

Міністерство освіти і науки України
Департамент науки і освіти Харківської обласної державної адміністрації
Комунальний заклад «Харківська обласна Мала академія наук Харківської
обласної ради»

Відділення хімії та біології
Секція: органічна хімія та біохімія

ВИКОРИСТАННЯ ВІРТУАЛЬНОГО СКРИНІНГУ ДЛЯ ПОШУКУ НОВИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЗАСОБІВ

Роботу виконала:
Мудрагеля Юлія Максимівна,
учениця 10 класу Комунального закладу
«Харківський ліцей № 107 Харківської
міської ради»

Наукові керівники:
Григорів Галина Валеріївна, асистент
кафедри фармацевтичної хімії
Національного фармацевтичного
університету, кандидат фармацевтичних
наук;
Скриль Інна Таїсіївна, вчитель хімії
Комунального закладу «Харківський ліцей
№ 107 Харківської міської ради»

Харків – 2024

ВИКОРИСТАННЯ ВІРТУАЛЬНОГО СКРИНІНГУ ДЛЯ ПОШУКУ НОВИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ЗАСОБІВ

Мудрагеля Юлія Максимівна; Комунальний заклад «Харківський ліцей № 107 Харківської міської ради» 10 клас; м. Харків;

Григорів Галина Валеріївна; асистент кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету, кандидат фармацевтичних наук;

Скриль Інна Таїсіївна; учитель хімії Комунального закладу «Харківський ліцей № 107 Харківської міської ради»

Дослідницьку роботу присвячено віртуальному скринінгу та докінгу серед нових потенційно біологічно активних речовин з метою пошуку перспективних протизапальних лікарських засобів.

В ході роботи був проведений аналіз літературних джерел з даної тематики, а також проведено ряд експериментальних досліджень.

Розглянуто існуючі лікарські препарати групи оксикамів, основні показники віртуального скринінгу та докінгу, а також методи для виконання даних досліджень.

Досліджено та проаналізовано показники віртуального скринінгу та докінгу для нових похідних 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду та визначено найбільш перспективні молекули для подальшого вивчення їх протизапальної активності *in vivo*.

Ключові слова: протизапальні лікарські препарати, оксиками, віртуальний скринінг, докінг

ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
РОЗДІЛ 1. ЛІКАРСЬКІ ЗАСОБИ ГРУПИ ОКСИКАМІВ ТА ЇХ ПРОТИЗАПАЛЬНА ДІЯ.....	6
РОЗДІЛ 2. ОСНОВНІ ПОКАЗНИКИ У ВІРТУАЛЬНОМУ СКРИНІНГУ НОВИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК	10
2.1. Коефіцієнт ліпофільності ($\log P$)	11
2.2. Топологічний індекс площі поверхні полярних груп (TPSA).....	11
2.3. Енергія зв'язування (Binding Energy, BE, ккал/моль)	11
РОЗДІЛ 3. МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	13
РОЗДІЛ 4. ВІРТУАЛЬНИЙ СКРИНІНГ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ ПОХІДНИХ 1,2-БЕНЗОКСАТІН-4(3 <i>H</i>)-ОН 2,2-ДІОКСИДУ У ПОРІВНЯННІ З ЛЗ ГРУПИ ОКСИКАМІВ	14
ВИСНОВКИ	23
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	24
ДОДАТКИ.....	26

ВСТУП

Пошук нових протизапальних лікарських засобів залишається актуальною темою в сучасній медичній та фармацевтичній хімії, з огляду на те, що існуючі препарати мають певні побічні ефекти. Підвищення профілю безпеки з одночасним збереженням та покращенням ефективності можливе за рахунок структурних модифікацій вихідних молекул. Ґрунтуючись на цьому підході, науковці створюють великі «бібліотеки» нових сполук, але виникає питання щодо подальших досліджень біологічної активності. Проводити їх з усіма можливими сполуками не завжди доцільно, потребує значних витрат часу та ресурсів, у тому числі використання великої кількості лабораторних тварин.

Саме тому методи віртуального скринінгу та докінгу здобули популярність протягом останніх десятиліть та обов'язково використовуються в процесі розробки нових лікарських препаратів. З їх допомогою можна швидко та ефективно оцінити «лікоподібність», тобто ряд важливих фізико-хімічних властивостей молекул, а також моделювання їх зв'язування із білком-рецептором. З урахуванням одержаних результатів обирають найбільш активні сполуки для подальшого вивчення біологічної активності та пропонують перспективні шляхи хімічної модифікації існуючих лікарських препаратів.

У сфері протизапальних лікарських засобів новими ізостерними сполуками є похідні 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду. Для них вже проводили ряд досліджень протизапальної активності на щурах, але результати виявились не достатньо чіткими. З урахуванням того, що випробовуваних речовин було лише 5, а всього сполук даного ряду є близько 100, актуальним є перевірка базових представників даного ряду методами віртуального скринінгу та докінгу. Це дозволить обрати найбільш перспективні групи сполук, а також порівняти результати даних досліджень із протизапальними засобами групи «оксикамів», які вже застосовуються у

клінічній практиці.

Мета дослідження: вибір найбільш перспективних похідних 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду для подальших досліджень протизапальної активності *in vivo* за результатами віртуального скринінгу та докінгу.

Завдання дослідження:

1. Провести аналіз літературних джерел з обраної тематики.
2. Здійснити віртуальний скринінг ряду нових похідних 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду.
3. Здійснити фармакофорне моделювання в програмі LigandScout 4.4.9 та виявити сполуки-лідери.
4. Провести докінгові дослідження сполук-лідерів.
5. Проаналізувати комплекс одержаних даних та обрати найбільш перспективні сполуки для подальших досліджень протизапальної активності.

Об'єктом дослідження є нові похідні 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду.

Предмет дослідження: протизапальна активність похідних 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду.

РОЗДІЛ 1

ЛІКАРСЬКІ ЗАСОБИ ГРУПИ ОКСИКАМІВ ТА ЇХ ПРОТИЗАПАЛЬНА ДІЯ

Оксиками є групою лікарських засобів, які належать до класу нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП) [4]. До цієї групи належать такі відомі в клінічній практиці препарати як піроксикам, ізоксикам, судоксикам, мелоксикам, теноксикам та лорноксикам.

Історія даної групи препаратів розпочалась у 1962 році в лабораторії корпорації «Pfizer». Результати клінічних досліджень засобу, який було потім названо піроксикамом, було опубліковано в 1977 році. Через три роки контролюючий орган США Food and Drug Administration (FDA) допустила даний препарат до використання у клінічній практиці року під торговою назвою «Фелден» [7]. За протизапальною активністю на той час піроксикам перевищував усі існуючі препарати. Окрім того, він мав тривалий період напіввиведення (24 – 50 годин), що дозволяло застосовувати лікарський засіб один раз на добу.

Проте, відповідно до механізму дії, піроксикам – неселективний інгібітор циклооксигенази (ЦОГ), що є причиною досить великої кількості побічних ефектів, особливо з боку травної системи (у тому числі, навіть шлунково-кишкові кровотечі).

Тому дослідження у цьому напрямку продовжились і в 90-х років ХХ століття було презентовано мелоксикам – препарат із селективною дією на ЦОГ-2. Ефективність препарату залишалась високою, а от частота побічних ефектів значно знизилась.

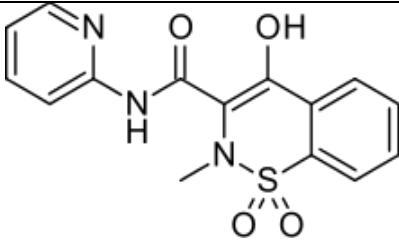
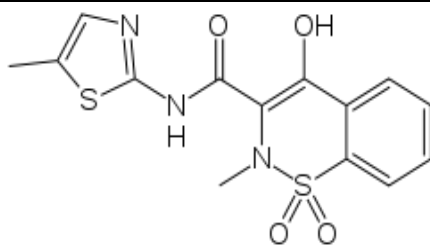
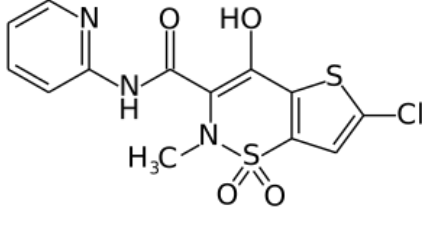
У цей же період було також синтезовано лорноксикам, до молекули якого науковці додали атом хлору. Період напіввиведення з організму у даного препарату порівняно короткий (до 4-х годин), але знеболювальний ефект більш виражений та профіль безпеки високий.

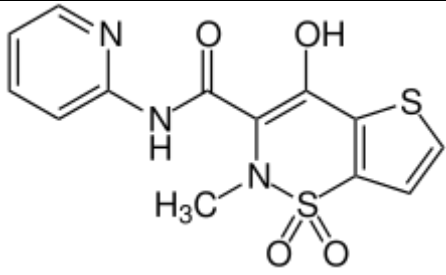
Наступним похідним став теноксикам – препарат із подовженим

періодом напіввиведення (60 – 75 годин). Дані препарати, їх структура, механізм дії та побічні ефекти наведені в таблиці 1.1

Таблиця 1.1

Протизапальні лікарські засоби групи оксикамів

Назва препарату	Структурна формула	Механізм дії	Побічні ефекти
Піроксикам		Інгібування ферменту циклооксигенази (ЦОГ), яка забезпечує перетворення арахідонової кислоти у простагландини. Піроксикам є неселективним інгібітором циклооксигенази 1 типу (ЦОГ-1), і діє також і на циклооксигеназу 2 типу (ЦОГ-2).	Високий ризик побічних ефектів з боку травної системи (у тому числі шлунково-кишкових кровотеч), а також часто викликає серйозні шкірні реакції.
Мелоксикам		Механізм дії пов'язаний зі зниженням біосинтезу простагландинів внаслідок пригнічення ферментативної активності ЦОГ-2, що бере участь у синтезі простагландинів у вогнищі запалення; незначно впливає на ЦОГ -1, що зменшує ризик розвитку побічної дії.	Має побічні ефекти з боку травної системи та нирок.
Лорноксикам		Інгібує фермент циклооксигеназу, яка забезпечує перетворення арахідонової кислоти у простагландини і тромбосани	Побічні ефекти з боку травної системи.

Теноксикам		Інгібує фермент циклооксигеназу, яка забезпечує перетворення арахідонової кислоти у простагландини як у вогнищі запалення, так і в інших тканинах організму	Побічні ефекти з боку травної системи.
------------	---	---	--

Основним показанням до їх застосування є ревматологічні захворювання (ревматизм, ревматоїдний артрит, анкілозуючий спондилоартрит, остеоартроз, подагра), де необхідні їх знеболювальний та протизапальний ефект. Окрім того, дані препарати призначають при невралгіях (ураження периферійних нервів, що характеризується нападами болю в зоні іннервації будь-якого нерва), міалгіях (симптом, який супроводжується больовими відчуттями різного характеру та генезу у м'язах), бурситах (запалення слизових сумок навколо суглобів), болях у попереку, альгодисменореї (болях та порушенні менструального циклу) та посттравматичному больовому синдромі [2]. Піроксикам також має жарознижувальну дію [5]. Лорноксикам здатен усувати післяопераційний больовий синдром, й може використовуватись разом із наркотичними анальгетиками та для випадків лікування хронічного болю.

Механізм дії оксикамів, подібно іншим нестероїдним протизапальним лікарським засобам, полягає в інгібуванні (пригніченні) ферменту циклооксигенази (ЦОГ). Остання бере безпосередню участь в розвитку запального процесу та забезпечує перетворення арахідонової кислоти у простагландини, які є основними медіаторами запалення в організмі людини. Окрім того, оксиками пригнічують вироблення тромбоксанів, що додатково гальмує запальний процес, зменшує відчуття болю, а також призводить до зниження температури тіла [3].

Серед оксикамів є препарати, які неселективно інгібують циклооксигеназу (є два різновиди даного фермента – ЦОГ-1 та ЦОГ-2), а

також селективні інгібітори ЦОГ-2. Це зумовлює відмінності у фармакологічних властивостях цих засобів, а також їх побічних ефектах.

Так, піроксикам належить до першої групи та пригнічує активність ЦОГ неселективно. За рахунок цього він має жарознижувальний та антиоксидантний ефект, а також виражену знеболювальну дію (виражена при внутрішньом'язовому введенні препарату). Водночас, він має значно більшу кількість побічних ефектів, ніж інші оксиками. Це зумовлено тим, що пошук нових похідних проводили таким чином, щоб синтезувати саме селективні похідні, у яких менше побічних ефектів.

Таким чином, пошук нових біологічно активних протизапальних сполук серед похідних оксикамів на сьогодні залишається актуальним завданням. Першим кроком на цьому шляху є створення віртуальних «бібліотек» нових сполук та скринінг задля визначення найбільш перспективних молекул та подальшого проведення доклінічних та клінічних досліджень *in vivo*.

РОЗДІЛ 2

ОСНОВНІ ПОКАЗНИКИ У ВІРТУАЛЬНОМУ СКРИНІНГУ НОВИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК

Віртуальний скринінг є одним із найпотужніших методів, який сучасна медична хімія використовує задля пошуку нових біологічно активних сполук [11]. Він дозволяє скоротити час, необхідний на розробку лікарських засобів, а також зменшити використання лабораторних тварин за рахунок попереднього відбору найбільш потенційно активних молекул.

Метод молекулярного моделювання, який оцінює зв'язування молекули із білком-мішенню, називається молекулярним докінгом. Його використовують для моделювання взаємодії між молекулою та білком, а за одержаними показниками [10].

Додатковим інструментом даного методу є фармакофорний підхід [12]. Цю концепцію вперше запропонував на початку ХХ століття німецький науковець Пауль Ерліх [1]. Відповідно до неї, фармакофором називають тривимірну структуру, що є фармакологічно активною частиною молекули. Відповідно, під час докінгу порівнюють відомий препарат та молекулу, що містить фрагмент з подібною структурою – фармакофор.

Окрім того, важливим є визначення фізико-хімічних властивостей досліджуваних сполук задля прогнозування їх здатності проникати в клітини крізь ліпідні мембрани, без чого неможлива взаємодія з білком-мішенню.

Таким чином, під час віртуального скринінгу нових біологічно активних молекул розраховують такі параметри як коефіцієнт ліпофільності ($\log P$), топологічний індекс площі поверхні полярних груп (TPSA), показник спорідненості (Binding Affinity Score, BAS) та енергію зв'язування (Binding Energy, BE, ккал/моль).

2.1. Коефіцієнт ліпофільності ($\log P$)

Окрім біологічної активності, нова сполука повинна мати певні молекулярні властивості, що важливі для її взаємодії з організмом людини (фармакокінетика). Це процеси всмоктування, розподілу, метаболізму та виведення (ADME) речовини. Якщо сполука має активність, але не зможе потрапити в клітину, фармакологічний ефект спостерігатися не буде.

Одним із методів оцінки цих параметрів є так звані «правило п'яти» або правила Ліпінські, які враховують:

1. Молекулярну масу – має бути до 500;
2. Коефіцієнт ліпофільності ($\log P$) – від 2 до 5;
3. Кількість нетермінальних зв'язків, що обертаються – до 10;
4. Кількість донорів водневого зв'язку – до 5;
5. Кількість акцепторів водневого зв'язку – до 10 [9].

Молекули, що відповідають цим характеристикам називають «лікоподібними» та надалі використовують для вивчення біологічної активності.

2.2. Топологічний індекс площі поверхні полярних груп (TPSA)

Показника TPSA (топологічний індекс площі поверхні полярних груп) також характеризує здатність молекули проникати крізь клітинну мембрану. Зазвичай молекули з площею поверхні полярних груп понад 140 \AA^2 мають низьку проникність [6], хоча для деяких макроциклічних сполук це значення може бути більше.

2.3. Енергія зв'язування (Binding Energy, BE, ккал/моль)

Цей показник визначається за результатами докінгу. Під час цього процесу досліджувана молекула розміщується в просторі відносно

нерухомого білка-мішені. Їх взаємна просторова орієнтація і є основним результатом докінгу. Ефективність одержаної орієнтації оцінюють за допомогою величини вільної енергії зв'язування (Binding Energy, BE, ккал/моль). Ця величина враховує всі попарні невалентні взаємодії між атомами досліджуваної сполуки та між нею і білком.

Значення енергії зв'язування порівнюють із таким же значенням для препарату порівняння, відповідно до чого роблять висновок про ймовірність виявлення молекулою біологічної активності.

РОЗДІЛ 3

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Фізико-хімічні властивості досліджуваних сполук визначали з використанням програмного комплексу <http://www.swissadme.ch/>, що має вільний доступ та дозволяє оцінити основні параметри молекули та її «лікоподібність», а також перевести структурну формулу молекули у формат SMILES, необхідний для подальших досліджень.

Віртуальний фармакофорний скринінг та молекулярний докінг, а також аналіз отриманих результатів здійснювали за допомогою програмного комплексу LigandScout 4.4.9 [14].

Бібліотека тривимірних структур у форматі *.ldb була сформована в LigandScout із використанням молекул у формат SMILES.

Як рецептор, у дослідженні було використано 3D структуру комплексу циклооксигенази-1 з мелоксикамом (4O1Z). Її кристалічна структура складається з 569 амінокислотних залишків; молекулярна маса становить близько 135250.

З використанням даного програмного забезпечення було виділено ключові фармакофорні характеристики комплексу ліганд – рецептор (6LU7), який було завантажено із глобальної бази білків Protein Data Bank (PDB). Одержаний фармакофор використовували для проведення віртуального скринінгу та докінгу сформованої бази молекул.

РОЗДІЛ 4

ВІРТУАЛЬНИЙ СКРИНІНГ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ
НОВИХ ПОХІДНИХ 1,2-БЕНЗОКСАТІН-4(3H)-ОН 2,2-ДІОКСИДУ

Ядро 1,2-бензоксатіін-4(3H)-он 2,2-діоксиду є структурним аналогом 1H-2,1-бензотіазин-4(3H)-он 2,2-діоксиду В, похідні якого показали високу ефективність у лікуванні больових відчуттів та запалення, та виявили більшу активність порівняно з такими відомими препаратами, як піроксикам та мелоксикам [13, 8].

Тому в роботі [1] похідні 1,2-бензоксатіін-4(3H)-он 2,2-діоксиду 1.1 були обрані як перспективні сполуки для пошуку нових біологічно активних речовин та подальшого створення лікарських препаратів з протизапальною дією.

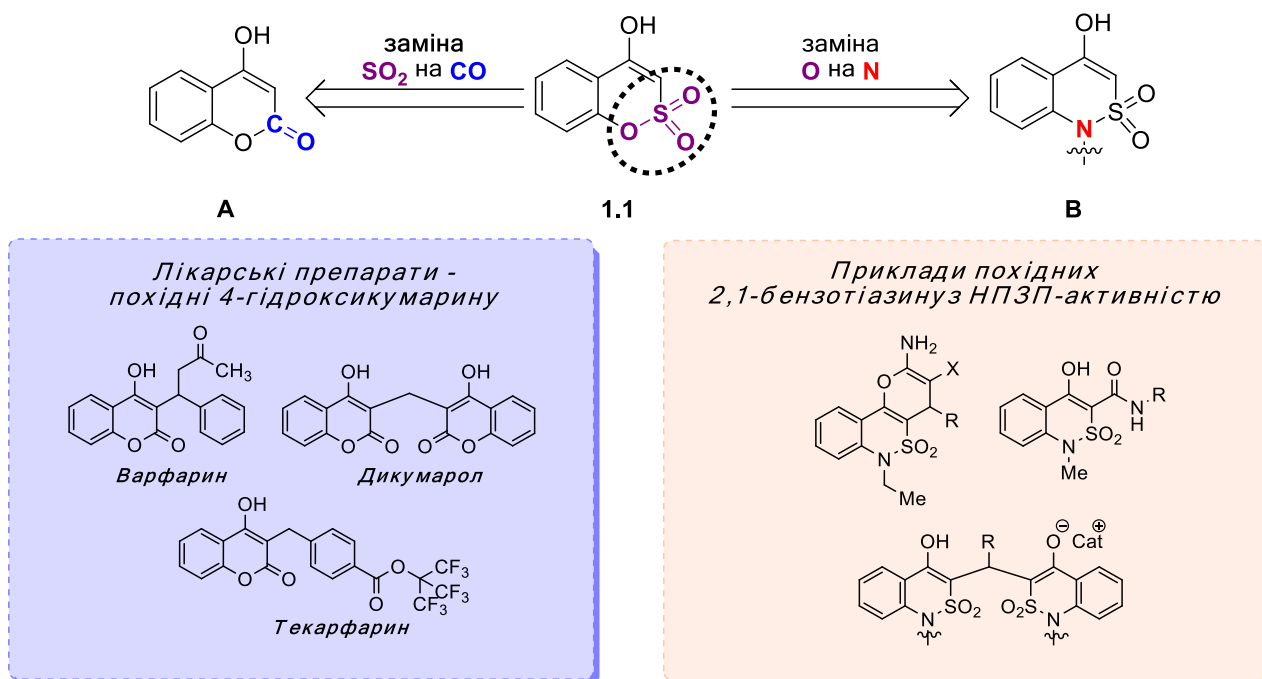
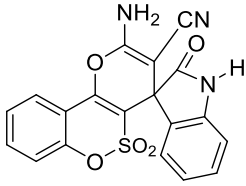
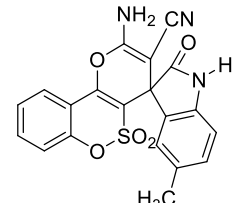
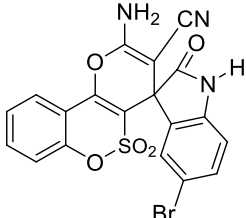


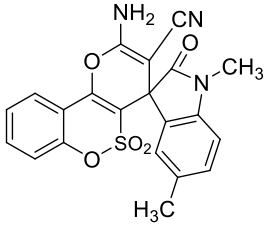
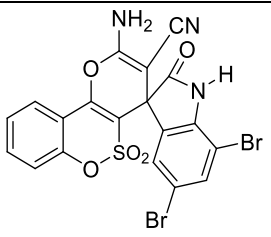
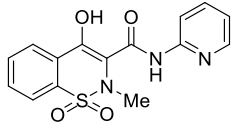
Рис. 4.1. Ізостеричні взаємозв'язки 1,2-бензоксатіін-4(3H)-он 2,2-діоксиду 1.1 та 4-гідроксикумарину А та 1H-2,1-бензотіазин-4(3H)-он 2,2-діоксиду В

У даній роботі було синтезовано 96 нових сполук, п'ять із яких було обрано для експериментальних досліджень протизапальної активності. Ними стали спіро[бензо[е]пірано[3,2-с][1,2]оксатіін-4,3'-індолілі] 5,5-діоксиди, так як досліджувані раніше аналогічні за структурою похідні 1*H*-2,1-бензонтіазин-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду виявилися найбільш перспективною групою в напрямку пошуку нових протизапальних лікарських засобів типу «оксикамів». Дослідження протизапальної та анальгетичної активностей синтезованих сполук проводили на кафедрі клінічної фармакології та клінічної фармації НФаУ під керівництвом д.м.н., проф. Зупанця І.А. Результати даних досліджень наведені в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

Результати дослідження протизапальної та анальгетичної активностей спіро[бензо[е]пірано[3,2-с][1,2]оксатіін-4,3'-індолілі] 5,5-діоксидів

Сполука	Доза (мг/кг)	Середній відсоток набряку, %*	Проти-запальна активність, %*	Зниження порогу больової чутливості, %*	Анальгетична активність, %*
 <p>a</p>	2.4	54.27±3.93**	3.3±2.2**	30.6±9.0	46.8±13.3
 <p>g</p>	2.4	35.81±1.65*,**	24.0±3.5**	23.5±5.8*	53.4±11.5
 <p>i</p>	2.8	36.25±4.45**	24.6±8.6**	38.3±5.1**	27.7±7.5**

 <p>m</p>	2.5	42.02±7.52**	23.5±11.5	26.1±6.5*	48.2±13.0
 <p>n</p>	3.3	51.61±6.7**	8.0±3.1**	29.3±11.7	46.8±21.0
 <p>піроксикам</p>	2	23.81±2.73*	49.4±5.8	22.7±3.3*	55.0±6.6
Контроль	-	47.1±3.2	-	50.4±3.1	-

Примітки:

- * – відмінності вірогідні відносно тварин групи контрольної патології ($p \leq 0,05$);
- ** – відмінності вірогідні відносно тварин, що отримували препарат порівняння піроксикам ($p \leq 0,05$).

За результатами експерименту, найвищу протизапальну активність виявила сполука **i** – 2-аміно-5'-бром-2'-оксопіро[бензо[*e*]пірано[3,2-*c*][1,2]оксатіін-4,3'-індолін]-3-карбонітрил 5,5-діоксид, який приводив до найбільшого пригнічення розвитку набряку, що відрізнялось від групи контрольної патології, хоча сам рівень протизапальної активності склав $24.6 \pm 8.6\%$, що нижче ніж у засобу порівняння піроксикаму (ПА – $49.4 \pm 5.8\%$). Зменшення об'єму набряку лапи у тварин, що отримували досліджувані сполуки **a**, **n** було достовірно менше ніж у групі препарату порівняння.

Аналгетична активність досліджуваних речовин виявилась варіабельною. Ймовірна здатність знижувати больову чутливість проявилась у препараті порівняння «Піроксикам» (АА склала 55.0% , що збігається із

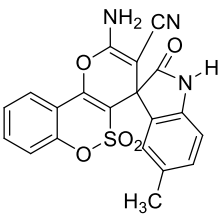
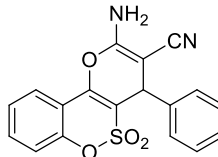
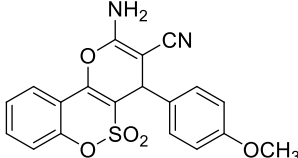
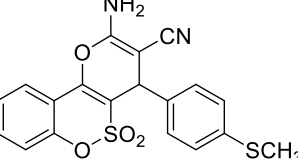
літературними даними) та сполуки **g** (AA складала 54%), але з великою варіабельністю (похибка сягає 11.5%), що робить зазначену здатність недостовірною та потребує подальшого вивчення.

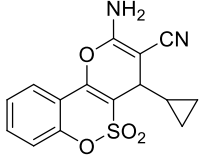
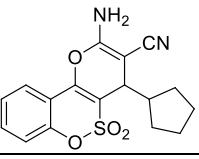
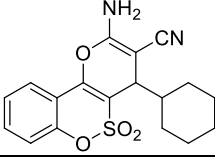
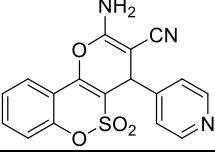
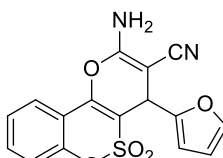
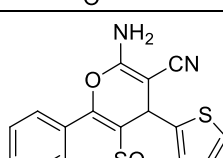
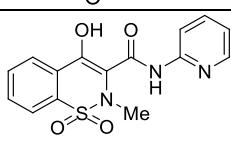
Таким чином, було зроблено висновок про необхідність розширення ряду досліджуваних сполук, а також проведення попереднього віртуального скринінгу задля визначення найбільш перспективних молекул для подальшого їх вивчення *in vivo*.

Для віртуального скринінгу було відібрано 10 сполук та на першому етапі визначено їх основні фізико-хімічні властивості, що визначають «лікоподібність». Результати даного дослідження наведено у таблиці 4.2

Таблиця 4.2

Віртуальний скринінг та визначення основних фізико-хімічних параметрів досліджуваних сполук

№	Сполука	M_r	$\log P$	TPSA, Å ²	Кількість нетермінальних зв'язків, що обертаються	Донор и ВЗ	Акцептор и ВЗ	Відповідність «правилу п'яти»
1		407.0	1.77	139.89	0	2	6	Не відповідає по 'logP'
2		352.6	2.32	110.79	1	1	5	Відповідає по всім пунктам «правила п'яти»
3		382.39	2.33	120.02	2	6	1	Не відповідає по 'Донори ВЗ'
4		398.46	2.87	136.09	2	1	5	Відповідає по всім пунктам «правила п'яти»

5		316.3 3	1.83	110.7 9	1	1	5	Не відповідає по $\log P$
6		344.3 8	2.46	110.7 9	1	1	5	Відповідає по всім пунктам «правила п'яти»
7		358.4 1	2.78	110.7 9	1	1	5	Відповідає по всім пунктам «правила п'яти»
8		353.3 5	1.59	123.6 8	1	1	6	Не відповідає по $\log P$
9		338.3 8	2.15	89.79	1	1	4	Відповідає по всім пунктам «правила п'яти»
10		358.3 9	2.33	139.0 3	1	1	5	Відповідає по всім пунктам «правила п'яти»
	 піроксикам	331.3 5	1.38	107.9 8	3	2	5	Не відповідає по $\log P$

Таким чином, з 10 досліджуваних сполук, шість відповідають усім пунктам правила Ліпінські. Сполуки 1, 5 та 8 сполуки відповідають по п'яти пунктам, але відрізняються по ' $\log P$ '. Сполука 3 не відповідає по параметру 'Донори ВЗ'. Варто зазначити, що піроксикам не відповідає «правила п'яти», хоча є лікарським препаратом з доведеною ефективністю та використовується в клінічній практиці.

Саме тому необхідно також проводити фармакофорні та докінгові дослідження.

На другому етапі було здійснено молекулярний докінг за допомогою

програмного комплексу LigandScout 4.4.9 та визначено енергії зв'язування досліджуваних сполук.

Основною дослідження слугував комплекс циклооксигенази-1 (ЦОГ-1) з мелоксикамом (4O1Z) (Рис. 4.2).

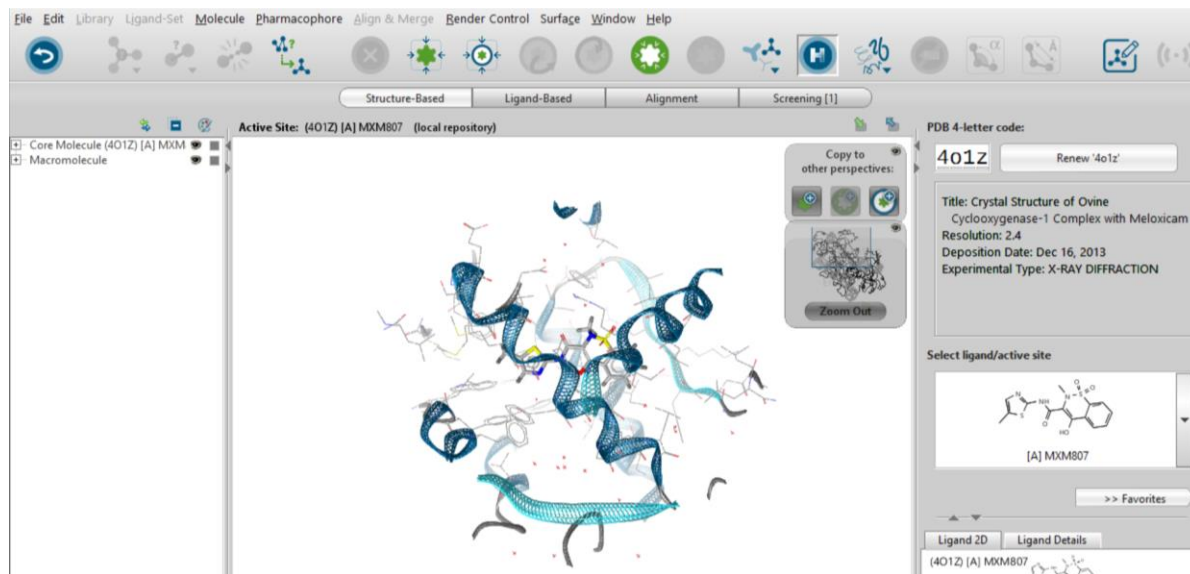


Рис. 4.2. Кристалічна структура комплексу циклооксигенази-1 з мелоксикамом (4O1Z)

Програмне забезпечення створює фармакофорну модель з урахуванням вже наявного ліганду (в нашому випадку – мелоксикам) та надалі проводиться віртуальний розрахунок подібності досліджуваних молекул та цього ліганду (Рис. 4.3.- 4.5.).

Rank	Mark	Name	#	Matching Features	Pharmacophore-Fit Score Γ	Mol. Index
1	<input type="checkbox"/>		1			37.31
2	<input type="checkbox"/>		2			36.17
3	<input type="checkbox"/>		3			35.98

Рис. 4.3. Результати фармакофорного скринінгу для сполуки 5

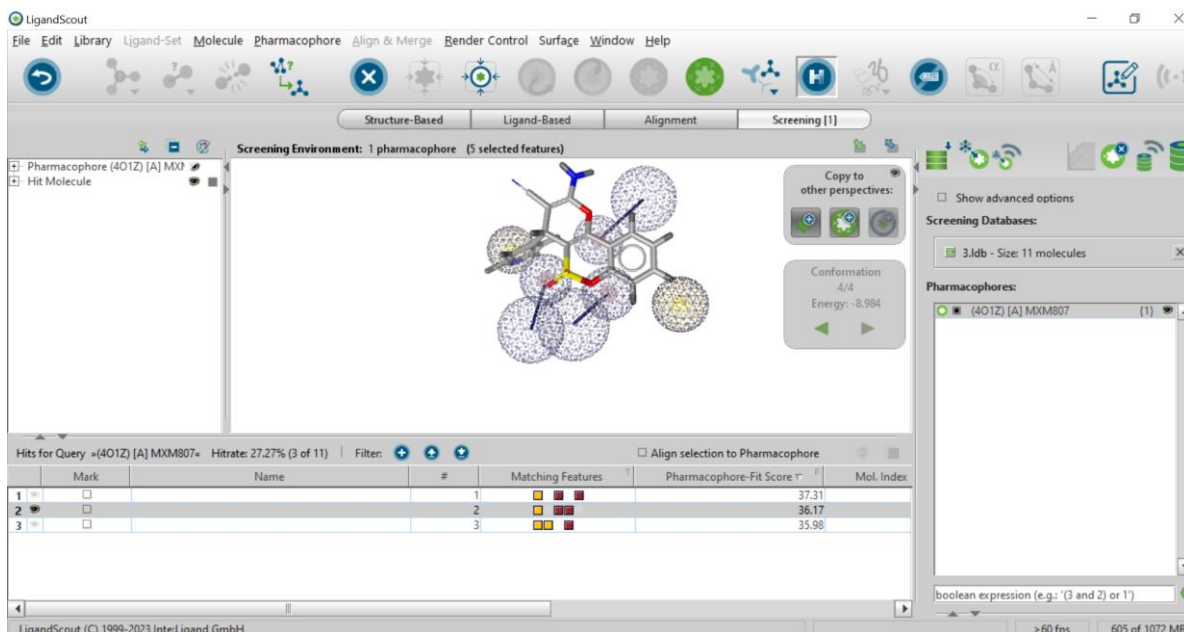


Рис. 4.4. Результати фармакофорного скринінгу для сполуки 2

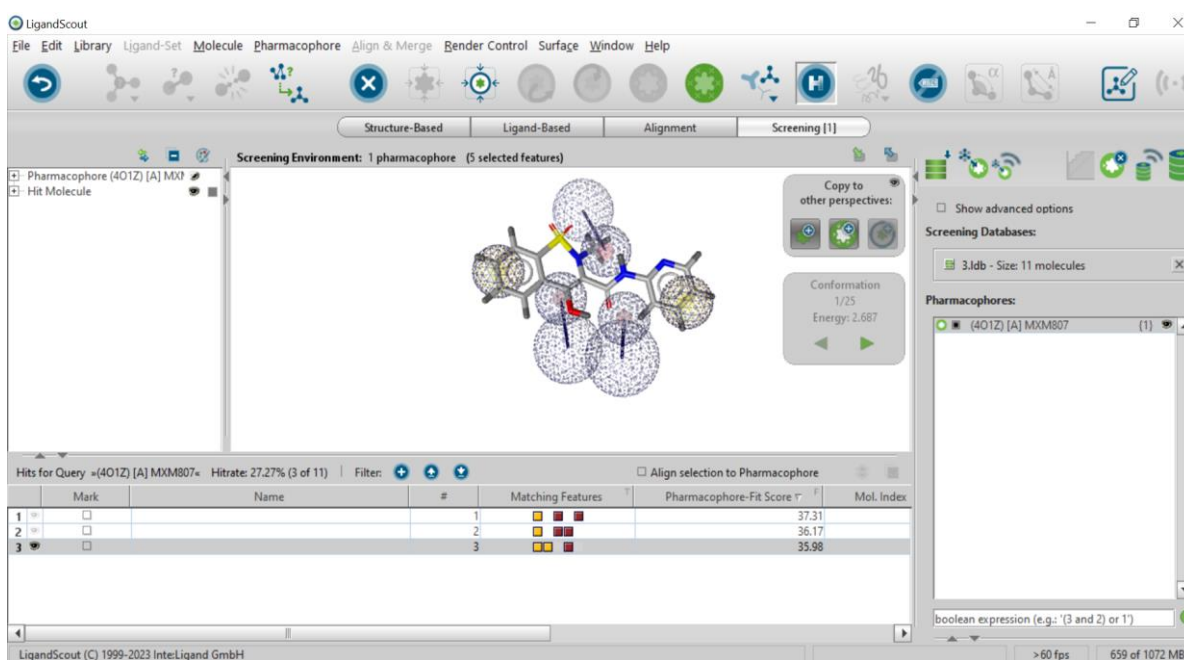


Рис. 4.5. Результати фармакофорного скринінгу для піроксикаму

Відповідно до одержаних результатів, найбільшу спорідненість до вихідного ліганду виявили три сполуки з досліджуваного ряду, а саме – сполука 5 (37.31), сполука 2 (36.17) та піроксикам (35.98).

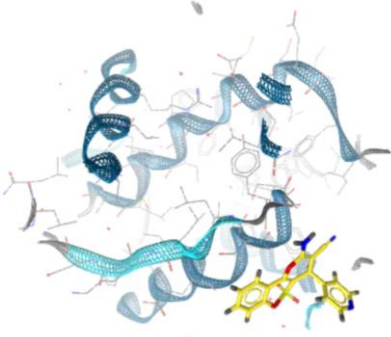
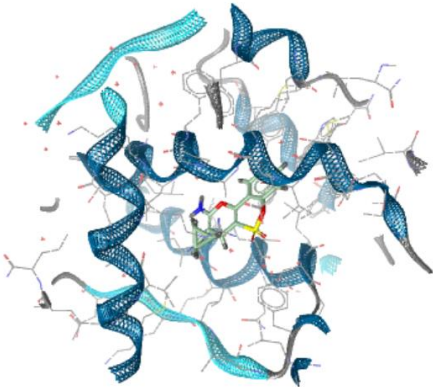
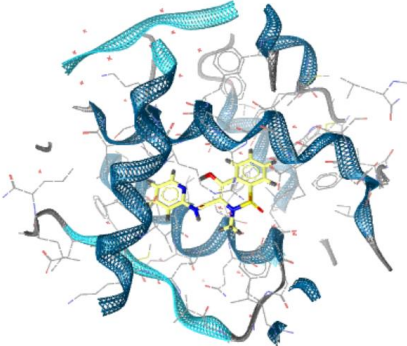
Таким чином, ці три сполуки підходять для подальшого дослідження, а саме – проведення докінгу та визначення сполук-лідерів.

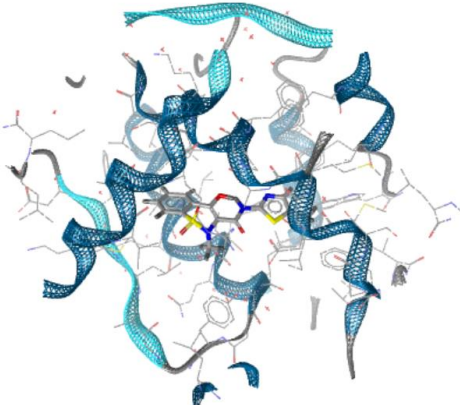
Тож, утворені фармакофорні моделі кожного з препаратів були

використані для докінгу та оцінки енергії зв'язування досліджуваних сполук. Результати даного етапу наведені в таблиці 4.3.

Таблиця 4.3

Результати докінгу

Сполука	Зв'язування з ЦОГ-1	BE, ккал/моль
2		-7.00
5		-9.10
Піроксикам		-7.40

Мелоксикам (ліганд)		-8.70
------------------------	--	-------

Таким чином, найвищим показник енергії зв'язування виявився для сполуки 5, він навіть перевищив показники для піроксикаму та мелоксикаму. Тому саме її можна рекомендувати для подальшого дослідження *in vivo* та розробки нових протизапальних препаратів.

ВИСНОВКИ

1. В ході роботи був проведений аналіз літературних джерел з обраної тематики, а також проведено ряд експериментальних досліджень *in silico*, а саме – віртуальний скринінг та докінг ряду нових похідних похідні 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду, деякі з яких раніше досліджувались *in vivo*, але не були достатньо вивчені.

2. За результатами віртуального скринінгу виявлено, що серед досліджуваних сполук шість повністю відповідають правилу Ліпінські та зазначеним у ньому фізико-хімічним параметрам. Водночас, відхилення інших молекул є незначними, і навіть піроксикам, використовуваний в практиці лікарський препарат, не має повного співпадіння.

3. Фармакофорне моделювання в програмі LigandScout 4.4.9 виявило три сполуки-лідера. Найбільшу спорідненість до вихідного ліганду виявила сполука 5 (37.31), а також сполука 2 (36.17) та піроксикам (35.98). Варто зазначити, що сполука 1 не увійшла до цього ряду, чим можна пояснити попередні посередні результати вивчення протизапальної активності *in vivo*.

4. Щодо результатів докінгу та розрахунку енергії зв'язування, то найвищим даний показник виявився для сполуки 5 (-9.10), він перевищив дані показники для піроксикаму та мелоксикаму, й узгоджується із результатом побудови фармакофору.

5. З урахуванням комплексу одержаних результатів найбільш доцільним є подальше вивчення сполуки 5 та подібних до неї похідних із аліциклічним замісником у циклі. Варто провести розширений віртуальний скринінг та докінг цього ряду сполук, на основні його обрати молекули для досліджень протизапальної активності *in vivo*.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

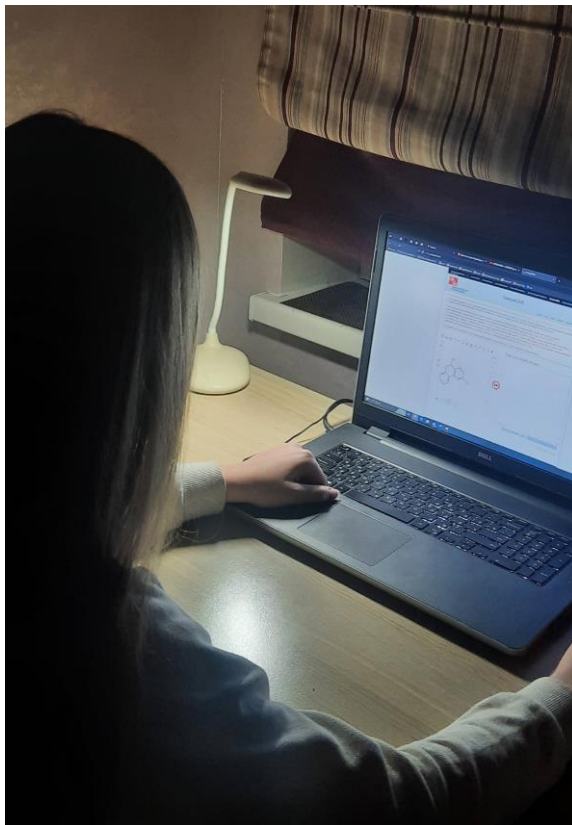
1. Григорів Г.В. Синтез та біологічна активність конденсованих 2-аміно-3-*R*-4*H*-піранів на основі 1,2-бензоксатіін-4(3*H*)-он 2,2-діоксиду: дисертація кандидата фармацевтичних наук: 15.00.02 / Національний фармацевтичний університет. Харків, 2019. 199 с.
2. Дроговоз С.М. Фармакологія-Сіто / Харків: Золоті сторінки, 2013. 192 с.
3. Загальна фармакологія: підручник / І. С. Чекман та ін. / Запорізький державний медичний університет. Запоріжжя, 2016. 209 с.
4. Нестероїдні протизапальні препарати // Фармацевтична енциклопедія. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1232/nesteroidni-protizapalni-preparati#list> (дата звернення: 02.11.2023)
5. Піроксикам: інструкція із застосування // Компендіум. URL: <https://compendium.com.ua/dec/281354/6424/> (дата звернення: 02.11.2023)
6. Evseeva L.V., Ivanov V.V., Karpina V.R., Kovalenko S.S., Kuznetsov I.E., Langer T., Maes L.J., Kovalenko S.M. The Virtual Screening Application for Searching Potential Antiviral Agents to Treat COVID-19 Disease. *J. Org. Pharm. Chem.* 2020. V. 18. P. 3-15.
7. Joseph G. Lombardino, John A. Lowe. The role of the medicinal chemist in drug discovery — then and now. *Nature Reviews Drug Discovery.* 2004. Volume 3, P. 853–862.
8. Lega D.A., Filimonova N.I., Zupanets I.A., Shebeko S.K., Chernykh V.P., Shemchuk L.A. Antimicrobial, anti-inflammatory and analgesic activities of 2-amino-6-ethyl-4,6-dihydropyrano[3,2-*c*][2,1]benzothiazine 5,5-dioxides and triethylammonium 3-[1-(4-hydroxy-1-ethyl-2,2-dioxido-1*H*-2,1-benzothiazin-3-yl)-3-(het)arylmethyl]-1-ethyl-1*H*-2,1-benzothiazin-4-olat 2,2-dioxides. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry.* 2016. V. 14. P. 3–11.
9. Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J. Experimental and

- computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Delivery Rev.* 2001. V. 46 (1–3). P. 3–26.
10. McConkey B.J., Sobolev V., Edelman M. The performance of current methods in ligand-protein docking. *Current Science.* 2002. V. 83. P. 845–855.
 11. Sakkiah S., Thangapandian S., John Y.J., Kwon K.W. Ligand and structure based pharmacophore modeling to facilitate novel histone deacetylase 8 inhibitor design. *Eur. J. Med. Chem.* 2010. V. 45. P. 4409-4417.
 12. Sheng-Yong Yang. Pharmacophore modeling and applications in drug discovery: challenges and recent advances. *Drug Discovery Today.* 2010. V. 15. P. 444–450.
 13. Ukrainets I.V., Petrushova L.A., Dzyubenko S.P., Sim G. 2,1-Benzothiazine 2,2-dioxides. Synthesis, structure, and analgesic activity of 1-R-4-hydroxy-2,2-dioxo-1*H*-2λ6,1-benzothiazine-3-carboxylic acid esters. *Chem. Heterocycl. Compd.* 2014. V. 50. P. 103–110.
 14. Wolber G., Dornhofer A.A., Langer T. Efficient overlay of small organic molecules using 3D pharmacophores. *J. Comput.-Aided Mol. Des.* 2006. V. 20 (12). P. 773–788.

ДОДАТКИ

Додаток А

Віртуальний скринінг та визначення основних фізико-хімічних параметрів досліджуваних сполук у програмі SwissAdme



Додаток Б

Молекулярний докінг за допомогою програмного комплексу LigandScout 4.4.9 та визначено енергії зв'язування досліджуваних сполук.

