлхінна кислота та рутин із енергіями зв'язування $-9,0$ та $-8,9$ ккал/моль відповідно, хоча за значенням скорингової функції ці сполуки дещо поступалися референс-ліганду АКВА ($-10,0$ ккал/моль). Отримані результати свідчать про високий потенціал поліфенольних компонентів *Matricaria discoidea* до взаємодії з активним центром LOX-5 та можливу конкурентну інгібіторну дію. Деталізований аналіз міжмолекулярних взаємодій та просторового розміщення лігандів у порівнянні з нативним інгібітором АКВА було проведено на прикладі luteolin-3,7-diglucoside та рутину (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Результати молекулярного докінгу біологічно активних речовин *Matricaria discoidea* з активним сайтом 5-ліпоксигенази (LOX-5, PDB ID: 6NCF)

Ліганд	Енергія зв'язування, ккал/моль	Полярні / водневі взаємодії (a)	Гідрофобні взаємодії (b)	Специфічні взаємодії (c)
Лютеолін-3,7-диглюкозид	$-8,0$	Thr104, His130, Leu163, Glu134, Pro164	Thr137, Val107 (3)	Arg101 (π -cation)
Рутин	$-8,4$	Arg68, Arg101, Glu134, His130, Thr137	Lys133, Val107 (3)	—
3,5-Дикафеїлохінна кислота	$-9,0$	Arg68, Arg101, Val110, His130, Asp166, Glu108	His130, Leu66, Val107	—

Для дютелін-3,7-диглюкозиду встановлено можливість міцної та багатоточкової фіксації молекули в активному сайті ферменту. Усі структурні

фрагменти сполуки стабілізуються за рахунок поєднання водневих і гідрофобних взаємодій із ключовими амінокислотними залишками активного центру LOX-5, що забезпечує просторову стабільність комплексу (рис. 4.1a).

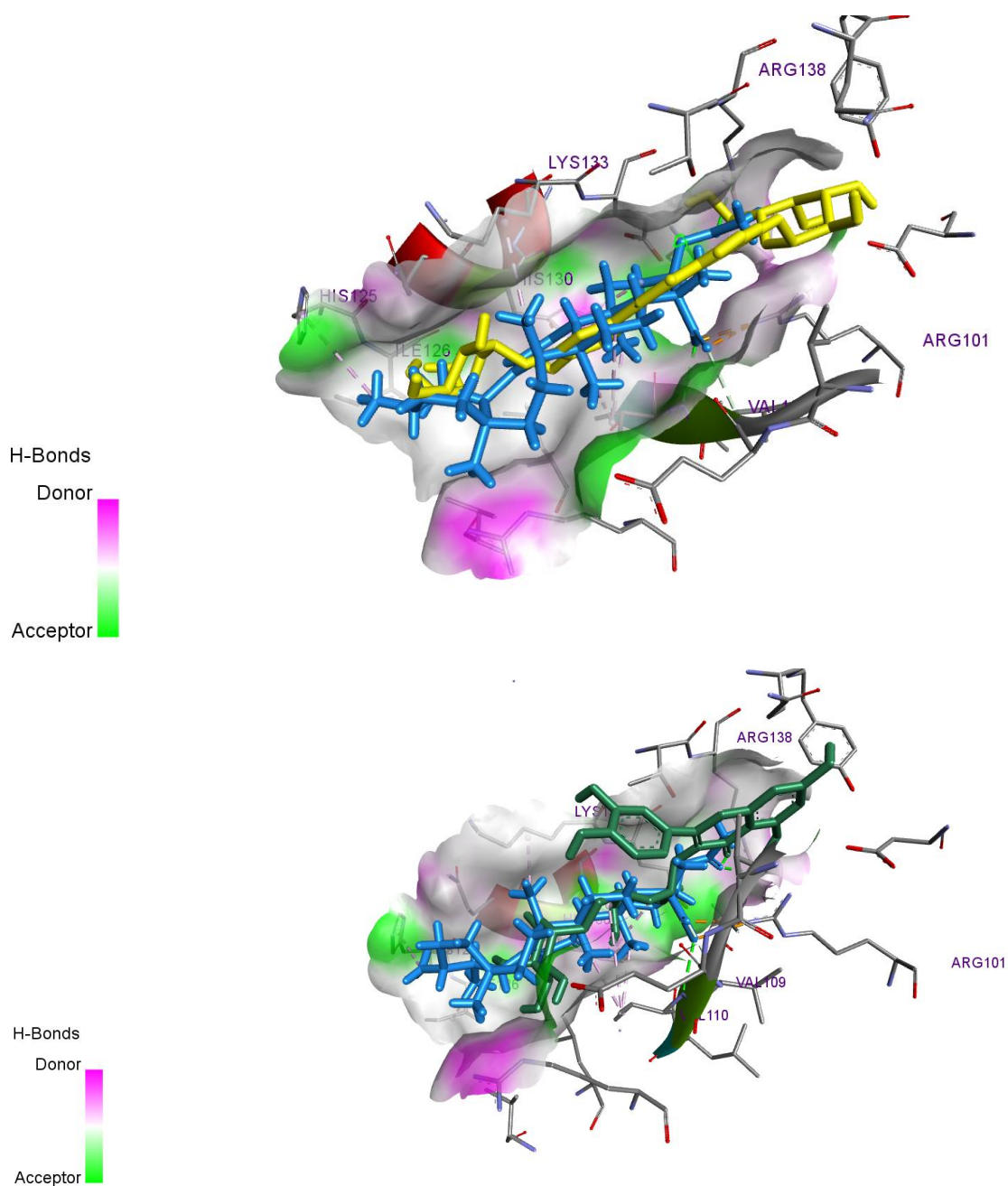


Рис. 4.1 Сумісне конформаційне розміщення лютеолін-3,7-диглюкозид (a) (жовта молекула) та рутин (b) (зелена молекула) та нативного інгібітора АКВА (синя молекула) в активному сайті LOX-5

Особливо важливим є те, що сумісне накладання конформацій лютеолін-3,7-диглюкозиду та АКВА демонструє подібність їх просторової орієнтації в

активному сайті, а також здатність глікозиду достатньо глибоко занурюватися у гідрофобну порожнину ферменту, що є критичною умовою ефективного інгібування LOX-5.

На відміну від цього, рутин, попри відносно високу афінність за значенням енергії зв'язування, виявляє менш сприятливе просторове розміщення в активному сайті. Зокрема, хроменовий цикл рутину не спроможний повністю зануритися у гідрофобну кишеню зв'язування, що обмежує кількість гідрофобних контактів з ключовими амінокислотними залишками та знижує стабільність комплексу фермент–ліганд. Така неповна інтеграція в активний центр може унеможливлювати тривалу та міцну фіксацію рутину і, відповідно, зменшувати ефективність інгібування LOX-5 порівняно з іншими поліфенольними сполуками.

Узагальнюючи результати молекулярного докінгу, можна стверджувати, що найбільшу ймовірність інгібування LOX-5 мають лютеолін та його глікозидні похідні, а також три ізомери дикофеойлхінічних кислот і гіперозид. Високі значення спорідненості, сприятливе конформаційне розміщення та формування розгалуженої мережі міжмолекулярних взаємодій із ключовими амінокислотними залишками активного центру свідчать про перспективність цих сполук як природних модуляторів ліпооксигеназного шляху запалення. Отримані *in silico* дані додатково підтверджують багатокomпонентний характер протизапальної дії екстрактів *Matricaria discoidea* та обґрунтовують доцільність подальших експериментальних досліджень їх біологічної активності.

Висновки до розділу 4

1. За результатами молекулярного докінгу встановлено, що біологічно активні речовини *Matricaria discoidea* демонструють високу спорідненість до активного сайту 5-ліпоксигенази (LOX-5), що свідчить про потенційну здатність цих сполук інгібувати ліпооксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти.

2. Найвищі значення афінності до LOX-5 були розраховані для глікозидів лютеоліну (енергія зв'язування понад $-9,0$ ккал/моль), а також для 3,5-дикофеοїлхіної кислоти та рутину, які лише незначно поступалися референс-ліганду АКВА за показниками скорингової функції. Це вказує на високу ефективність поліфенольних компонентів *M. discoidea* у взаємодії з активним центром ферменту.
3. Деталізований аналіз міжмолекулярних взаємодій показав, що лютеолін-3,7-диглюкозид здатний формувати стабільний комплекс з LOX-5 за рахунок поєднання численних водневих і гідрофобних взаємодій, забезпечуючи глибоке занурення молекули в гідрофобну порожнину активного сайту. Просторова подібність розміщення цього глікозиду до нативного інгібітора АКВА додатково підтверджує високу ймовірність інгібування ферменту.
4. На відміну від цього, рутин, попри відносно високу енергію зв'язування, характеризується менш сприятливим конформаційним розміщенням у активному сайті LOX-5, що обмежує його здатність до повної фіксації в гідрофобній кишені та може знижувати стабільність комплексу фермент–ліганд.
5. Узагальнюючи отримані результати, найбільшу ймовірність інгібувати LOX-5 серед досліджуваних сполук мають лютеолін та його глікозидні похідні, а також дикофеοїлхіні кислоти і гіперозид. Їхня висока афінність і сприятливе просторове розміщення в активному сайті ферменту обґрунтовують можливість ефективної модуляції ліпооксигеназного каскаду запалення.
6. Отримані *in silico* результати підтверджують багатокомпонентний характер протизапальної дії екстрактів *Matricaria discoidea* та створюють теоретичне підґрунтя для подальших експериментальних досліджень *in vitro* та *in vivo*, спрямованих на вивчення їх впливу на біосинтез лейкотрієнів і розвиток запальної відповіді.

ВИСНОВКИ

1. У результаті проведеного дослідження встановлено, що рослина *Matricaria discoidea* є перспективним джерелом біологічно активних речовин поліфенольної та терпенової природи. Фітохімічний аналіз сухих екстрактів і ефірної олії показав наявність флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, дикофеойлхінних кислот, кумаринів і терпенів, які потенційно здатні впливати на ключові молекулярні ланки запального процесу.
2. За результатами *in silico* моделювання встановлено, що біологічно активні компоненти *M. discoidea* проявляють вибірккову спорідненість до ферментів арахідонатного каскаду – циклооксигенази-1 (COX-1), циклооксигенази-2 (COX-2) та 5-ліпоксигенази (LOX-5). При цьому характер і рівень афінності суттєво залежать від хімічної будови сполук, зокрема наявності глікозидних фрагментів і кількості фенольних груп.
3. Показано, що аглікони флавоноїдів (лютеолін, ізорамнетин) мають вищу спорідненість до COX-1, тоді як глікозиди флавоноїдів і дикофеойлхінні кислоти характеризуються більшою афінністю до COX-2 та LOX-5. Такий профіль взаємодії вказує на потенційну селективність фітосполук *M. discoidea* щодо індукованих ферментів запалення та можливість зниження побічних ефектів, характерних для неселективних інгібіторів.
4. Молекулярний докінг продемонстрував, що лютеолін, ізорамнетин, глікозиди лютеоліну, а також дикофеойлхінні кислоти здатні формувати стабільні комплекси з активними сайтами COX-2 та LOX-5 за рахунок поєднання водневих, гідрофобних і ароматичних взаємодій, а також комплементарного просторового розміщення у гідрофобних кишнях ферментів. Визначено кореляцію між *in vivo* та *in silico* дослідженнями
5. Отримані результати свідчать про багатокомпонентний і багатоланковий механізм протизапальної дії екстрактів *M. discoidea*, який реалізується через одночасну модуляцію циклооксигеназного та ліпооксигеназного шляхів, а також опосередковано через антиоксидантну активність поліфенольних сполук.

6. Проведене дослідження створює наукове підґрунтя для подальшого вивчення *Matricaria discoidea* як перспективної лікарської рослинної сировини та обґрунтовує доцільність розробки фітопрепаратів з протизапальною та анальгетичною дією на основі її екстрактів.

Список використаних джерел

1. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span / D. Furman et al. // *Nature Medicine*. 2019. Vol. 25, № 12. –P. 1822–1832. – DOI: 10.1038/s41591-019-0675-0.
2. European Medicines Agency. Assessment report on *Matricaria recutita* L., flos [Electronic resource]. 2015. Mode of access: <https://www.ema.europa.eu> – Date of access: 09.09.2025.
3. Dinarello C. A. Anti-inflammatory agents: present and future. *Cell*. 2010. Vol. 140, № 6. P. 935–950. DOI: [10.1016/j.cell.2010.02.043](https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.02.043).
4. Biochemical aspects of the inflammatory process: A narrative review / C. L. R. Soares et al. *Biomedicine Pharmacotherapy*. 2023. Vol. 168. P. 115764. DOI: [10.1016/j.biopha.2023.115764](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115764).
5. Fatty acid binding to the allosteric subunit of cyclooxygenase-2 relieves a tonic inhibition of the catalytic subunit / L. Dong et al. *Journal of Biological Chemistry*. 2016. Vol. 291, № 49. P. 25641–25655. DOI: [10.1074/jbc.M116.757310](https://doi.org/10.1074/jbc.M116.757310).
6. Discovery and characterization of 2-acylaminoimidazole microsomal prostaglandin E synthase-1 inhibitors / M. A. Schiffler et al. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2016. Vol. 59, № 1. P. 194–205. DOI: [10.1021/acs.jmedchem.5b01249](https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01249).
7. Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets / B. Wang et al. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2021. Vol. 6. P. 94. DOI: [10.1038/s41392-020-00443-w](https://doi.org/10.1038/s41392-020-00443-w).
8. Crystal structure of inhibitor-bound human 5-lipoxygenase-activating protein / A. D. Ferguson et al. *Science*. 2007. Vol. 317, № 5837. P. 510–512. DOI: [10.1126/science.1144346](https://doi.org/10.1126/science.1144346).
9. PENG: a neural gas-based approach for pharmacophore elucidation. Method design, validation, and virtual screening for novel ligands of LTA4H / D. Moser et al. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2015. Vol. 55, № 2. P. 284–293. DOI: [10.1021/ci500618u](https://doi.org/10.1021/ci500618u).

10. Structural basis of ligand selectivity and disease mutations in cysteinyl leukotriene receptors / A. Gusach et al. *Nature Communications*. 2019. Vol. 10, № 1. P. 5573. DOI: [10.1038/s41467-019-13348-2](https://doi.org/10.1038/s41467-019-13348-2).
11. Therapeutic role of dual inhibitors of 5-LOX and COX, selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs / J. Martel-Pelletier et al. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2003. Vol. 62, № 6. P. 501–509. DOI: [10.1136/ard.62.6.501](https://doi.org/10.1136/ard.62.6.501).
12. Meirer K., Steinhilber D., Proschak E. Inhibitors of the arachidonic acid cascade: interfering with multiple pathways. *Basic Clinical Pharmacology Toxicology*. 2014. Vol. 114, № 1. P. 83–91. DOI: [10.1111/bcpt.12134](https://doi.org/10.1111/bcpt.12134).
13. Bhatt D., Ghosh S. Regulation of the NF- κ B-mediated transcription of inflammatory genes. *Frontiers in Immunology*. 2014. Vol. 5. P. 71. DOI: [10.3389/fimmu.2014.00071](https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00071).
14. NF- κ B in biology and targeted therapy: new insights and translational implications / Q. Guo et al. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2024. Vol. 9. P. 53. DOI: [10.1038/s41392-024-01757](https://doi.org/10.1038/s41392-024-01757).
15. Kyriakis J. M. Activation of the AP-1 transcription factor by inflammatory cytokines of the TNF family. *Gene Expression*. 1999. Vol. 7, № 4–6. P. 217–231.
16. Schonthaler H. B., Guinea-Viniegra J., Wagner E. F. Targeting inflammation by modulating the Jun/AP-1 pathway. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2011. Vol. 70, № 1. P. i109–i112.
17. Ageeva T., Rizvanov A., Mukhamedshina Y. NF- κ B and JAK/STAT signaling pathways as crucial regulators of neuroinflammation and astrocyte modulation in spinal cord injury. *Cells*. 2024. Vol. 13, № 7. P. 581. DOI: [10.3390/cells13070581](https://doi.org/10.3390/cells13070581).
18. Inflammatory regulatory network mediated by the joint action of NF- κ B, STAT3, and AP-1 factors is involved in many human cancers / Z. Ji et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2019. Vol. 116, № 19. P. 9453–9462. DOI: [10.1073/pnas.1821068116](https://doi.org/10.1073/pnas.1821068116).

19. Tylutka A., Walas Ł., Zembron-Lacny A. Level of IL-6, TNF, and IL-1 β and age-related diseases: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Immunology*. 2024. Vol. 15. P. 1330386. DOI: [10.3389/fimmu.2024.1330386](https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1330386).
20. Papi S., Ahmadizar F., Hasanvand A. The role of nitric oxide in inflammation and oxidative stress. *Immunopathologia Persa*. 2019. Vol. 5, № 1. P. e08. DOI: [10.15171/ipp.2019.08](https://doi.org/10.15171/ipp.2019.08).
21. Kim M. E., Lee J. S. Advances in the regulation of inflammatory mediators in nitric oxide synthase: implications for disease modulation and therapeutic approaches. *International Journal of Molecular Sciences*. 2025. Vol. 26, № 3. P. 1204. DOI: [10.3390/ijms26031204](https://doi.org/10.3390/ijms26031204).
22. Jeszka-Skowron M., Stanisław E., De Peña M. P. Relationship between antioxidant capacity, chlorogenic acids and elemental composition of green coffee. *LWT – Food Science and Technology*. 2016. Vol. 73. P. 243–250. DOI: [10.1016/j.lwt.2016.06.002](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.002).
23. Chlorogenic acid: a review on its mechanisms of anti-inflammatory and antioxidant activities / J. Huang et al. *Frontiers in Pharmacology*. 2023. Vol. 14. P. 1218015. DOI: [10.3389/fphar.2023.1218015](https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1218015).
24. Liang N., Kitts D. D. Chlorogenic acid (CGA) isomers alleviate interleukin-8 (IL-8) production in Caco-2 cells by decreasing phosphorylation of p38 and increasing cell integrity. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. Vol. 19, № 12. P. 3873. DOI: [10.3390/ijms19123873](https://doi.org/10.3390/ijms19123873).
25. Antioxidant, anti-inflammatory and pro-differentiative effects of chlorogenic acid on M03-13 human oligodendrocyte-like cells / G. La Rosa et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24, № 23. P. 16731. DOI: [10.3390/ijms242316731](https://doi.org/10.3390/ijms242316731).
26. Venugopala K. N., Rashmi V., Odhav B. Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity. *BioMed. Research International*. 2013. P. 963248. DOI: [10.1155/2013/963248](https://doi.org/10.1155/2013/963248).
27. Kang J.-K., Chung Y.-C., Hyun C.-G. Anti-inflammatory effects of 6-methylcoumarin in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages via regulation of

- MAPK and NF- κ B signaling pathways. *Molecules*. 2021. Vol. 26, № 17. P. 5351. DOI: [10.3390/molecules26175351](https://doi.org/10.3390/molecules26175351).
28. Molecular mechanism of the anti-inflammatory effects of plant essential oils: a systematic review / Q. Zhao et al. *Journal of Ethnopharmacology*. 2022. Vol. 301. P. 115829. DOI: [10.1016/j.jep.2022.115829](https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115829).
 29. de Cássia da Silveira e Sá R., Andrade L. N., de Sousa D. P. A review on anti-inflammatory activity of monoterpene. *Molecules*. 2013. Vol. 18, № 1. P. 1227–1254. DOI: [10.3390/molecules18011227](https://doi.org/10.3390/molecules18011227).
 30. Terpenoids in essential oils: chemistry, classification, and potential impact on human health and industry / T. Siddiqui et al. *Phytomedicine Plus*. 2024. Vol. 4, № 2. P. 100549. DOI: [10.1016/j.phyplu.2024.100549](https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2024.100549).
 31. Guimarães A. G., Serafini M. R., Quintans-Júnior L. J. Terpenes and derivatives as a new perspective for pain treatment: a patent review. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2014. Vol. 24, № 3. P. 243–265. DOI: [10.1517/13543776.2014.870154](https://doi.org/10.1517/13543776.2014.870154).
 32. Phytochemical, pharmacological, and molecular docking study of dry extracts of *Matricaria discoidea* DC. with analgesic and soporific activities / J. Sepp et al. *Biomolecules*. 2024. Vol. 14, № 3. P. 361. DOI: [10.3390/biom14030361](https://doi.org/10.3390/biom14030361).
 33. Comparative studies of essential oils from *Matricaria recutita* L. / O. I. Panasenko et al. *Current Issues in Pharmacy and Medicine: Science and Practice*. 2024. Vol. 17, № 2. P. 137–143.
 34. Lopes D., Kolodziejczyk P. P. Essential oil composition of pineapple-weed (*Matricaria discoidea* DC.) grown in Canada. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2005. Vol. 8, № 2. P. 178–182. DOI: [10.1080/0972060X.2005.10643440](https://doi.org/10.1080/0972060X.2005.10643440).
 35. Phytochemical characterization of chamomile (*Matricaria recutita* L.) roots and evaluation of their antioxidant and antibacterial potential / L. K. Mailänder et al. *Molecules*. 2022. Vol. 27, № 23. P. 8508. DOI: [10.3390/molecules27238508](https://doi.org/10.3390/molecules27238508).

36. Content of phenolic compounds in aerial parts of *Chamomilla suaveolens* from Estonia / A. Raal et al. *Natural Product Communications*. 2011. Vol. 6(8). P. 1107–1110.
37. Composition of essential oil of aerial parts of *Chamomilla suaveolens* from Estonia / A. Orav et al. *Natural Product Communications*. 2010. Vol. 5. P. 133–136.
38. Cantrell C. L., Ali A., Jones A. M. P. Isolation and identification of mosquito biting deterrents from the North American mosquito-repelling folk remedy plant *Matricaria discoidea* DC. *PLoS ONE*. 2018. Vol. 13. P. e0206594. DOI: 10.1371/journal.pone.0206594.
39. Feske S. Calcium signalling in lymphocyte activation and disease. *Nature reviews. Immunology*. 2007. Vol. 7(9). P. 690–702. <https://doi.org/10.1038/nri2152>
40. Protein Data Bank (PDB). Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank. URL: <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> (Date of access: 10.10.2025).
41. Comparison of cyclooxygenase-1 crystal structures: cross-talk between monomers comprising cyclooxygenase-1 homodimers / R. S. Sidhu et al. *Biochemistry*. 2010. Vol. 49, № 33. P. 7069–7079. DOI: 10.1021/bi1003298.
42. 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, № 23. P. 7159–7163. DOI: 10.1016/j.bmcl.2010.07.054.
43. Structural and mechanistic insights into 5-lipoxygenase inhibition by natural products / N. C. Gilbert et al. *Nature Chemical Biology*. 2020. Vol. 16, № 7. P. 783–790. DOI: 10.1038/s41589-020-0544-7.
44. Faki Y., Er A. Different chemical structures and physiological/Pathological roles of cyclooxygenases. *Rambam Maimonides medical journal*. 2021. Vol. 19, № 12(1):e0003. DOI: 10.5041/RMMJ.10426.

45. Ghlichloo I., Gerriets V. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) [Electronic resource] // *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2025. Updated May 1, 2023. Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547742>
46. Crystal structure of inhibitor-bound human 5-lipoxygenase-activating protein / A. D. Ferguson et al. *Science*. 2007. Vol. 317, № 5837. P. 510–512. DOI: [10.1126/science.1144346](https://doi.org/10.1126/science.1144346).



Міністерство охорони здоров'я України
Міністерство освіти і науки України
Національний фармацевтичний університет
Кафедра фармацевтичної хімії
Кафедра загальної хімії
Українське товариство з медичної хімії

Міжнародна internet-конференція

Modern chemistry of medicines

7 листопада 2025 р.
м. Харків, Україна

Посвідчення Державної наукової
установи «Український інститут
науково-технічної експертизи та
інформації» № 858 від 26.12.2024 р.



Molecular modeling of potential inhibitors of inflammatory cascade enzymes from bioactive components of *Matricaria suaveolens*

Maryna Kovtun, Natalia Kobzar, Hanna Severina*

National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine
*severina.ai@ukr.net

Introduction. Inflammatory processes underlie the development of a wide range of pathological conditions – from acute pain syndromes to chronic degenerative diseases. Modern non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) act by inhibiting the enzymes cyclooxygenase (COX-1, COX-2) and lipoxygenase (LOX-5) and are highly effective; however, their use is often accompanied by side effects such as gastrotoxicity, nephrotoxicity, and an increased cardiovascular risk [1].

This highlights the need to search for new, safer anti-inflammatory agents of natural origin. Plants of the genus *Matricaria* are known for their high content of flavonoids, phenolic acids, and other bioactive compounds that can potentially affect the key enzymes of the inflammatory cascade [2]. In particular, sweet chamomile (*Matricaria suaveolens*) represents a promising source of such substances; however, its molecular mechanisms of anti-inflammatory action remain insufficiently studied. The aim of this study was to perform *in silico* prediction of the affinity of biologically active compounds identified in *Matricaria suaveolens* toward key enzymes of the inflammatory response – LOX-5, COX-1 and COX-2.

Materials and methods. Molecular docking was performed using AutoDock Vina and AutoDock-Tools 1.5.6 software. The methodology was verified by re-docking of native ligands, and the mean root mean square deviation did not exceed 2.1 Å, confirming the validity and reliability of the docking protocol.

Results and discussion. Molecular modeling showed that among the bioactive compounds of *Matricaria suaveolens*, the highest affinity toward the LOX-5 enzyme was demonstrated by luteolin and its glycosides (*luteolin-3,7-diglucoside*, *luteolin-7-O-glucoside*), as well as by 3,5-dicaffeoylquinic acid and rutin (binding energy greater than -9 kcal/mol). Their activity is determined by the formation of stable hydrophobic and hydrogen bonds with the amino acid residues His130, Arg101, and Thr137, ensuring strong fixation within the enzyme's active site. For COX-1, the most active compounds were luteolin, isorhamnetin, chlorogenic, and neochlorogenic acids, whose interactions with Ser530, Gly526, and Ala527 were similar to those of diclofenac. In contrast, isorhamnetin-3-glucoside exhibited low affinity due to its limited ability to penetrate the enzyme's hydrophobic pocket. In the case of COX-2, the highest affinity (-9.6 to -9.8 kcal/mol) was observed for luteolin, isorhamnetin, and 4,5-dicaffeoylquinic acid. Their spatial orientation closely replicates that of celecoxib, indicating a high probability of competitive enzyme inhibition.

Thus, the flavonoids and phenolic acids of *Matricaria suaveolens* may serve as natural inhibitors of the key inflammatory cascade enzymes – LOX-5, COX-1, and COX-2, confirming the plant's significant anti-inflammatory potential.

Conclusions. The most promising natural inhibitors of inflammatory enzymes: LOX-5 – luteolin, its glycosides, dicaffeoylquinic acids, hyperoside; COX-1 – luteolin, isorhamnetin, neo- and chlorogenic acids; COX-2 – luteolin, isorhamnetin, 4,5-dicaffeoylquinic acid. The obtained results indicate a high anti-inflammatory potential of flavonoids and phenolic acids from *Matricaria suaveolens*, which justifies their use in the development of plant-based anti-inflammatory preparations.

References

1. With T, Lafforgue P, Pham T. NSAID: Current limits to prescription. *Joint Bone Spine*. 2024;91(4):105085
2. Phytochemical, Technological, and Pharmacological Study on the Galenic Dry Extracts Prepared from German Chamomile (*Matricaria Chamomilla* L.) Flowers. / J. Sepp et al. *Plants*. 2024. Vol. 13. P. 350.