

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Семенець Антон Павлович

УДК 547.745: 615.21

ДИСЕРТАЦІЯ

**Молекулярне моделювання та синтез біологічно активних речовин
ноотропної дії в ряду похідних 4-R-1-бензилпіролідін-2-ону**

226 – Фармація, промислова фармація

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ А. П. Семенець

Науковий керівник: Перехода Ліна Олексіївна, доктор фармацевтичних наук,
професор

Харків 2023

АНОТАЦІЯ

Семенець А.П. Молекулярне моделювання та синтез біологічно активних речовин ноотропної дії в ряду похідних 4-R-1-бензилпіролідін-2-ону. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 – Фармація, промислова фармація. – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2023.

Дисертаційна робота присвячена пошуку нових біологічно активних речовин в ряду похідних 4-R-1-бензилпіролідін-2-ону, дослідженню їх ноотропних властивостей за допомогою методів *in silico* та *in vivo*.

При плануванні експериментальних досліджень проаналізовано сучасний асортимент ноотропних лікарських засобів, що використовуються в Україні, розглянута їх хімічна структура, механізм дії, властивості, особливості застосування, переваги та недоліки основних представників. Доведено, що незважаючи на досить широкий вибір сучасних ноотропних засобів, не всі з них повністю відповідають максимально жорстким критеріям оптимальності застосування в неврології. На основі проведеного аналізу теоретично обґрунтовані доцільність та продовження пошуку нових препаратів ноотропної дії серед похідних піролідону.

Як базовий скафолд для синтетичних досліджень нами був обраний 1-бензил-піролідін-2-он, що обумовлено його структурною подібністю до рацетамів та успішним використанням в створенні багатоцільових молекулярних гібридів здатних зменшувати когнітивну дисфункцію. З метою створення нових синтетичних матриць проведена його структурна модифікація, яка базувалася на поєднанні з 3-тіо-1,2,4-тріазольним каркасом, насиченим арильними, алкільними та гетерильними замісниками, що, на нашу думку, може сприяти появі активності, потенціюванню бажаної ноотропної дії, зменшенню токсичності.

На наступному етапі синтетичних досліджень об'єктом хімічної модифікації було обрано Небрацетам (4-(амінометил)-1-бензилпіролідін-2-он), який модифікували шляхом введення в бензильний радикал замісників різної електронної природи. Небрацетам, згідно даних літератури, може покращувати лінгвістичне навчання та пам'ять у пацієнтів з деменцією. Отже поглиблене вивчення методів синтезу ряду його аналогів представляло безперечний інтерес. Для одержання цільових аналогів запропоновано два способи синтезу (базовий (1) та альтернативний (2)). В обох способах введення замісників в бензильний радикал 4-(амінометил)-1-бензилпіролідін-2-ону було заплановано вже на першій стадії синтезу шляхом нагрівання суміші ітаконової кислоти та заміщених бензиламінів в еквімолярних співвідношеннях до утворення 1-R-бензил-5-оксопіролідін-3-карбонових кислот. За першим способом (Спосіб 1) з 1-R-бензил-5-оксопіролідін-3-карбонових кислот одержували відповідні метилові естери з подальшим додаванням боргідриду натрію до утворення 4-гідроксиметил-1-R-бензилпіролідін-2-онів, які потім використовували для одержання відповідних метансульфонатів під дією мезилатхлориду та азидів з подальшим додаванням трифенілфосфіну до утворення цільових гідрохлоридів 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідін-2-онів.

Враховуючи необхідність використання в базовому способі азиду натрію, який є високотоксичною та вибухонебезпечною речовиною, нами запропоновано альтернативний більш екологічний спосіб синтезу (Спосіб 2), перевагою використання якого є також скорочення стадійності синтезу. Одержані 1-R-бензил-5-оксопіролідін-3-карбонові кислоти піддавали амідуванню з подальшою модифікацією в нітрили, які потім відновлювали до 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідін-2-онів та одержували відповідні гідрохлориди.

З метою збільшення виходів цільових продуктів методика альтернативного способу синтезу (Способу 2), який є пріоритетним в порівнянні з базовим способом (Способом 1), була нами оптимізована шляхом зміни умов проведення реакцій.

Синтез цільових 1-бензил-4-(4-(R)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідин-2-онів відбувався у декілька стадій шляхом взаємодії бензиламіну з ітаконовою кислотою в еквімолярному співвідношенні до 1-бензил-5-оксопіролідин-3-карбонової кислоти, яку піддавали гідразінолізу з отриманням відповідного гідразиду. Потім додавали відповідні заміщені ізотіаціанати з подальшою циклізацією проміжних тіосемікарбазидів.

З метою створення нових синтетичних матриць нами була проведена подальша модифікація 5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазольного фрагменту шляхом введення залишку оцтової кислоти та подальшого амідування. Перші дві стадії полягають в утворенні 1-бензил-5-оксопіролідин-3-карбонової кислоти та відповідного гідразиду і є аналогічними попередньому синтезу. Подальше нагрівання з 2-ізотіаціанатом оцтової кислоти призвело до утворення проміжного тіосемікарбазиду, який циклізували у 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідин-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтову кислоту в подальшому амідували.

В рамках виконання дисертаційної роботи синтезовано 45 нових, не описаних в літературі сполук, структура та індивідуальність яких підтверджена методами ^1H , ^{13}C ЯМР-спектроскопії, LC-MS та елементним аналізом.

Для синтезованих речовин вперше здійснено молекулярний докінг до ноотропних біомішеней з метою оптимізації подальшого експериментального скринінгу на лабораторних тваринах. Вибір молекулярного докінгу для оптимізації пошуку нових молекул спрямованої дії обумовлений найбільшою ймовірністю прогнозування активності та наданням якісної та кількісної оцінки зв'язування з мішенню.

В процесі виконання роботи був створений органайзер кристалографічних моделей рецептора N-метил-D-аспартату та ацетилхолінових рецепторів. Були проаналізовані та узагальнені всі ланки, які впливають на нейротрансмісію з метою доцільності вибору конкретних доменів рецепторів для зв'язування їх сайтів з синтезованими речовинами. Опрацьований масив обчислених цифрових значень стиковки та проведений

детальний аналіз геометричного розташування синтезованих сполук в алостеричних сайтах мішеней свідчить, що всі тестовані молекули, в тій чи іншій мірі, сприятимуть прояву ноотропній активності через механізми холінергічної нейротрансмісії.

З метою виявлення кореляції одержаних результатів *in silico* досліджень та майбутніх експериментальних показників для первинного фармакологічного скринінгу були рекомендовані 12 перспективних сполук в ряду похідних 1-бензил-4-(4-(R)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідин-2-ону та амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідин-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти з найкращими і посередніми оціночними значеннями докінгу.

Проведена оцінка потенційної токсичності перспективних сполук за допомогою онлайн-інструменту pkCSM. На підставі одержаних значень токсичності (LD50 і LOAEL) при пероральному прийомі встановлено, що сполуки мають проявляти антиамнестичну дію в дозах, які становлять приблизно 1/10 розрахованих значень, що є прийнятним.

Експериментальний скринінг на ноотропну активність проводили на базі Навчально-наукового інституту прикладної фармації Національного фармацевтичного університету. Для фармакологічного скринінгу обрана базовою модель скополамін-індукованої амнезії для вивчення впливу речовин на формування та відтворення пам'ятного сліду у тесті умовного рефлексу пасивного уникнення. Оцінку ноотропної активності визначали за кількістю тварин, які досягли критерію навчання та за значеннями антиамнестичної активності. За результатами скринінгу знайдені речовини, які мають антиамнестичну активність на рівні референс препарату Пірацетаму або перевищують цей показник.

Підтвердженням ефективності пошуку ноотропних агентів стало виявлення найбільш перспективної сполуки 1-бензил-4-{4-[2-оксо-2-(піперидин-1-іл)етил]-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл}піролідин-2-ону, яка повністю усунула амнезувальний ефект скополаміну:

критерію навченості досягли 100% тварин, антиамнестична активність становила 106,4%. Таким чином, досліджувана сполука перевершила Пірацетам за ноотропною (антиамнестичною) активністю і є перспективною для подальших досліджень. *In silico* оцінка фармакокінетичного профілю перспективної сполуки показала, що вона має сприятливі характеристики і може бути рекомендована до подальшого вивчення.

Сполука може бути одержана в умовах хіміко-фармацевтичного підприємства за доступною технологією, що дозволяє передбачити можливість її застосування у медичній практиці для лікування когнітивних дисфункцій.

Ключові слова: 4-R-1-бензилпіролідін-2-он, 1-бензил-4-(4-(R)-5-сульфонілден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідін-2-он, синтез, рецептор N-метил-D-аспартату, ацетилхоліновий рецептор, молекулярний докінг, ноотропна активність.

Список публікацій здобувача

1. Semenets A., Suleiman M., Georgiyants V., Kovalenko S., Kobzar N., Grinevich L., Pokrovskii M., Korokin M., Soldatov V., Bunyatyan V., Perekhoda L. Theoretical justification of a purposeful search of potential neurotropic drugs. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2020. №4 (26). С. 4-17. doi.org/10.15587/2519-4852.2020.210042. (Scopus, quartile 4). (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, обробка й узагальнення результатів, участь у написанні статті).
2. Semenets A. P., Suleiman M. M., Fedosov A. I., Shtrygol S. Yu., Havrylov Ih. O., Mishchenko M. V., Kovalenko S. M., Georgiyants V. A., Perekhoda L. O. Synthesis, docking, and biological evaluation of novel 1-benzyl-4-(4-(R)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl)pyrrolidin-2-ones as potential nootropic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2022. 244. P. 114823. doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114823 (Scopus, quartile 1). (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, обробка й узагальнення результатів, участь у написанні статті).

3. Перехода Л. О., Семенець А. П., Сулейман М. М., Георгіянц В. А., Коваленко С. М., Штриголь С. Ю., Федосов А. І., Яременко В. Д. 1-Бензил-4-{4-[2-оксо-2-(піперидин-1-іл)етил]-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-3-іл}піролідин-2-он, що виявляє ноотропну активність: пат. на корисну модель № 153961 України: МПК C07D 207/26, C07D 249/08, C07D 281/10, C07D 291/04, C07D 295/00, A61P 25/28. № у 2022 04591; заявл. 05.12.2022; опубл. 28.09.2023, Бюл. № 39. (Особистий внесок – патентний пошук, одержання лікарської субстанції та оформлення патенту)
4. Семенець А.П., Маріуца І.О., Сулейман М.М., Георгіянц В.А., Коваленко С.М., Перехода Л.О. Цілеспрямований пошук нових ноотропних агентів в ряду похідних піролідин-2-ону. *«Ліки – людині»: сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: Матеріали IV міжнар. наук.-практ. конф., 12-13 березня 2020 р., м. Харків., Т. 2. 2020. С. 499-501.
5. Семенець А. П., Сулейман М. М., Маріуца І. О., Ющенко А. М., Коваленко С. М., Перехода Л. О. Синтез, будови та фізико-хімічні властивості похідних 4-R-1- бензилпіролідин-2-ону. *Управління якістю в фармації*: Матеріали XIV міжнар. наук.-практ. конф., 22 травня 2020 р., м. Харків., 2020. С. 165.
6. Vedenyev S. V., Semenets A. P., Suleiman M. M., Perekhoda L. O. The use of molecular docking for the rational design of new "drug-like" molecules. *Topical issues of new medicines development*: Матеріали XXVII міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, 8-10 квітня 2020 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2020. С. 22-23.
7. Zaari M. Yu, Sych I. V., Semenets A. P., Suleiman M. M., Perekhoda L. O. Synthesis of new 2,5-disubstituted 1,3,4-thiadiazole derivatives which contain 1,2,4-triazole fragment. *Topical issues of new medicines development*: Матеріали XXVII міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, 8-10 квітня 2020 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2020. С. 26-27.

8. Семенец А. П., Ковальчук В. В., Сулейман М. М., Гриневич Л. А., Кобзарь Н.П., Георгиянц В. А., Коваленко С.Н., Перехода Л. А. *In silico* исследование фармакокинетического профиля производных 1-бензил-4-[4-(R-2-ил)-5-сульфанилиден-4,5-дигидро-1H-1,2,4-триазол-3-ил] пирролидин-2-она. *Fundamental and applied research in the modern word: Матеріали V міжнар. наук.-практ. конф.*, 16-18 грудня 2020 р., м. Бостон, 2020. С. 615-620.
9. Semenets A., Suleiman M., Kobzar N., Grinevich L., Georgiyants V., Kovalenko S., Perekhoda L. Search for new neurotropic agents in a series of alkyl derivatives 1-benzyl-4-[5-(R-sulphanyl)-4-R1- 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl]-2-one. *Results of modern scientific research and development: Матеріали II міжнар. наук.-практ. конф.*, 2-4 травня 2021 р., м. Мадрид, 2021. С. 109-112.
10. Semenets A., Suleiman M., Grinevich L., Kobzar N., Kovalenko S., Georgiyants V., Perekhoda L. Synthesis and prediction of nootropic activity of substituted 4-(aminomethyl)-1-benzylpyrrolidin-2-ones. «100 years of success and quality», dedicated to the 100th anniversary of Pharmaceutical Chemistry Department of the National University of Pharmacy: Матеріали міжнар. наук.-практ. симп., 18 жовтня 2021 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2021. С. 35-36.
11. Semenets A., Suleiman M., Perekhoda L. Synthesis and docking studies of new 1-benzyl-4-(4-(R)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl)pyrrolidin-2- ones as potential nootropic agents. *Competition work of «100 years of success and quality», dedicated to the 100th anniversary of Pharmaceutical Chemistry Department of the National University of Pharmacy: Матеріали міжнар. наук.-практ. симп.*, 18 жовтня 2021 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2021. С. 12-15.
12. Dedik B., Semenets A., Suleiman M., Grinevich L., Kobzar N., Perekhoda L. The use of docking studies to predict the nootropic effect among 4-(aminomethyl)-1-benzylpyrrolidin-2-one derivatives. *Science innovations and*

education problems and prospects: Матеріали II міжнар. наук.-практ. конф., 13-15 січня 2021 р., м. Токіо, 2021. С. 150-154.

13. Maizou E., Semenets A. P., Kobzar N. P. Suleiman M. M. Docking studies of the nootropic effect of new racetams. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів*: Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, 19-21 квітня 2023 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2023. С. 25-27.
14. Семенець А. П., Сулейман М. М., Коваленко С. М., Георгіянц В. А., Перехода Л.О. Синтез та докінгові дослідження ноотропної дії похідних амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-пірролідін-3-іл)-5-тіоксо-1H-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти. *Modern chemistry of medicines*: Матеріали міжнар. internet-конф., 18 травня 2023 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2023. С. 220-221.
15. Перехода Л.О., Сулейман М. М., Семенець А. П. Пошук нових біологічно активних речовин ноотропної дії в ряду бензилзаміщених похідних пірролідін-2-ону. Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2023», 23-24 листопада 2023 року, м. Запоріжжя. З.:ЗДМФУ, 2023. С. 109.

ANNOTATION

Semenets A.P. Molecular modeling and synthesis of biologically active substances with nootropic action in a series of 4-R-1-benzylpyrrolidin-2-one derivatives. – A manuscript.

The thesis for the scientific degree of Doctor of Philosophy in specialty 226 – Pharmacy, industrial pharmacy. – National University of Pharmacy, Ministry of Public Health of Ukraine, Kharkiv, 2023.

The dissertation work is devoted to the search for new biologically active substances in a number of 4-R-1-benzylpyrrolidin-2-one derivatives, to the study of their nootropic properties using *in silico* and *in vivo* methods.

When planning experimental studies, the current range of nootropic drugs used in Ukraine was analyzed, their chemical structure, mechanism of action, properties, features of use, advantages and disadvantages of the main representatives were considered. It is proved that despite a fairly wide range of modern nootropic drugs, not all of them fully meet the most stringent criteria for optimal use in neurology. On the basis of the analysis, the expediency and continuation of the search for new nootropic drugs among pyrrolidone derivatives are theoretically substantiated.

We chose 1-benzyl-pyrrolidin-2-one as a basic scaffold for synthetic studies due to its structural similarity to racetams and its successful use in the creation of multipurpose molecular hybrids capable of reducing cognitive dysfunction. In order to create new synthetic matrices, its structural modification was carried out, which was based on the combination with a 3-thio-1,2,4-triazole framework saturated with aryl, alkyl and heteryl substituents, which, in our opinion, can contribute to the appearance of activity, potentiation of the desired nootropic effect, and reduction of toxicity.

At the next stage of synthetic research, Nebracetam (4-(aminomethyl)-1-benzylpyrrolidin-2-one) was chosen as the object of chemical modification, which was modified by introducing substituents of different electronic nature into the benzyl radical. According to the literature, Nebracetam can improve linguistic learning and

memory in patients with dementia. Therefore, an in-depth study of the methods for synthesizing a number of its analogs was of undoubted interest. Two synthesis methods (basic (1) and alternative (2)) were proposed to obtain the target analogs. In both methods, the introduction of substituents into the benzyl radical of 4-(aminomethyl)-1-benzylpyrrolidin-2-one was planned at the first stage of synthesis by heating a mixture of itaconic acid and substituted benzylamines in equimolar ratios to form 1-R-benzyl-5-oxopyrrolidin-3-carboxylic acids. According to the first method (Method 1), the corresponding methyl esters were obtained from 1-R-benzyl-5-oxopyrrolidine-3-carboxylic acids with the subsequent addition of sodium borohydride to form 4-hydroxymethyl-1-R-benzylpyrrolidin-2-ones, which were then used to obtain the corresponding methanesulfonates under the action of mesylate chloride and azides, followed by the addition of triphenylphosphine to form the target hydrochlorides of 4-(aminomethyl)-1-R-benzylpyrrolidin-2-ones.

Taking into account the need to use sodium azide in the basic method, which is a highly toxic and explosive substance, we propose an alternative more environmentally friendly synthesis method (Method 2), which also has the advantage of reducing the synthesis steps. The obtained 1-R-benzyl-5-oxopyrrolidin-3-carboxylic acids were subjected to amidation with subsequent modification into nitriles, which were then reduced to 4-(aminomethyl)-1-R-benzylpyrrolidin-2-ones and the corresponding hydrochlorides were obtained.

In order to increase the yields of the target products, we optimized the methodology of the alternative synthesis method (Method 2), which is preferred over the basic method (Method 1), by changing the reaction conditions.

The synthesis of the targeted 1-benzyl-4-(4-(R)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl)pyrrolidin-2-ones was carried out in several steps by the interaction of benzylamine with itaconic acid in an equimolar ratio to 1-benzyl-5-oxopyrrolidin-3-carboxylic acid, which was subjected to hydrazinolysis to give the corresponding hydrazide. Then the corresponding substituted isothiocyanates were added, followed by cyclization of intermediate thiosemicarbazides.

In order to create new synthetic matrices, we further modified the 5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazole fragment by introducing an acetic acid residue and subsequent amidation. The first two steps involve the formation of 1-benzyl-5-oxopyrrolidin-3-carboxylic acid and the corresponding hydrazide and are similar to the previous synthesis. Further heating with 2-isothiocyanate of acetic acid led to the formation of the intermediate thiosemicarbazide, which was cyclized to 2-[3-(1-benzyl-5-oxo-pyrrolidin-3-yl)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-4-yl]acetic acid and further amidated.

As part of the dissertation work, 45 new compounds, not described in the literature, were synthesized, the structure and individuality of which were confirmed by the methods of ^1H , ^{13}C NMR-spectroscopy, LC-MS and elemental analysis.

The choice of molecular docking to optimize the search for new molecules of targeted action is due to the highest probability of predicting activity and providing a qualitative and quantitative assessment of binding to the target.

An organizer of crystallographic models of the N-methyl-D-aspartate receptor and acetylcholine receptors was created. All links that affect neurotransmission are analyzed and summarized in order to expediency in choosing the appropriate domains of receptors for binding their sites with synthesized substances. The elaborated array of calculated digital docking values and the detailed analysis of the geometric arrangement of the synthesized compounds in the allosteric sites of the targets show that all the tested molecules will to some extent contribute to nootropic activity through cholinergic neurotransmission mechanisms.

In order to correlate the obtained results of *in silico* studies and future experimental indicators for primary pharmacological screening, 12 promising compounds in a series of 1-benzyl-4-(4-(R)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazole-3-yl)pyrrolidin-2-one and amides 2-[3-(1-benzyl-5-oxo-pyrrolidin-3-yl)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-4-yl] acetic acid with best and intermediate docking estimates.

Assessment of the potential toxicity of promising compounds was carried out using the pkCSM online tool. On the basis of the obtained values (LD50 and

LOAEL) at oral administration, it was determined that the compounds should exhibit anti-amnesic effects at doses that are approximately 1/10 of the calculated values, which is acceptable.

Experimental screening for nootropic activity was performed on the basis of the Educational and Scientific Institute of Applied Pharmacy of the National University of Pharmacy. For pharmacological screening, a basic model of scopolamine-induced amnesia was chosen to study the influence of substances on the formation and reproduction of a memory trace in the conditioned passive avoidance reflex test. The evaluation of nootropic activity was determined by the number of animals that reached the learning criterion and by the values of anti-amnesic activity. According to the results of the screening, substances were found that have anti-amnesic activity at the level of the reference drug Piracetam or exceed this value.

The most promising compound -1-benzyl-4-{4-[2-oxo-2-(piperidin-1-yl)ethyl]-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl}pyrrolidin-2-one was found to completely eliminate the amnesic effect of scopolamine: 100% of animals reached the learning criterion, and the anti-amnesic activity was 106.4%. Thus, the compound under study outperformed Piracetam in terms of nootropic (anti-amnesic) activity and is promising for further research. *In silico* evaluation of the pharmacokinetic profile of the promising compound showed that it has favorable characteristics and can be recommended for further study.

The compound can be produced in a chemical-pharmaceutical enterprise using an affordable technology, which allows us to predict the possibility of its use in medical practice for the treatment of cognitive dysfunctions.

Keywords: 4-R-1-benzylpyrrolidin-2-one, 1-benzyl-4-(4-(R)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl)pyrrolidin-2-one, synthesis, N-methyl-D-aspartate receptor, acetylcholine receptor, molecular docking, nootropic activity.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	16
ВСТУП	18
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД АСОРТИМЕНТУ ТА МЕХАНІЗМІВ ДІЇ НООТРОПНИХ ЗАСОБІВ РІЗНОЇ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ (Огляд літератури)	25
1.1 Похідні піролідону	29
1.2 Похідні диметиламіноетанолу	33
1.3 Препарати нейроамінокислот	35
1.3.1 ГАМК та її похідні	35
1.3.2 Гліцин і його похідні	37
1.3.3 Похідні глутамінової кислоти	39
1.4 Похідні ксантину	40
1.5 Вітаміни та їх похідні	40
1.5.1 Похідні вітамінів групи В	40
1.5.2 Похідні пантотенової кислоти	42
1.5.3 Токоферолу ацетат (<i>Вітамін E</i>)	43
1.6 Холіноміметики центральної дії	44
1.7 Препарати, що посилюють мозковий кровообіг, мікроциркуляцію та метаболізм	44
1.8 Препарати <i>Ginkgo biloba</i>	46
Резюме	48
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	
2.1 Матеріали та методи для синтетичних досліджень	49
2.2 <i>In silico</i> методи прогнозування активності та токсичності	49
2.3 Фармакологічні методи дослідження	50
2.4 Статистичні методи дослідження	53
РОЗДІЛ 3 ЦІЛЕСПРЯМОВАНИЙ СИНТЕЗ НОВИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН В РЯДУ ПОХІДНИХ 4-R-1-	54

	БЕНЗИЛПРОЛІДИН-2-ОНУ	
	3.1 Синтез похідних 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідін-2-ону (аналогів Небрацетаму)	56
	3.2 Синтез похідних 1-бензил-4-(4-(R)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1 <i>H</i> -1,2,4-тріазол-3-іл)піролідін-2-ону	66
	3.3 Синтез похідних амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідін-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1 <i>H</i> -1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти	76
	<i>Експериментальна частина</i>	83
	Висновки до розділу 3	88
РОЗДІЛ 4	<i>IN SILICO</i> ТА <i>IN VIVO</i> ДОСЛІДЖЕННЯ НООТРОПНОЇ АКТИВНОСТІ ТА ТОКСИЧНОСТІ СИНТЕЗОВАНИХ СПОЛУК В РЯДУ ПОХІДНИХ 4-R-1-БЕНЗИЛПРОЛІДИН-2-ОНУ	91
	4.1 Обґрунтування вибору мішеней для докінгових досліджень: органайзер кристалографічних моделей	
	4.2 <i>In silico</i> дослідження ноотропної активності синтезованих сполук в ряду похідних 4-R-1-бензилпіролідін-2-ону	104
	4.3 Вивчення ноотропної активності перспективної групи сполук	128
	4.4 <i>In silico</i> дослідження токсичності синтезованих сполук в ряду похідних 4-R-1-бензилпіролідін-2-ону	130
	4.5 Прогнозування фармакокінетичного профілю перспективної <i>сполуки</i> 3.21d	134
	Висновки до розділу 4	142
ВИСНОВКИ		147
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ		149
ДОДАТКИ		165

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ЯМР	ядерний магнітний резонанс
ТШХ	тонкошарова хроматографія
LC-MS	рідинна хромато-мас-спектрометрія
ДМФА	диметилформамід
ТГФ	тетрагідрофуран
ДМСО	диметилсульфоксид
CDI	карбонілдіімідазол
Alk	алкільний радикал
Ar	арильний радикал
Het	гетерильний радикал
м.ч.	мільйонна частка
PDB	Protein Data Bank
NMDAR	рецептор N-метил-D-аспартату
nAChR	нікотиновий ацетилхоліновий рецептор
mAChR	мускариновий ацетилхоліновий рецептор
GluNR1	субодиниці рецептора N-метил-D-аспартату
i GluNR2	
α i β nAChR	компленарні субодиниці нікотинового ацетилхолінового рецептора
ECD	позаклітинний домен
NTD	N-кінцевий домен
LBD	ліганд-зв'язуючий домен
ABD	агоніст-зв'язуючий домен
TMD	трансмембранний домен
Affinity DG	скорингова функція
EDoc	вільна енергія зв'язування
Ki	константа зв'язування
LD50	середня доза речовини, що викликає загибель половини членів

	випробуваної групи
LOAEL	найнижчий спостережуваний рівень побічних ефектів
ADMET	фармакокінетичні параметри (абсорбція-розподіл-метаболізм-виведення-токсичність)
УРПУ	тесту умовного рефлексу пасивного уникнення
АА	антиамнестична активність
КНС	кількість незавершених спроб
КА	контроль амнезії
КН	контроль навчання

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Цілеспрямований пошук потенційних лікарських засобів специфічної ноотропної дії передбачає вибір «матриці», який доцільно проводити в тому класі хімічних сполук, де вже виявлені речовини з певною спрямованою дією. Перспективною матрицею для раціонального дизайну біологічно активних сполук ноотропної дії є ядро піролідину – базовий скафолд, який лежить в основі однієї з перспективних груп психоактивних ноотропних засобів групи рацетамів (Пірацетам, Анірацетам, Оксирацетам, Прамірацетам, Фенілпірацетам та Небрацетам) [1]. Рацетами мають здатність підвищувати рівень ацетилхоліну, постачати нейрохімічні речовини та кисень у мозок і як наслідок впливати на глутаматну та ГАМК-системи мозку [2]. Виходячи із хімічної будови рацетамових ноотропів нами виявлена відповідна структурна закономірність, що впливає на появу ноотропної дії, а саме наявність фармакофорних включень різної електронної природи в 1 та 4 положеннях піролідин-2-ону. Саме тому ми також вважали за доцільне обрати для модифікації в якості базового скафолду піролідин-2-он заміщений в 1 положенні бензильним радикалом, який модифікували шляхом введення в бензольний радикал замісників різної електронної природи [3, 4].

Сучасні підходи до пошуку нових ліків передбачають поєднання в одній молекулі різних фармакофорів, що дозволяє потенціювати бажану дію, зменшувати токсичність та може зумовити появу нових ефектів. З метою створення нових синтетичних матриць ноотропної дії подальша структурна модифікація базувалася на поєднанні базового фармакофору з 3-тіо-1,2,4-тріазольним каркасом, насиченим арильними, алкільними, гетерильними замісниками, та введенням в бензильний радикал замісників різної електронної природи. Ця гетероциклічна система відноситься до привілейованої структури («privileged scaffold»), оскільки більшість синтезованих похідних 1,2,4-тріазолу виявляють ту чи іншу фармакологічну активність та характеризуються спорідненістю до різних біомішеней, що розглядається як перевага у реалізації

концепції multi-target drugs (концепції багатоцільових ліків). Проведений аналіз наукової літератури показав, що не зважаючи на велику кількість публікацій, присвячених функціональним похідним 1,2,4-тріазолу та піролідину, тематика поєднання їх в одній молекулі в контексті «гібрид-фармакофорного підходу» залишається практично не висвітленою в літературі [5-7]. Тому пошук нових агентів цього ряду є актуальним напрямком дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційну роботу виконано згідно плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету «Органічний синтез та аналіз БАР, розробка лікарських засобів на основі синтетичних та напівсинтетичних субстанцій» (№ державної реєстрації 0114U000943), та «Молекулярний дизайн і цілеспрямований синтез нових біологічно активних органічних речовин та їх комбінаторних бібліотек» (№ державної реєстрації 0114U000944).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є моделювання структур та цілеспрямований синтез нових біологічно активних речовин в ряду похідних 4-R-1-бензилпіролідин-2-ону, *in silico* дослідження потенціалу нових сполук з метою встановлення перспектив проведення фармакологічного вивчення їх ноотропної активності, пошук серед них найбільш перспективних сполук ноотропної дії.

Для досягнення зазначеної мети були поставлені наступні завдання:

- провести аналіз наукової літератури та надати оцінку стосовно сучасного асортименту, хімічної будови та фармакологічного потенціалу існуючих ноотропних препаратів;
- розробити способи і методики синтезу похідних 4-(амінометил)-1-бензилпіролідин-2-ону (аналогів Небрацетаму);
- в рамках структурної модифікації базового скафолду 1-бензил-піролідин-2-ону шляхом поєднання його з заміщеними 3-тіо-1,2,4-тріазолами

розробити препаративні методики синтезу похідних 1-бензил-4-(4-R-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідин-2-ону;

- провести подальшу модифікацію 5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазольного фрагменту шляхом введення залишку оцтової кислоти та подальшого амідування до відповідних похідних амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідин-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти;
- довести будову та індивідуальність синтезованих сполук фізико-хімічними методами: ^1H і ^{13}C ЯМР- спектроскопією, LC/MS та елементним аналізом;
- провести *in silico* прогнозування ноотропної активності та токсичності синтезованих похідних та відібрати найбільш перспективні речовини для експериментальних фармакологічних досліджень;
- провести експериментальний фармакологічний скринінг на ноотропну активність перспективних речовин та обрати сполуку хіт для подальших поглиблених досліджень;
- провести *in silico* прогнозування фармакокінетичного профілю перспективної сполуки.

Об'єкт дослідження – синтез та дослідження властивостей біологічно активних речовин в ряду похідних 4-R-1-бензилпіролідин-2-ону як потенційних ноотропних агентів.

Предмет дослідження – цілеспрямований синтез, спектральні характеристики, фізико-хімічні, докінгові та фармакологічні дослідження похідних 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідин-2-ону (аналогів Небрацетаму), 1-бензил-4-(4-R-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідин-2-ону, амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідин-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти.

Методи дослідження – методи органічного синтезу (реакції конденсації, амідування, гідразінолізу, циклізації, солеутворення, відновлення), фізичні та фізико-хімічні методи аналізу органічних сполук (^1H , ^{13}C ЯМР-спектроскопія,

хромато-мас-спектрометрія, елементний аналіз, ТШХ), *in silico* методи прогнозування фармакологічної активності, фармакокінетичного профілю та токсичності (молекулярний докінг, онлайн-інструмент pkCSM, онлайн-інструмент AdmetSAR), фармакологічний скринінг, аналіз та узагальнення одержаних результатів.

Наукова новизна отриманих результатів. В процесі виконання роботи були визначені оптимальні напрямки структурної модифікації та розроблені препаративні методи синтезу сполук в ряду похідних 4-R-1-бензилпіролідін-2-ону. Розроблено декілька альтернативних шляхів одержання та здійснено синтез заміщених 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідін-2-онів. Вперше запропонована препаративна методика одержання заміщених 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідін-2-онів, яка відрізняється екологічністю, підвищеною ефективністю та простотою практичного виконання.

Розроблений препаративний метод синтезу похідних 1-бензил-4-(4-R-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідін-2-ону. Досліджено умови реакції амідування 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідін-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти та встановлено оптимальні умови утворення відповідних амідів.

Вперше проведено прогнозування вірогідної ноотропної активності не описаних в літературі похідних 4-R-1-бензилпіролідін-2-ону за допомогою методу молекулярного докінгу. За результатами молекулярного докінгу та експериментального фармакологічного скринінгу на моделі скополамін-індукованої амнезії вперше доведена перспективність модифікації 1-бензил-піролідін-2-ону шляхом поєднання з 3-тіо-1,2,4-тріазольним каркасом. В ряду похідних 1-бензил-4-(4-(R)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідін-2-ону та амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідін-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти знайдені сполуки, які показали помірну і високу здатність покращувати пам'ять у тесті умовного рефлексу пасивного уникнення та не є токсичними.

Обрана сполука для подальших поглиблених досліджень 1-бензил-4-{4-[2-оксо-2-(піперидин-1-іл)етил]-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл}піролідин-2-он, що має виразну ноотропну (антиамнестичну) активність, яка перевищує показники референс препарату Пірацетаму більше ніж у 2 рази, та за *in silico* оцінкою фармакокінетичних ADMET-характеристик має сприятливі фармакокінетичні властивості та не є токсичною.

Практичне значення отриманих результатів. Запропоновані оптимальні методи синтезу, результати фізико-хімічних досліджень, молекулярного докінгу, фармакологічного скринінгу нових сполук в ряду похідних 4-*R*-1-бензилпіролідин-2-ону можуть бути використані науковцями для подальшого пошуку високоефективних ноотропів. Розроблено препаративні методики синтезу похідних 4-(амінометил)-1-*R*-бензилпіролідин-2-ону (аналогів Небрацетаму), 1-бензил-4-(4-*R*-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідин-2-ону та амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідин-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти.

Одержані оціночні значення молекулярної стиковки та детальний аналіз геометричного розташування досліджуваних молекул в сайтах ноотропних мішеней можуть бути корисними при формулюванні рекомендацій до раціонального дизайну «лікоподібних молекул» ноотропної дії. Вперше встановлені певні структурно-біологічні закономірності дають змогу запропонувати ряд рекомендацій щодо цілеспрямованого синтезу потенційних ноотропних засобів і розглядати 1-бензил-піролідин-2-он в поєднанні з 3-тіо-1,2,4-тріазольним каркасом як перспективну синтетичну матрицю для створення комбінаторних бібліотек потенційних ноотропів.

Запропонована для подальших експериментальних досліджень та запатентована перспективна сполука 4-бензил-1-{4-[2-оксо-2-(піперидин-1-іл)етил]-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл}піролідин-2-он.

Особистий внесок здобувача. Особисто автором проведено аналіз літературних джерел щодо сучасного асортименту, хімічної будови та фармакологічного потенціалу існуючих ноотропних препаратів; виконана

експериментальна частина роботи, яка включає синтез нових сполук, вивчення їх фізико-хімічних властивостей; аналіз та інтерпретацію ^1H , ^{13}C ЯМР-спектрів, результатів LC/MS та елементного аналізу, фармакологічного скринінгу і молекулярного докінгу. Проведено узагальнення результатів та формулювання висновків. Під керівництвом наукового керівника були сформульовані мета, завдання, методологія і результати досліджень.

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з Переходою Л.О., Сулейман М.М., Коваленко С.М., Георгіянц В.А., Штриголем С.Ю. та ін.. Співавторами наукових праць є науковий керівник і науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок. Постановка мети та завдань, обговорення результатів проведені разом з науковим керівником.

Вивчення ноотропних властивостей проводились на базі Навчально-наукового інституту прикладної фармації Національного фармацевтичного університету (д. фарм. наук, проф. Штриголь С. Ю.).

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: IV міжнародна науково-практична конференція «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 12-13 березня 2020 р.), XIV науково-практична конференція «Управління якістю в фармації» (Харків, 22 травня 2020 р.), XXVII міжнародна науково-практична конференція молодих учених та студентів «Topical issues of new medicines development» (Харків, 8-10 квітня 2020 р.), V міжнародна науково-практична конференція «Fundamental and applied research in the modern word» (Бостон, 16-18 грудня 2020 р.), II міжнародна науково-практична конференція «Results of modern scientific research and development» (Мадрид, 2-4 травня 2021 р.), міжнародний науково-практичний симпозиум «100 years of success and quality», dedicated to the 100th anniversary of Pharmaceutical Chemistry Department of the National University of Pharmacy (Харків, 18 жовтня 2021 р.) VI міжнародна науково-практична конференція «Science innovations and education problems and

prospects» (Токіо, 13-15 січня 2022 р.), XXIX Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 19-21 квітня 2023 р.), міжнародна internet-конференція «Modern chemistry of medicines» (Харків, 18 травня 2023 р.), Всеукраїнська науково–практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум -2023» (Запоріжжя, 23-24 листопада 2023 р.), науково-практичний семінар «Тандем хімічної та фармацевтичної науки як базова платформа та запорука розроблення інноваційних лікарських засобів», присвячений 105-річчю НАН України та 105-й річниці з Дня народження академіка Бориса Євгеновича Патона (Харків, 27 листопада 2023 р.), IV Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Youth pharmacy science» (Харків, 6 грудня 2023 р.).

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 169 сторінках машинописного тексту, складається із анотації, вступу, 4 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 130 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 4 схемами, 23 таблицями та 52 рисунками. Список використаних джерел містить 144 найменування, з них 23 кирилицею та 121 латиницею.

РОЗДІЛ І

ОГЛЯД АСОРТИМЕНТУ ТА МЕХАНІЗМІВ ДІЇ НООТРОПНИХ ЗАСОБІВ РІЗНОЇ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ

(Огляд літератури)

В основі інтегративної діяльності мозку, здатності до зберігання і відтворення інформації, лежить зміна синаптичної передачі і нейрональної пластичності. При будь яких порушеннях цієї діяльності використовують різні групи лікарських засобів, однією з цих груп є ноотропні засоби.

Термін «ноотропний засіб» був запропонований С. Giurgea та вперше зустрівся в науковій літературі другої половини двадцятого століття. Він має своє походження від грецького слова «noos», що в перекладі означає «душа» та «tropos», що перекладається як «напрямок» [8-11].

Ноотропи зазвичай називають також нейрометаболічними стимуляторами, нейропротекторами, підсилювачами пам'яті, когнітивними підсилювачами (cognitive enhancer), регуляторами мозкових функцій.

Ноотропи не мають самостійного класу у міжнародній класифікації лікарських засобів та об'єднані з психостимуляторами у фармакотерапевтичну групу з кодом АТС N06BX. Згідно з міжнародною класифікацією МКХ10 ноотропні препарати застосовують при хворобах класу V "Розлади психіки та поведінки". Вони використовуються при порушеннях мозкового кровообігу, що спричинені інсультом або енцефалопатією; при старінні організму; після перенесення черепно-мозкових травм, нейроінфекцій, інтоксикацій; при синдромі хронічної втоми, при стресі, больових синдромах; при захворюваннях, викликаних тривалим прийомом алкоголю і наркотиків, терапією анксиолітиками, антипсихотичними засобами; при астеничному, астенодепресивному і депресивному синдромах, невротичних розладах, вегетосудинній дистонії, запамороченні; для профілактики захитування [12].

На відміну від інших нейротропних препаратів, які цілеспрямовано створювалися з метою лікування окремої нозології, ідеологія створення та застосування ноотропів спрямована, перш за все, на регуляцію природних

метаболічних процесів у ЦНС, їх нормалізацію в умовах впливу стресу, а також нівелювання вікових змін діяльності мозку, які можуть створити основу для розвитку певного захворювання [12-13]. Тому ноотропні засоби – єдина група нейротропних засобів, які застосовуються як з метою фармакотерапії, так і фармакопрофілактики.

На нервову діяльність у здорових людей ноотропні препарати не мають впливу. Вони використовуються здоровими людьми тільки у випадках, коли необхідно підвищити розумову працездатність, концентрацію уваги, поліпшити продуктивність роботи, організованість, здатність до планування і прийняття рішення, збільшити швидкість вилучення пам'ятного сліду та обсяг пам'яті [14].

Застосування ноотропних препаратів залишається суперечливою темою, оскільки їх продаж і прийом суттєво відрізняються в різних країнах. Наприклад, компетентні державні органи США розглядають деякі ноотропи як харчові добавки, які не підлягають суворому регулюванню. Але в той же час інші ноотропні засоби заборонені до використання.

У 2021 році світовий ринок ноотропів оцінювався в 10,69 мільярдів доларів США, і очікується, що він буде надалі зростати [15]. Для порівняння – обіг ринку ноотропів у 2018 році становив 1,96 мільярдів доларів [16]. Асортимент фармацевтичного ринку ноотропних засобів України наразі нараховує 47 торгівельних назв, з них міжнародних непатентованих назв – 14. Вітчизняними виробниками представлені 65% асортименту фармацевтичного ринку ноотропних засобів України (мають у своєму складі виключно синтетичні активні фармацевтичні інгредієнти), закордонними – 35 %. Значна частка препаратів іноземного виробництва містить рослинний компонент гінкго білоба. Лідерами серед іноземних виробників є Індія (21,7 %), Німеччина (12,7 %), Польща (10,8 %) та Іспанія (9,1 %). Препарати досліджуваної групи представлені у 9 лікарських формах, серед яких переважають таблетки (61 %), розчини (17 %) і капсули (11 %). Частка монокомпонентних ноотропних лікарських засобів складає 95%, решта 5% – комбіновані препарати. Серед них

монопрепарати синтетичного походження займають 87 % ринку, природного походження – лише 13 % [17].

Ноотропні препарати стимулюють передачу збудження в центральних нейронах, полегшують передачу інформації між півкулями головного мозку і різними його відділами, відповідальними за окремі складові пізнавальних функцій. Вони діють комплексно, покращують енергетичні процеси кровопостачання мозку і мозковий кровообіг, нормалізують мікроциркуляцію, стимулюють вищу інтегративну діяльність мозку, впливаючи на обмін речовин у нервовій тканині. За рахунок цього посилюється активність мозку, працездатність, здатність до навчання, розумова діяльність; покращуються мислення, пам'ять та увага, підвищується стійкість нейронів до гіпоксії та дії токсичних речовин, покращуються мовні функції, зменшується запаморочення, головний біль, сонливість та апатія. Таким чином, найбільш важливими проявами дії ноотропних засобів є активація інтелектуальних і мнестичних функцій та антигіпоксична активність. Стимулюючий вплив ноотропних лікарських засобів на пам'ять та здатність до навчання зумовлений їх впливом на низку метаболічних процесів, що відбуваються в нервовій тканині, які, в кінцевому рахунку, поліпшують енергетичний стан нейронів (антиоксидантна та антигіпоксична дії) [18].

Здатність покращувати когнітивні функції дала підставу позначати препарати ноотропи як «стимулятори пізнання».

За дією ноотропи відрізняються від засобів психостимулюючої дії рядом ознак, а саме:

- ✓ ефекти ноотропних препаратів проявляються тільки при тривалому застосуванні;
 - ✓ не супроводжуються підвищенням фізичної працездатності;
 - ✓ не впливають на емоційну сферу, не покращують настрій;
 - ✓ не надають вираженої психостимулюючої або седативної дії
- [19].

Ноотропні засоби знайшли широке застосування при патологічних станах, що зумовлені та супроводжуються порушенням судинного тону та процесів обміну в ЦНС: інсульті (період реабілітації), розумовій відсталості у дітей, травмах черепа, епілепсії, старечому слабоумстві, атеросклерозі, гіпертонічній хворобі, лікуванні абстинентного синдрому при алкоголізмі, наркоманії, неврозах, нервових розладах, ішемії мозку, хворобі Мен'єра, астенії. Завдяки своїм властивостям ноотропні засоби стали широко використовуватися в геріатричній і педіатричній медичній практиці [20].

У педіатрії ноотропні засоби використовують при затримці психічного та розумового розвитку, розумовій відсталості, при наслідках перинатального ураження ЦНС, СДУГ, енцефалопатичних порушеннях, розладах пам'яті, лікуванні нервового тіку, енурезу, заїкання. Ноотропи рекомендуються і людям похилого віку, які мають проблеми з нічним відпочинком [21]. Наразі ноотропні препарати включають декілька груп речовин різної хімічної будови, які характеризуються різним спектром фармакологічної активності і різними механізмами дії. Всі вони об'єднані спільністю терапевтичних ефектів, що виражаються в поліпшенні когнітивних функцій, загального стану при різних захворюваннях і в підвищенні стійкості організму, в першу чергу мозку, до дії різних екстремальних впливів [22].

Класифікацію сучасних препаратів ноотропної дії можна представити таким чином:

1. *похідні піролідону — Пірацетам, Етирацетам, Анірацетам, Оксирацетам, Нефірацетам, Прамірацетам та ін.;*
2. *похідні диметиламіноетанолу — Деанолу ацеглюмат, Меклофеноксат, Центрофеноксин;*
3. *препарати нейроамінокислот — ГАМК та її похідні: Фенібут, Нікотиноіл ГАМК, Гопантенова кислота, Гліцин, Глутамінова кислота;*
4. *ксантинові похідні — Пентоксифілін, Карнітин, Фосфатидилсерин;*

5. *вітаміни та їх похідні — Піридоксин та похідне піридоксину — Піритинол, Пантотенова кислота, вітамін E;*
6. *холіноміметики центральної дії — Холіну Альфосцерат;*
7. *препарати, що посилюють мозковий кровообіг, мікроциркуляцію та метаболізм, — Ніцерголін, Вінпоцетин, Вінкамін, Цинаризин, Флунаризин, Німодипін;*
8. *препарати Ginkgo biloba — Білобіл, Мемоплант, Ревайтл гінкго, Танакан та ін.;*
9. *проміжні продукти метаболізму клітини — Оротова та Буритинова кислоти;*
10. *субстрати, що постачають енергію: Інозин, АТФ, РНК, глюкозо-1- і глюкозо-6-фосфат;*
11. *комбіновані препарати — Інстенон. [23].*

Характеристика основних представників ноотропних препаратів.

1.1 Похідні піролідону

Однією з поширених груп ноотропів, що використовуються в медичній практиці, є препарати на основі п'ятичленного азаетероциклу піролідону, що мають назву «рацетами». Представниками групи рацетамів є Пірацетам, Оксірацетам, Прамірацетам, Анірацетам, Фенілпірацетам, Небрацетам, Етирацетам, Селетрацетам, Дупрацетам, Нефірацетам, Омберацетам [24]. Препарати групи рацетамів заборонені до використання у Сполучених Штатах Америки, хоча і дозволені в інших країнах. Заборона пояснюється здатністю викликати звикання. Окрім того, через прийом цих ноотропів може виникати підвищена нервозність, безсоння, відчуття тривоги та інші негативні стани [25]. Державна служба України з лікарських засобів і контролю за наркотиками не вбачає небезпеки у використанні ноотропів групи рацетами. Незважаючи на структурну схожість, клінічні ефекти при використанні різних препаратів групи

рацетамів досить різноманітні, що дає змогу розділити зазначені лікарські засоби на 3 підгрупи.

✓ Препарати, які переважно використовують для лікування когнітивних порушень: Пірацетам, Прамірацетам, Фенілпірацетам, Оксирацетам і Анірацетам.

✓ Препарати для лікування епілепсії: Леветирацетам, Бриварацетам і Селетрацетам. Вплив цих препаратів на когнітивні функції не з'ясовано.

✓ Препарати, клінічна ефективність яких не доведена: Нефірацетам, Роліпрам, Небрацетам

Ефективність Нефірацетаму у поліпшенні когнітивних функцій пацієнтів, які перенесли інсульт, ще не доведена. Роліпрам наразі досліджується як антидепресант. До цієї підгрупи входить і низка інших засобів, що перебувають на стадії клінічних досліджень (Небрацетам) [26].

Основним і найбільш поширеним представником групи рацетамів похідних піролідону є циклічне похідне ГАМК Пірацетам (2-оксо-1-піролідин ацетамід) (рис. 1.1) [26].

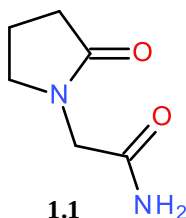


Рис. 1.1 Структура Пірацетаму (2-оксо-1-піролідин ацетаміду)

Пірацетам надалі залишається основним класичним представником ноотропів групи рацетаму. Взагалі вся історія відкриття ноотропів пов'язана з експериментально доведеною здатністю Пірацетама усувати інтоксикаційні ефекти етанолу інактивацією ацетальдегіду. Пірацетам, окрім ноотропного, має антигіпоксичний ефект, а також не значну протисудомну дію. Наразі синтезовано цілий ряд його безпосередніх аналогів. Препарат добре всмоктується при пероральному прийомі, проникає в різні органи і тканини, у тому числі в тканини мозку, де чинить позитивний вплив на обмінні процеси і

кровообіг мозку, практично не метаболізується, виводиться переважно нирками[27]. За механізмом дії Пірацетам є малотоксичним, позитивним алостеричним модулятором АМРА-рецептора (монотропний рецептор глутамату, який передає збуджуючі сигнали в хімічних синапсах нервової системи) [28]. Препарат збільшує енергетичний потенціал організму за рахунок прискорення обігу АТФ, підвищення активності аденілатциклази і інгібування нуклеотид-фосфатази. Поліпшення енергетичних процесів під впливом Пірацетаму призводить до підвищення стійкості тканин мозку при гіпоксії і токсичних впливах [29].

Пірацетам має нейропротекторний ефект; має стимулюючу дію на процеси біосинтезу білка в нервових клітинах, нормалізує порушення при старінні, стресі та різних захворюваннях мозку, синхронізує діяльність різних відділів мозку; покращує кровообіг у судинах мозку за рахунок ослаблення процесів утворення тромбів та зниження в'язкості крові. Пірацетам сприяє нейтралізації вільних радикалів, що утворюються в умовах дефіциту кисню в мозку та зумовлюють загибель нейронів (саме цей механізм відіграє важливу роль у розвитку хвороби Паркінсона та хвороби Альцгеймера). Пірацетам виявляє позитивний вплив на обмінні процеси і кровообіг мозку. Прискорює окиснювально-відновні процеси, забезпечує захист тканин мозку від гіпоксії, стимулюючи альтернативні шляхи підтримки нормального рівня енергетичного обміну; посилює утилізацію глюкози, покращує регіонарний кровоток в ішемізованих ділянках мозку [30].

Пірацетам застосовується при хронічних порушеннях мозкового кровообігу, нейроциркуляторній дистонії, неврозах (особливо з явищами фізичної та психічної астенії), хронічному стресі, а також відмічених у похилому віці порушеннях вищих психічних функцій. Механізмів впливу Пірацетаму на центральну нервову систему декілька: зміна швидкості поширення збудження у головному мозку; посилення метаболічних процесів у нервових клітинах; поліпшення мікроциркуляції шляхом впливу на реологічні характеристики крові. Пірацетам покращує зв'язки між півкулями головного

мозку і синаптичну провідність у неокортикальних структурах [31]. Пірацетам пригнічує агрегацію тромбоцитів і відновлює еластичність мембрани еритроцитів, зменшує адгезію еритроцитів, чинить протекторну та відновлювальну дію при порушенні функції головного мозку внаслідок гіпоксії та інтоксикації, електроконвульсивної терапії [32].

Важлива перевага Пірацетаму – відсутність зв'язування з білками крові та утворення метаболітів, що робить його застосування більш прогнозованим та суттєво знижує ризик розвитку можливих побічних ефектів. У клінічній практиці у Пірацетаму було виявлено цілу низку позитивних ефектів, а саме: покращення пам'яті, уваги, здатності до навчання; активізацію розумової та фізичної працездатності; усунення запаморочення, дзвону у вухах; стабілізацію психоемоційного статусу; нормалізацію настрою; і як наслідок – підвищення інтересу до життя та соціальної активності [33].

Важливу роль грає можливість комбінування Пірацетаму з різними лікарськими засобами як нейротропного, так і соматичного типу дії. Наразі, відповідно даним системи дослідження ринка «Фармстандарт» компанії «МОРІОН», препарати Пірацетаму та його комбінацій складають більше половини обсягу ринку ноотропів [34].

До препаратів першої групи належить також Оксирацетам (рис. 1.2). Завдяки гідроксильним групам в оксипіролідоновому ядрі Оксирацетам має сприятливий фармакокінетичний профіль та високу біодоступність при пероральному прийомі [35, 36].

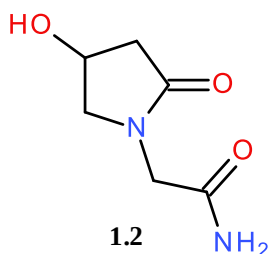


Рис. 1.2 Структура Оксирацетаму

Введення в амідну групу Пірацетаму діаміноізопропільного фрагменту забезпечує Прамірацетаму високу біодоступність [37]. Прамірацетам

(прамістар) (рис. 1.3) на відміну від пірацетаму має високу спорідненість до холіну і діє в холінергічних структурах головного мозку, не має седативного впливу, але має виражену антидепресивну дію.

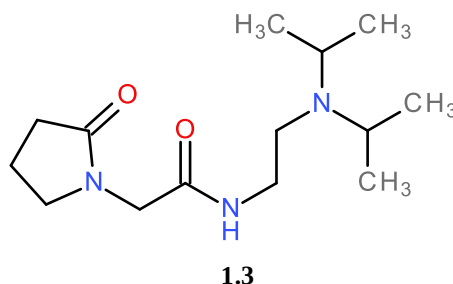


Рис. 1.3 Структура Прамірацетама

Другий представник препаратів групи рацетамів Анірацетам (рис. 1.4) має анксіолітичні властивості, які були вперше зареєстровані в експериментальних дослідках на лабораторних мишах. Наявність бензильного радикалу в N-боковому ланцюгу Анірацетама пояснює його низьку біодоступність і здатність швидко виводитись з організму [38].

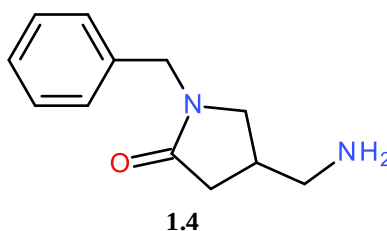


Рис. 1.4 Структура Анірацетама

Базуючись на результатах експериментів, дослідниками були зроблені висновки про те, що Анірацетам взаємодіє з нікотиновими ацетилхоліновими рецепторами.

1.2 Похідні диметиламіноетанолу

Предстаніками похідних диметиламіноетанолу є Меклофеноксат, Деанолу ацеглюмат (*Нооклерін*), Центрофеноксин.

Деанолу ацеглюмат є нейрометаболічним стимулятором, надає церебро-протективну, ноотропну і психостимулюючу дію, покращує настрій. При порушеннях інтелектуальної діяльності людини, призначення лікарем Деанолу

ацеглюмату сприяє загальній активізації, полегшенню процесів фіксації, консолідації та відтворення інформації, покращенню здатності до навчання, підвищенню інтересу до життя і спілкування, підвищенню концентрації уваги. Експериментальними дослідженнями показана ефективність Деанолу ацеглюмату при нервових розладах, астенічних станах, в геронтологічній практиці. В педіатрії препарат зарекомендував себе як такий, що покращує концентрацію уваги, полегшує запам'ятовування і процес навчання у дітей. Нооклерин позитивно впливає на невротичний стан у літньому віці, який розвинувся на тлі органічної недостатності мозку при алкогольно-абстинентному синдромі.

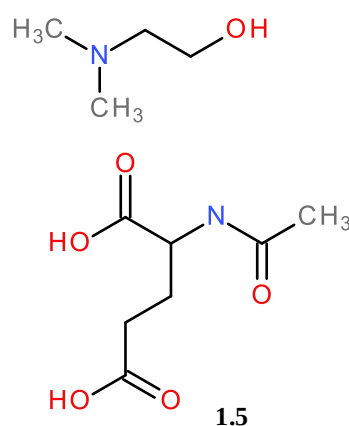


Рис. 1.5 Деанол ацеглюмат (N-ацетилглутамат 2-(диметиламіно)етанол (1:1)) (Deanoli aceglumatis)

Також цей лікарський засіб має виражену терапевтичну дію при лікуванні депресивних станів в рамках шизофренії та інтелектуального виснаження [39].

Меклофеноксат (рис. 1.6) стимулює когнітивні функції і має ноотропну дію, входить до списку препаратів, які заборонені Світовим антидопінговим агентством (WADA) [40]. В організмі метаболізується з утворенням *пара*-хлорфеноксиоцтової кислоти і активного метаболіта диметиламіноетанола, що є інгібітором вільних радикалів і помірним стимулятором центральної нервової системи. Диметиламіноетанол в умовах гіпоксії покращує метаболічні процеси в тканинах головного мозку, підвищує вміст ацетилхоліну в пресинаптичних закінченнях, покращує синаптичну передачу в різних ділянках мозку [40].

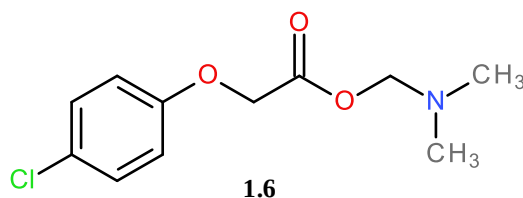


Рис. 1.6 Структура Меклофеноксату (4-хлорфенокси -1,2-(диметиламіно)етилового ефіру ацетатної кислоти) (Meclofenoxatum)

1.3 Препарати нейроамінокислот

Поширена група ноотропних препаратів – похідні нейроамінокислот, а саме, ГАМК, гліцину, глутамінової кислоти.

1.3.1 ГАМК та її похідні

До похідних ГАМК відносять Аміналон, Пікамілон, Фенібут, Гопантенову кислоту, Кальцію гама-оксибутірат, Натрію оксибутират [41].

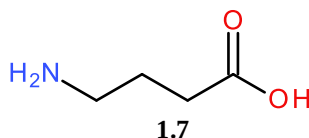


Рис. 1.7 Структура γ-Аміномасляної кислоти (ГАМК)

Гамма-аміномасляна (рис. 1.7) або гамма-амінобутирова кислота (ГАМК, GABA) – основний медіатор процесів гальмування у ЦНС; відноситься до класу біогенних амінів, впливає на відновлення процесів метаболізму в головному мозку, покращує утилізацію глюкози і виведення токсинів. Її було відкрито в 1950 році Юджином Робертсом, але ще впродовж десяти років роль цієї речовини залишалась невідомою. ГАМК синтезується із глутамату під дією ферменту глутаматдекарбоксилази [42]. Речовина здатна нормалізувати динаміку нервових процесів, підвищувати продуктивність мислення і пам'ять. Нейрометаболічний ефект всіх препаратів на основі ГАМК зумовлений переважно стимулюючим впливом на ГАМК-ергічну систему, що забезпечує нормалізацію динаміки нервових процесів; під впливом ГАМК активуються

також енергетичні процеси у тканинах мозку, підвищується їх дихальна активність та покращується кровопостачання. Гамма-аміномасляна кислота використовується як лікарський засіб під назвою Аміналон, переважно у геріатричній практиці і при лікуванні дітей з розумовою відсталістю. Аміналон не проходить крізь гематоенцефалічний бар'єр, але поліпшує кровообіг мозку, енергетичні процеси, споживання кисню, кровообіг та динаміку нервових процесів. У випадках підвищеного вмісту глюкози в крові Аміналон має гіпоглікемічну дію та стимулює утилізацію глюкози, має протисудомні та антигіпоксичні властивості. Внаслідок нормалізації рівня ГАМК під дією Аміналону знижується артеріальний тиск, особливо в умовах артеріальної гіпертензії. Ефект Аміналону розвивається повільно, тому зазвичай потрібен відносно тривалий курс його застосування [43].

Незважаючи на появу нових ноотропних препаратів (Пікамілон, Фенібут), що дають у ряді випадків, більш виражений ефект, Аміналон досі не втратив лікувального значення. Формули відомих ноотропів групи похідних ГАМК представлені на рис.1.8.

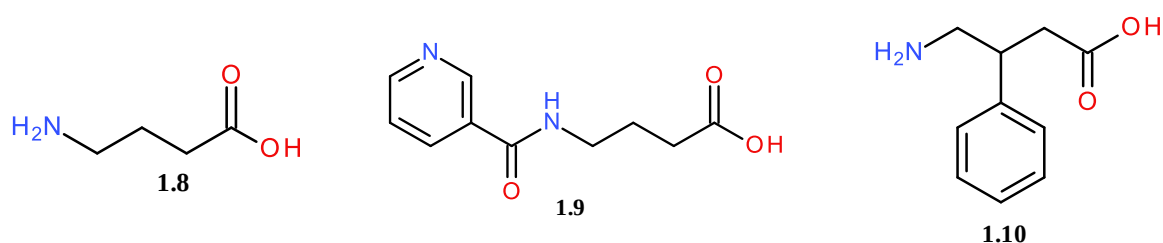


Рис. 1.8 Структури ноотропів похідних ГАМК: 1.8 – Аміналон, 1.9 – Пікамілон, 1.10 – Фенібут

Фенібут (γ-аміно-β-фенілмасляна кислота) відноситься до ноотропів, що мають анксиолітичну активність. Він надає заспокійливу дію, зменшує напруженість, тривогу, поліпшує сон, дітям призначають при заїканні [44]. За хімічною структурою Фенібут (амінофенілмасляну кислоту) можна розглядати як похідне етиламіну, в структуру якого введений неполярний фенільний радикал. Ця структурна модифікація молекули проведена з метою підвищення ліпофільності, що, в свою чергу, сприяє полегшенню подолання

гематоенцефалічного бар'єру. Ця властивість дуже важлива для препаратів, що повинні чинити вплив на ЦНС [44].

Пікамілон (нікотиноїл гамма-аміномасляна кислота) за хімічною будовою може розглядатися як молекула, що одночасно містить ГАМК і нікотинову кислоту. Пікамілон застосовують переважно для лікування дорослих, самотійно або в комплексній терапії як ноотропний і судинний засіб при порушеннях мозкового кровообігу легкої та середньої важкості, вегетосудинній дистонії, станах тривоги, страху, підвищеній дратівливості, абстиненції у хворих на алкоголізм, а також для підвищення стійкості до фізичних і розумових навантажень [45].

1.3.2 Гліцин і його похідні

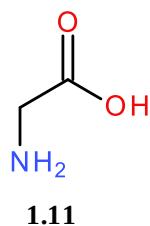


Рис. 1.9 Структура Гліцину (амінооцтової або 2-аміноетанової кислоти) (Glycine)

Гліцин (рис. 1.9) – найпростіша замінна аліфатична амінокислота, натуральний інгібуючий нейротрансмітер у ЦНС, що нормалізує та активує процеси захисного гальмування у центральній нервовій системі, зменшує почуття тривоги, страху, психоемоційну напругу, підвищує розумову працездатність. Гліцин виявляє седативну, м'яку транквілізуючу (протитривожну) і слабку антидепресивну дію, посилює дію антидепресантів, протисудомних препаратів та антипсихотиків. Гліцин включений до ряду терапевтичних препаратів лікування абстиненції як допоміжний препарат, що надає слабо виражену седативну і транквілізуючу дію [46]. Гліцин - єдина амінокислота, що не має оптичних ізомерів. Вона бере участь в обміні багатьох біологічно активних речовин у ЦНС і метаболізмі вітаміну РР. Має ноотропні властивості, покращує настрій, пам'ять і асоціативні процеси, підвищує

працездатність, нормалізує сон. Гліцин діє через два різних рецептори і бере участь у біосинтезі білків та в інших біосинтетичних процесах (утворення пуринів, порфіринів, креатину, етаноламіну, холіну, глутатіону). Активація гліцинергічними премотонейронами запускає м'язову атонію під час фази швидкого сну. Інший же механізм дії полягає в тому, що гліцин діє збудливо як алостеричний модулятор підтипу іонотропних глутаматних рецепторів N-метил-D-аспартату (NMDA) [46].

Достатня кількість Гліцину синтезується у нервовій тканині із серину або щодня надходить з їжею, екзогенний гліцин пасивно проникає через ГЕБ і модулює нейротрансмісію в ЦНС. Оскільки глутаматергічна нейротрансмісія залучена в патофізіологію шизофренії, існують відомості, що пероральне введення високих доз Гліцину значно покращує когнітивні функції і зменшує вираженість негативних симптомів шизофренії. І навпаки, низькі дози Гліцину перед сном покращують якість сну і знижують сонливість і втому впродовж дня [47]. Близько 30% населення відмічають у себе симптоми безсоння. Використання Гліцину як терапевтичного засобу для поліпшення якості сну є новим і безпечним підходом [48]. *Ноопент* (етиловий ефір N-фенілацетил-L-пропілгліцину) покращує нейропротекторні властивості мозку, допомагає захистити мозок від значних когнітивних порушень [49]. Чинить також нейропротекторну та протитривожну дію. Ноопепт застосовується в терапії порушення уваги, погіршення пам'яті, а також інших когнітивних функцій або емоційно-лабільних розладах, діє як антиоксидант, який запобігає окислювальному ураженню клітин вільними радикалами. Ноопепт також має протизапальні властивості. Широко використовуються також дієтичні добавки з гліцином і комбіновані препарати гліцину. Наприклад, комплексний антиоксидантний засіб Елтацін містить гліцин, глутамінову кислоту та цистеїн. Він нормалізує окиснювально-відновні процеси та використання кисню в тканинах, підвищує скоротливу здатність міокарда і толерантність організму до фізичних навантажень, покращує якість життя хворих із серцевою недостатністю.

1.3.3 Похідні глутамінової кислоти

Кислота глутамінова (α -аміноглутарова кислота) (рис. 1.12) – аліфатична моноамінодикарбонова α -амінокислота. За карбоксильною групою може відбуватися декарбоксилювання під дією ферменту глутаматдекарбоксилази унаслідок чого утворюється γ -аміномасляна кислота. Для кислоти глутамінової характерні реакції дезамінування та переамінування, внаслідок яких утворюються бурштинова та α -кетоглутарова кислоти. Остання відіграє важливу роль у забезпеченні реакцій циклу трикарбонових кислот та в обміні амінокислот [50].

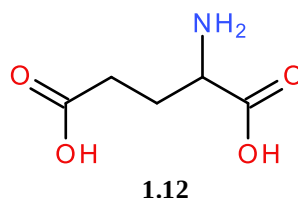


Рис. 1.10 Кислота глутамінова ((S)-2-амінопентан-1,5-дикарбонова кислота) (Acidum glutamicum)

У педіатрії препарати з кислотою глутаміною як активною діючою речовиною використовують при затримці психічного розвитку різної етіології, церебральних паралічах, при поліомієлітах у гострий період. Лікарськими препаратами є також кальцієві та магнієві солі кислоти глутамінової (Кальцію глутамінат). Їх призначають при психічних захворюваннях [51].

Широко використовується в медицині комплексний препарат Семакс, який містить сім амінокислот, що входять до складу адренокортикотропного гормону. Семакс не має адренокортикотропної активності, але надає активуючу (ноотропну, адаптогенну) дію на ЦНС. Застосовується при судинних порушеннях головного мозку, після перенесеної мозкової травми та нейрохірургічних втручань, при астеничних розладах різного генезу, з метою підвищення адаптації до екстремальних станів, при невритах. Руйнується в ШКТ, тому приймається інтраназально методом закапування [52].

1.4 Похідні ксантину

Представниками похідних ксантину є Пентоксифілін, Карнітин, Фосфатидилсерин.

Пентоксифілін – похідне ксантину, за механізмом дії належить до групи інгібіторів фосфодіестерази.

Механізм дії препарату полягає у блокуванні аденозинових рецепторів, збільшенні концентрації в тромбоцитах циклічного АМФ, що призводить до розширення кровоносних судин, зменшення в'язкості крові, а також призводить до збільшення серцевого викиду. При застосуванні Пентоксифіліну спостерігається помірний судинорозширюючий ефект, покращується забезпечення тканин киснем та венозний відтік, завдяки чому швидко покращується кровообіг [53].

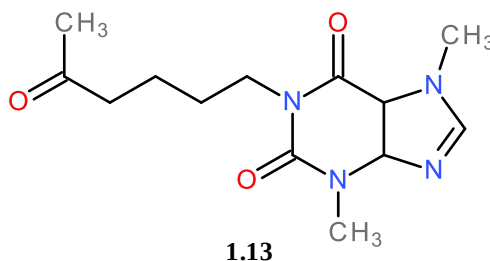


Рис. 1.11 Пентоксифілін (3,7-дигідро-3,7-диметил-1-(5-оксогексил)-1Н-пурин-2,6-діону) (Pentoxifyllinum)

1.5 Вітаміни та їх похідні

1.5.1 Похідні вітамінів групи В

В медицині широко використовуються похідні піридоксину (вітаміну В₆) Піритинол (рис. 1.12) (*Енцефабол*) та Біотредин. Вони впливають на рівень глутамату, холіну та дофаміну в мозку, і це робить їх корисними для лікування дегенеративних когнітивних розладів, лікування фізичної та психічної втоми, а також для поліпшення збереження пам'яті.

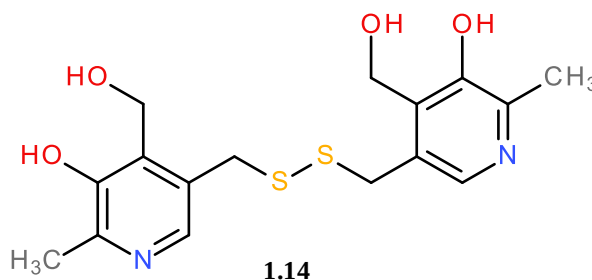


Рис. 1.12 Піритинол (5-[[[5-гідрокси-4-(гідроксиметил)-6-метилпіридин-3-іл]метил дисульфаніл]метил]-4-(гідроксиметил)-2-метилпіридин-3-ол) (Pyritinolum).

За хімічною будовою Піритинол є дисульфідом піридоксину. Він був синтезований в лабораторіях Merck шляхом поєднання двох молекул вітаміну В₆ через дисульфідний місток. З початку 70-х років минулого століття він відпускається за рецептами у багатьох країнах і широко використовується для лікування когнітивних розладів та порушень здатності до навчання у дітей. Піритинол підвищує патологічно знижений метаболізм у головному мозку, збільшує утилізацію глюкози, підвищує вивільнення ацетилхоліну у синапсах нервових клітин, покращує холінергічну передачу між клітинами нервової тканини, запобігає утворенню вільних радикалів і тим самим впливає на порушену розумову працездатність, здатність до навчання та пам'ять [54].

Як ноотроп використовується також похідне тіаміну – Сульбутіамін (Енеріон) (рис. 1.13). Енеріон відрізняється від тіаміну наявністю додаткового дисульфідного зв'язку, ліпофільної естерної групи та відкритого тіазольного циклу [55]. Завдяки цим структурним особливостям Енеріон добре розчиняється у ліпідах, що зумовлює швидке всмоктування його з шлунково-кишкового тракту та проникнення крізь гематоенцефалічний бар'єр. Енеріон, на відміну від тіаміну, має специфічну нейротропність.

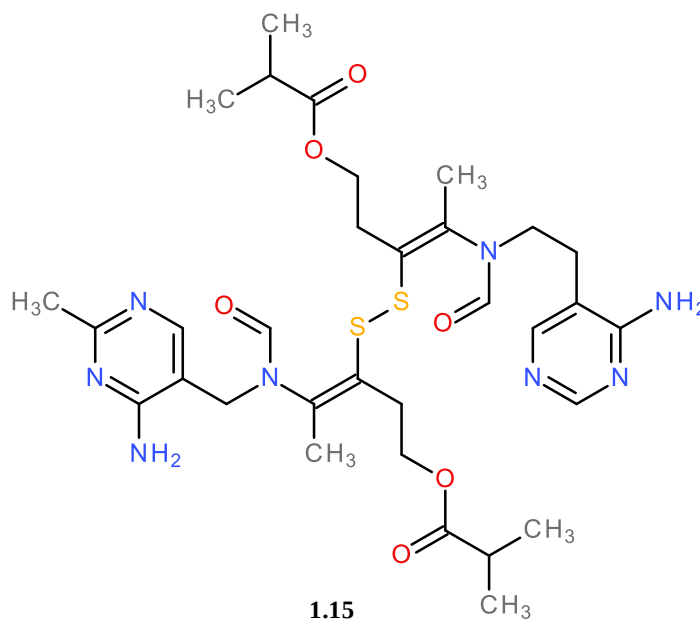


Рис. 1.13 Структура Сульбутіаміна (Енеріон)

Застосування Енеріону покращує координацію рухів, уважність, здатність запам'ятовувати (за результатами тестів на здатність до навчання у тварин), збільшує резистентність до виникнення м'язової астенії та покращує резистентність кори головного мозку до гіпоксії [56].

1.5.2 Похідні пантотенової кислоти

За хімічною будовою гопантенат кальцію (рис. 1.14) (*Пантогам*), можна розглядати як змінену молекулу пантотенової кислоти, що містить залишок ГАМК замість фрагменту аланіну [57]. Існує в формі R і S ізомерів.

На фармацевтичному ринку відомий як дитячий ноотроп. Доступний у формі сиропу для малюків та таблеток для старших пацієнтів.

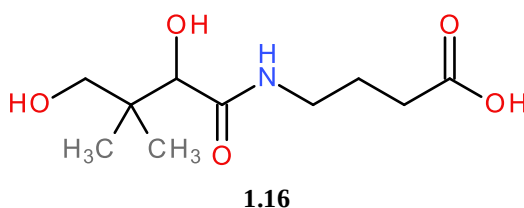


Рис. 1.14 Структура Пантогама ((R)-4-(2,4-дигідрокси-3,3-диметил-1-оксобутил)амінобутанової кислоти)

1.5.3 Токоферолу ацетат (*Вітамін E*)

В основі всіх токоферолів лежить хроманольне кільце, до якого приєднані:

- гідроксильна група, що має здатність віддавати атом водню в реакціях з вільними радикалами і тим самим захищає інші органічні сполуки від окиснення;
- гідрофобний вуглеводневий ланцюг, що полегшує проникнення крізь біологічні мембрани ;
- метильні групи, місце розташування яких має вплив на біологічну активність.

Згідно з кількістю та місцем розташування метильних груп відомо чотири форми токоферолу – α -токоферол, β -токоферол, γ -токоферол і δ -токоферол.

Стереοізомерія вуглеводневого ланцюга також сильно впливає на біологічну активність токоферолів. Найактивнішою є природна форма — (RRR)- α -токоферол.

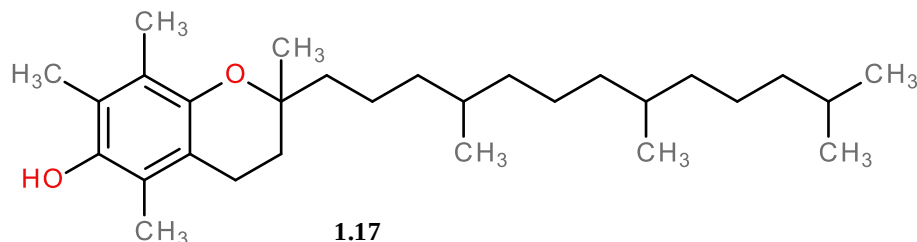


Рис. 1.15 Токоферолу ацетат (2,5,7,8-Тетраметил-2-(4',8',12'-триметилтридецил)хроман-6-іл ацетат) (Tocopheroli acetas)

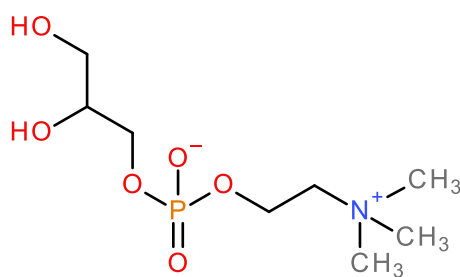
Токоферолу ацетат (рис. 1.15) – жиророзчинний вітамін, який має високу антиоксидантну, радіопротекторну та ангіопротекторну дію, впливає на тонус і проникність судин, стимулює утворення нових капілярів.

Токоферолу ацетат за хімічною будовою є етером ацетатної кислоти та альфа-токоферолу. Його біологічна роль в організмі людини полягає в блокуванні процесу окиснення поліненасичених жирних кислот, уповільненні перекисного окислення ліпідів, яке активується при багатьох захворюваннях, та захисті ендогенних речовин від окиснення [58]. Токоферолу ацетат бере участь у процесах тканинного дихання, біосинтезі гемі та білків, обміні жирів та

вуглеводів. При його дефіциті розвиваються дистрофічні зміни у м'язах, підвищується проникність та ламкість капілярів, відмічаються дегенеративні процеси у нервовій тканині та ін. [59]. Токоферолу ацетат виявляє імуномодельючий ефект, який зумовлений стимуляцією Т-клітинного та гуморального імунітету.

1.6 Холіноміметики центральної дії

Холіну Альфосцерат (рис. 1.16), виявлений у складі головного мозку, успішно застосовується для лікування уражень мозку різної етіології. Він є фізіологічним попередником ацетилхоліну [60]. Холіну Альфосцерат збільшує синтез та вивільнення ацетилхоліну в головному мозку та використовується для лікування різних неврологічних станів, для профілактики гіперхолестеринемії та атеросклерозу, а також для відновлення пам'яті та когнітивних функцій [61].



1.18

Рис. 1.16 Холіну Альфосцерат (Choline Alfoscerate)

Провідне місце наразі займають також антихолінестеразні препарати, а саме Амірідін та Такрин. Ці препарати сприяють накопиченню ацетилхоліну завдяки пригніченню ферменту холінестерази, що його руйнує.

1.7 Препарати, що посилюють мозковий кровообіг, мікроциркуляцію та метаболізм

До препаратів, що посилюють мозковий кровообіг, мікроциркуляцію та метаболізм, належать Ніцерголін, Вінпоцетин, Вінкамін, Цинаризин, Флунаризин та Німодипін.

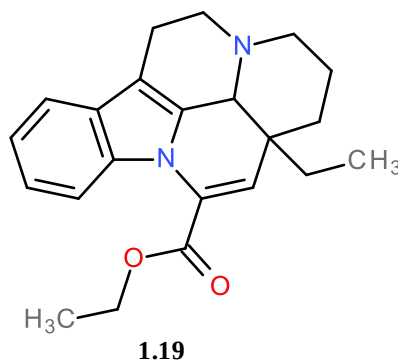


Рис. 1.17 Структура Вінпоцетину (етилового естеру 3a,16a-аповінкамінової кислоти) (Vinpocetinum)

Вінпоцетин (рис. 1.17) – інгібітор фосфодіестерази типу 1, якому притаманний виразний нейропротективний ефект при різних формах порушень мозкового кровообігу [62]. Ця сполука належить до класу органічних сполук, відомих як алкалоїди ебурнанового типу (алкалоїд барвінка). Вінпоцетин селективно покращує мозковий кровообіг та споживання кисню; інгібує агрегацію тромбоцитів та покращує реологічні властивості крові, підвищує стійкість головного мозку до гіпоксії та ішемії [62, 63].

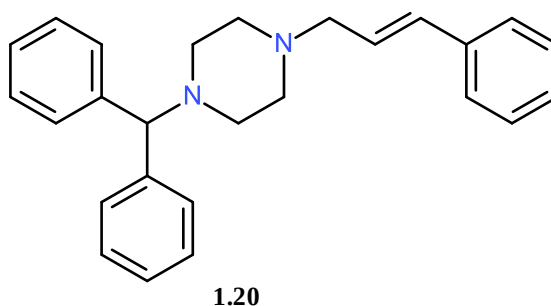


Рис. 1.18 Цинаризин ((E)-1-(дифенілметил)- 4-(3-фенілпроп-2-еніл)піперазину) (Cinnarizinum)

Цинаризин (рис. 1.18) – синтетичний препарат, похідне дифенілпіперазину, синтезований в 1955 році, належить до групи блокаторів кальцієвих каналів з переважною дією на судини головного мозку. Він є діючою речовиною таких препаратів як Стугерон, Евризам, Фезам.

Антигістамінові та антидопамінергічні властивості Цинаризину сприяють розвитку депресії, сонливості, підсилюють негативну дію алкоголю. Показаннями до застосування цинаризина є порушення мозкового кровообігу: атеросклероз судин мозку, ішемічний інсульт; запаморочення, шум у вухах, пригніченість і дратівливість, швидка психічна стомлюваність, головний біль, зниження і втрата пам'яті, порушення мислення і неможливість концентрації уваги; лікування і профілактика порушень периферичного кровообігу (хвороба Рейно, облітеруючий атеросклероз, облітеруючий тромбангіїт (хвороба Бюргера); підтримуюча терапія при симптомах лабіринтових порушень, включаючи запаморочення, шум у вухах (тінітус), ністагм, нудоту і блювоту; профілактика кінетозів) [64].

Біоелектрична активність мозку і мозковий кровообіг нормалізуються або поліпшуються при застосуванні Цинаризина.

1.8 Препарати *Ginkgo biloba*

До препаратів *Ginkgo biloba* відносять Білобіл, Мемоплант, Ревайтл гінкго, Танакан та ін. Екстракт зі свіжого листа *Ginkgo biloba* входить до складу зарубіжних та вітчизняних препаратів. Препарат рослинного походження, нормалізує обмін речовин у клітинах, реологічні властивості крові і мікроциркуляцію. Покращує мозковий кровообіг і забезпечення мозку киснем і глюкозою, запобігає агрегації еритроцитів, гальмує фактор активації тромбоцитів. Виявляє дозозалежний регулюючий вплив на судинну систему, стимулює продукцію ендотелійзалежного релаксуючого фактора (оксид азоту – NO), розширює дрібні артерії, підвищує тонус вен, тим самим регулює кровонаповнення судин [65]. Зменшує проникність судинної стінки (протиабраковий ефект – як на рівні головного мозку, так і на периферії). Має антитромботичну дію (за рахунок стабілізації мембран тромбоцитів і еритроцитів, впливу на синтез простагландинів, зниження дії біологічно активних речовин і тромбоцитоактивуючого фактора). Запобігає утворенню

вільних радикалів і перекисному окисненню ліпідів клітинних мембран. Нормалізує вивільнення, повторне поглинання і катаболізм нейромедіаторів (норепінефрину, дофаміну, ацетилхоліну) та їх здатність сполучатися з рецепторами. Має антигіпоксичну дію, покращує обмін речовин в органах і тканинах, сприяє накопиченню у клітинах макроергів, підвищенню утилізації кисню і глюкози, нормалізації медіаторних процесів у центральній нервовій системі [66].

Сучасна нейрофармакологія переживає нині еру найстрімкішого розвитку за всю історію свого існування. Це пояснюється насамперед прогресивним зростанням кількості неврологічної патології, її подальшою актуалізацією як одного з провідних факторів захворюваності, інвалідизації та смертності населення, особливо в розвинених країнах. За даними ВООЗ, понад 30 % населення світу вживає ті чи інші нейротропні ліки, а якщо взяти до уваги тільки країни Європейського Союзу і Північної Америки, то цей показник досягає 45–50 %. Тому зрозуміле постійне зростання зацікавленості фармакологів і клініцистів до пошуку та впровадження у неврологічну практику нових ефективних і безпечних препаратів. Проблема поєднання ефективності і безпечності, безумовно, є провідною для фармакології в цілому, однак при практичному застосуванні нейротропних засобів вона набуває особливого значення тому, що в цьому випадку об'єктом фармакологічного втручання є мозок людини – найбільш складна структура її організму. Тому, незважаючи на досить широкий вибір сучасних ноотропних засобів, не всі з них цілком та повністю відповідають максимально жорстким критеріям оптимальності застосування в неврології.

Резюме

1. Проаналізовані ноотропні засоби різних хімічних груп з різними спектрами фармакологічних ефектів і механізмами дії. Для ноотропів відсутній загальний молекулярний механізм дії, мішені для дії речовин надзвичайно різноманітні, багато з них реалізують свій ефект, впливаючи на кілька мішеней.

2. Пошук нових препаратів ноотропної дії є актуальним, а подальше розширення уявлень про механізми, що лежать в основі реалізації дії відомих ноотропів, дозволять більш цілеспрямовано здійснювати пошук нових ноотропних препаратів.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Матеріали та методи для синтетичних досліджень

Синтез нових похідних здійснювали з використанням методів органічного синтезу. Будову цільових сполук встановлювали за допомогою сучасних фізико-хімічних методів: елементного аналізу, ^1H , ^{13}C ЯМР-спектроскопії, хромато-мас-спектрометрії.

У роботі використовували реактиви виробництва Sigma-Aldrich, США. Необхідні реагенти очищали за допомогою стандартних методик.

Температуру плавлення ($^{\circ}\text{C}$) вимірювали на приладі Кофлера.

Контроль реакцій здійснювали методом тонкошарової хроматографії (елюент – етилацетат-гексан 1:2) на пластинах «Sorbfil UV-254».

Елементний аналіз проводили на автоматичному аналізаторі М-180 фірми «HewlettPackard».

Спектри ^1H ЯМР і ^{13}C ЯМР записували на спектрометрах Varian Gemini 400 МГц і Varian Gemini 100 МГц відповідно, в розчинах ДМСО- d_6 , внутрішній стандарт – ТМС, хімічні зсуви показані на шкалі в м.ч.

LC/MS-спектри записували за допомогою рідинного хроматографа PE SCIEX API 150EX, оснащеного УФ-детектором (λ_{max} 215 і 254 нм) і з використанням колонки Luna-C18 Phenomenex (100×4 мм). Елюювання починали водою і закінчували сумішшю ацетонітрил/вода (95:5, об'єм/об'єм) з використанням лінійного градієнта зі швидкістю потоку 0,15 мл/хв і тривалістю циклу аналізу 25 хв.

2.2 *In silico* методи прогнозування активності та токсичності

Для рецептор-орієнтованого гнучкого докінгу використовували пакет програм Autodock 4.2 [67]. Підготовка лігандів проводилася за допомогою

програми MGL Tools 1.5.6. Оптимізація лігандів проводилася за допомогою програми Avogadro. Для проведення розрахунків в програмі Autodock 4.2. вихідні формати даних рецептора і лігандів конвертувалися в спеціальний формат PDBQT. Для докінгу використані кристалографічні моделі рецепторів ацетилхоліну (PDB ID: 5CXV, 6PV7) і NMDA рецептора (PDB ID: 5IOV) з Protein Data Bank (PDB). Мапи рецептора готували в програмах MGL Tools і AutoGrid. З PDB файлу ID: були видалені молекули води, іони і ліганд. Встановлені такі параметри докінгу: крок поступального руху дорівнював 2 Å, коефіцієнт торсійної свободи 0,2983. Толерантність кластеру - 2 Å. Зовнішня енергія решітки - 1000, максимальна початкова енергія - 0, максимальне число спроб - 10 000. Кількість структур в популяції - 150, максимальне число етапів оцінки енергії - 2500000, максимальне число генерацій - 27 000, кількість структур, які переходять в наступну генерацію - 1, рівень генної мутації - 0,02, рівень кросовера - 0,8, спосіб кросовера - арифметичний. α -Параметр розподілу Гауса дорівнює 0, β -параметр розподілу Гауса - 1. Візуальний аналіз комплексів речовин в сайтах мішеней (PDB ID: 5CXV, 6PV7, 5IOV) проведено за допомогою програми Discovery Studio Visualizer.

Прогнозування токсичності та фармакокінетичних параметрів синтезованих похідних проводили за допомогою онлайн-інструментів pkCSM та Admet SAR [68]. Досліджувані сполуки створювали у вигляді 2D структурних формул з використанням комп'ютерної програми ChemBio Draw Ultra та у 3D площині з використанням комп'ютерної програми ChemBio 3D Ultra. Файли зберігали у *.pdb форматі, потім переводили у формат SMILES за допомогою інтернет-довідки SMILES Translator. Файли формату SMILES обробляли за допомогою онлайн-інструментів pkCSM та Admet SAR.

2.3 Фармакологічні методи дослідження

Базовою моделлю для вивчення впливу речовин на формування та відтворення пам'ятного сліду є тест умовного рефлексу пасивного уникнення

(УРПУ) [69]. Тест полягає у реєстрації вихідного латентного часу входу з освітленого майданчика в затемнену камеру, де тварини зазнають електроболового подразнення (процедура навчання), і латентного часу через 24 год після навчання. Що більше латентний час входу після навчання, то краще тварина пам'ятає про небезпеку. Якщо тварина не входить в затемнену камеру протягом 180 с, її вважають такою, що досягла критерію навченості.

У скринінговому дослідженні сполуки перевіряли на наявність антиамнестичних властивостей у тесті УРПУ на моделі скополамін-індукованої амнезії. Вплив досліджуваних сполук і пірацетаму на І фазу пам'яті – процес введення та первинної обробки інформації (acquisition) – з'ясовували при їх введенні за 40 хв. до формування УРПУ. Для з'ясування впливу похідних піролідину на І фазу пам'яті у мишей моделювали антероградну амнезію за допомогою скополаміну, 1.5 мг/кг внутрішньоочеревинно (в/о), за 25 хвилин до формування УРПУ шляхом електроболового покарання після переходу до темного відсіку пристрою [70]. На другий день через 24 години перевіряли наявність УРПУ. За тваринами спостерігали впродовж 3хвилин.

Візуалізація тесту умовного рефлексу пасивного уникнення наведена на рис. 2.1.

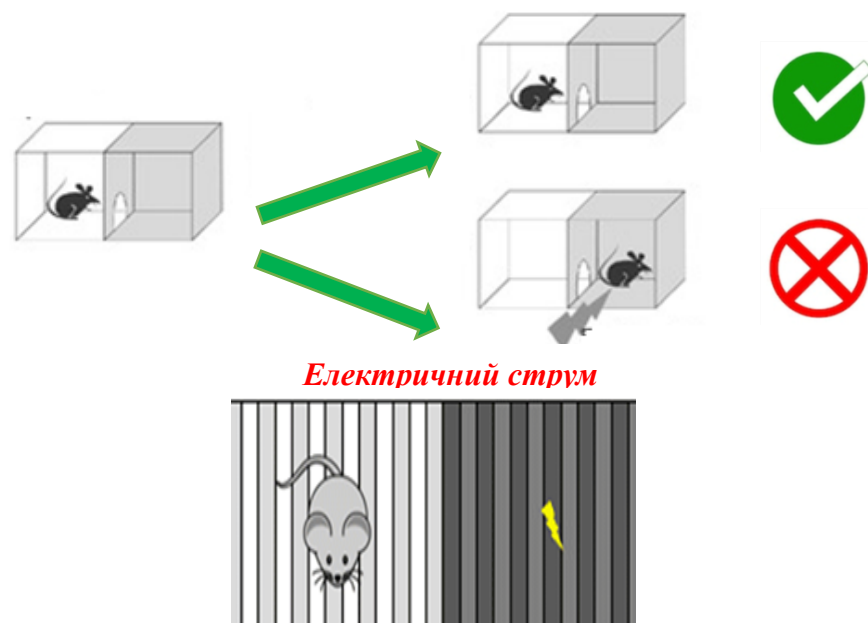


Рис. 2.1 Візуалізація тесту умовного рефлексу пасивного уникнення (УРПУ)

Реєстрували час переходу до темного відсіку пристрою та визначали кількість тварин зі сформованим рефлексом. Додатково визначали кількість незавершених спроб (КНС) переходу до темного відсіку, тобто визирання тварини у цей відсік без переходу усіма чотирма лапами. Реєстрували затримки перенесення в темний відсік і визначали кількість (відсоток) тварин, які досягли критерію навчання.

Розраховували антиамнестичну активність (АА) за модифікованою формулою Баттлера [71]:

$$AA = (\Delta ЛП_{П} - \Delta ЛП_{КА}) / (\Delta ЛП_{ІК} - \Delta ЛП_{КА}) \times 100 (\%), \quad (2.1)$$

де АА – антиамнестична активність, %;

$\Delta ЛП_{П}$ – різниця латентного періоду входу в неосвітлену камеру під час навчання та під час відтворення УРПУ для групи досліджуваної речовини або пірацетаму;

$\Delta ЛП_{КА}$ – різниця латентного періоду входу в неосвітлену камеру під час навчання та під час відтворення УРПУ для групи контролю амнезії;

$\Delta ЛП_{ІК}$ – різниця латентного періоду входу в неосвітлену камеру під час навчання та під час відтворення УРПУ для групи інтактного контролю.

Дослідження проводили на 66 білих мишах-самцях масою 22-25г. Тварини були отримані з віварію Національного фармацевтичного університету (м. Харків, Україна), дослідження проводились на базі Навчально-наукового інституту прикладної фармації НФаУ. Експеримент проводився відповідно до правил, затверджених Гельсінкською декларацією про гуманне поводження з тваринами (2000) та Директивою Ради Європейського Союзу про захист тварин, які використовуються в наукових цілях (2010). Тварин утримували в стандартних умовах віварію при 22-23°C і вологості 50% у добре провітрюваних приміщеннях з 12-годинним циклом світла/темряви з вільним доступом до їжі та води.

Експеримент проводили впродовж двох днів. У першу добу мишам як контрольної, так і контрольної групи з амнезією вводили внутрішньошлунково воду, тваринам інших груп вводили водні суспензії досліджуваних похідних

піролідину, стабілізованих твіном-80, в еквімолярних дозах та Пірацетам (Фармак, Україна) як препарат порівняння у дозі 300 мг/кг в/г. Дози досліджуваних сполук підбирали емпірично, вони становлять близько 1/10 від розрахункової LD50, яку визначали *in silico*. Пірацетам був обраний як препарат порівняння на основі хімічної спорідненості до синтезованих речовин і доведених антиамнестичних властивостей. Речовини та Пірацетам вводили у відповідному обсязі 0,1 мл на 10 г маси тіла [72].

Тварин випадковим чином розподілили на 11 рівних груп по 6 тварин у кожній: група 1 – контроль навчання, тварини, яким для стандартизації умов експерименту вводили воду за 10 хв до введення внутрішньовенно 0,9 % розчину NaCl; 2 група – тварини контролю за амнезією (АК), яким вводили розчинник внутрішньошлунково, а через 15 хвилин моделювали амнезію шляхом введення скополаміну 1,5 мг/кг внутрішньовенно за 20 хвилин до тренування УРПУ; 3 група – тварини препарату порівняння, яким вводили пірацетам 300 мг/кг внутрішньовенно, а через 15 хвилин моделювали амнезію за 20 хвилин до тренування УРПУ; тваринам інших груп за 15 хвилин до симуляції амнезії вводили досліджувані речовини, а ще через 20 хвилин проводили навчання УРПУ.

2.4 Статистичні методи дослідження

Статистичний аналіз проводили за допомогою програми Statistica v. 12.0 методами варіаційної статистики. Результати були представлені як середнє $\pm$ стандартна помилка середнього ($M \pm SEM$) або у відсотковому вираженні. Достовірність відмінностей між групами оцінювали за критерієм Стьюдента (t) у разі нормального розподілу та за непараметричним критерієм Манна-Уїтні (U) у разі відсутності нормального розподілу. Результати, які визначали в альтернативній формі (наявність/відсутність певної ознаки), оцінювали за критерієм Фішера (φ). Рівень статистичної значущості вважався $p < 0,05$.

РОЗДІЛ 3

ЦІЛЕСПРЯМОВАНИЙ СИНТЕЗ НОВИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН В РЯДУ ПОХІДНИХ 4-R-1-БЕНЗИЛПІРОЛІДИН-2-ОНУ

На першій стадії планування синтезу з метою теоретичного обґрунтування вибору базової структури був використаний накоплений вченими емпіричний досвід, логіко-структурний аналіз та «гібрид-фармакофорний підхід».

Піролідин-2-он є важливим фармакофором, який лежить в основі багатьох препаратів, що впливають на когнітивні функції та мають потужні нейротропні властивості [73, 74]. Для покращення пам'яті зазвичай використовуються ноотропи з групи рацетамів, такі як Пірацетам, Анірацетам, Оксірацетам, Прамірацетам, Фенілпірацетам та Небрацетам [75-78]. Виходячи із структурних передумов прояву ноотропної дії сприяє введення фармакофорних включень різної електронної природи в 1 та 4 положення піролідин-2-ону. Структурно активні зв'язки відомих ноотропів із групи рацетамів представлені на рис. 3.1.

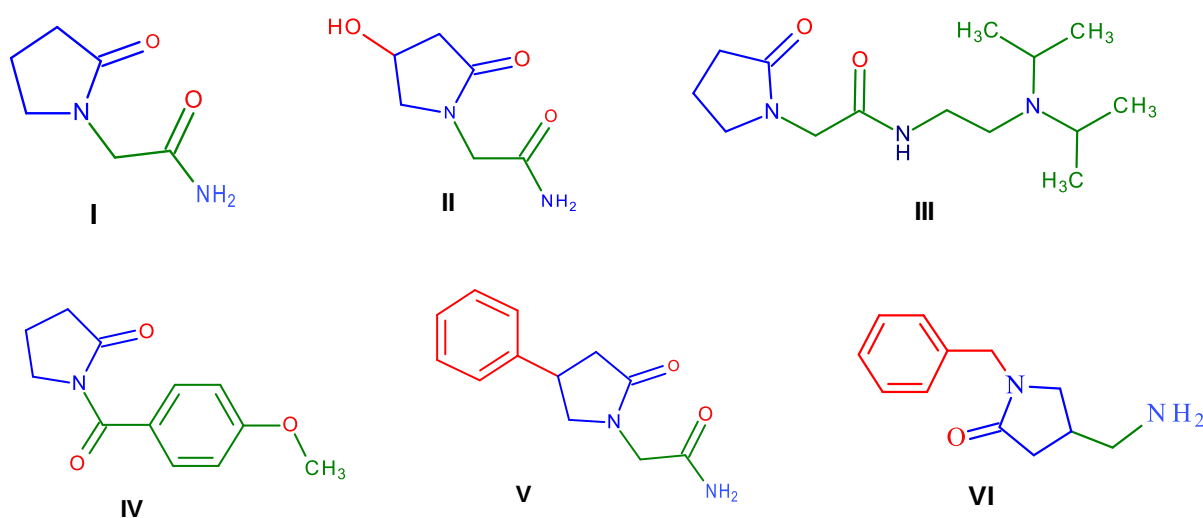


Рис. 3.1 Структурно активні зв'язки відомих ноотропів із групи рацетамів: I – Пірацетам, II - Оксірацетам, III – Прамірацетам, IV – Анірацетам, V - Фенілпірацетам, VI – Небрацетам

Враховуючи структурну подібність з відомими ноотропами, подальші дослідження нових похідних 1-бензил-4-піролідін-2-ону як прототипу інноваційних лікарських засобів ноотропної дії є досить виправданим підходом до цілеспрямованого пошуку. На нашу думку, з метою досягнення біосинергізму доцільним шляхом хімічної модифікації 1-бензил-4-піролідін-2-ону є поєднання в одній молекулі з іншою «структурною матрицею», а саме 1,2,4-тріазольним циклом [79]. Похідні 1,2,4-тріазолу є малотоксичними, досить простими в синтезі і високо реакційно здатними речовинами, що дозволяє легко їх поєднувати в одній структурі з іншими фармакоформними фрагментами [80]. Ця гетероциклічна система відноситься до привілейованої структури («privileged scaffold»), оскільки більшість синтезованих похідних 1,2,4-тріазолу виявляють ту чи іншу фармакологічну активність та характеризуються спорідненістю до різних біомішеней, що розглядається як перевага у реалізації концепції multi-target drugs (концепції багатоцільових ліків). Не зважаючи на велику кількість публікацій, присвячених функціональним похідним 1,2,4-тріазолу та піролідину, тематика поєднання їх в одній молекулі в контексті «гібрид-фармакоформного підходу» залишається практично не висвітленою в літературі. Введення в базову структуру 1-бензил-4-піролідін-2-ону саме фрагменту 1,2,4-тріазол-5-тіону (потенційного донора електронної пари) повинно сприяти утворенню водневих зв'язків з атомами Гідрогену біомішеней з достатнім парціальним зарядом [81]. Функціоналізація базової структури 1-бензил-4-(4-*R*-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідін-2-ону передбачена шляхом додаткового введення в перше та четверте положення 1,2,4-тріазольного циклу ароматичних та гетероциклічних фрагментів, які можуть вплинути на підвищення активності. Введення алкільних ланцюгів різної довжини між 1,2,4-тріазольним циклом та відповідними замісниками повинно забезпечити оптимальну ліпофільність молекул, що є важливим фактором при пошуку БАР, які повинні проходити через ГЕБ.

Іншим шляхом структурної модифікації планується синтез аналогів Небрацетаму шляхом введення в бензильний радикал замісників різної електронної природи, які додатково можуть вплинути на утворення стабілізаційних контактів з потенційними когнітивними мішенями. На рис. 3.2 наведена схема поєднання фармакофорів різної природи на основі базисних структур.

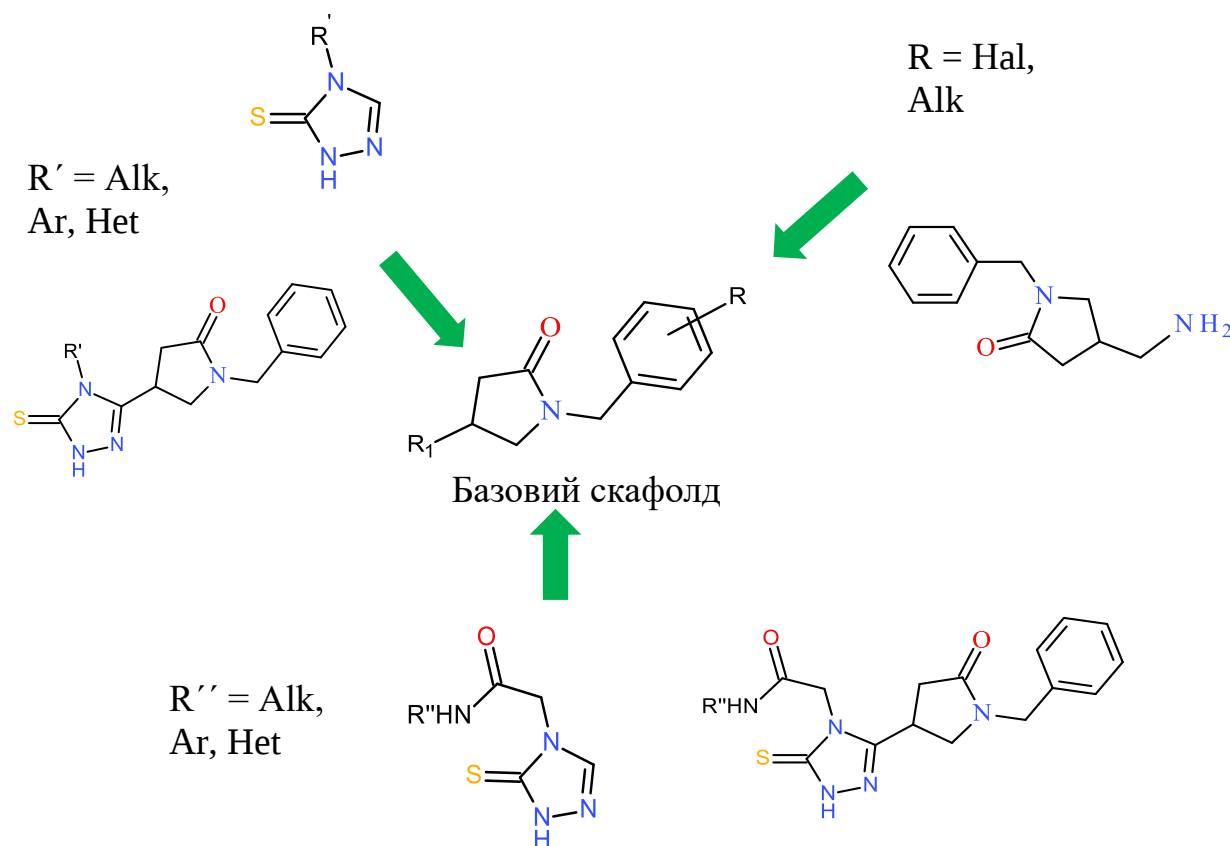


Рис 3.2 Схема поєднання фармакофорів різної природи на основі базисних структур

3.1 Синтез похідних 4-(амінометил)-1 R-бензилпіролідін-2-ону (аналогів Небрацетаму)

Небрацетам є амінометильним похідним піролідінону, що має в своїй структурі бензильний замісник та амінометильну групу. Він був вперше синтезований в Німеччині в 1980-х роках компанією Boehringer Ingelheim. Небрацетам досліджувався як препарат, що покращує когнітивні функції, але

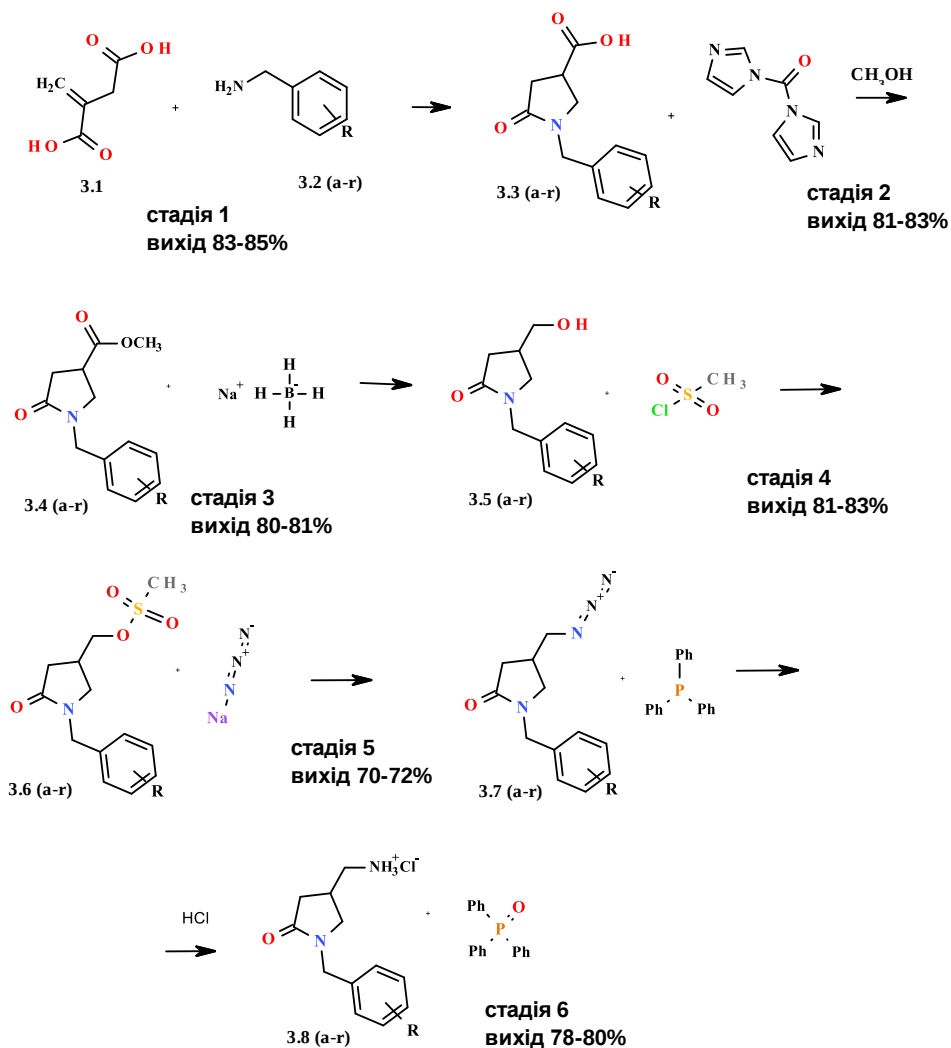
більшість досліджень проводилася тільки на лабораторних тваринах. Дослідження Небрацетаму як можливого антидепресанту у пацієнтів з деменцією свідчать про те, що його використання може покращувати лінгвістичне навчання (значне клінічне покращення відбулося через 8 тижнів) [82]. Однак інші повторні клінічні дослідження не підтвердили цей висновок.

Нами була запланована хімічна модифікація Небрацетаму шляхом введення в бензильний радикал замісників різної електронної природи.

Для проведення такої модифікації та одержання цільових аналогів 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідін-2-ону нами запропоновано адаптувати методику класичного способу одержання Небрацетаму описану в літературі (базовий Спосіб 1) для одержання його бензилзаміщених аналогів[83]. Також нами заплановано розробку альтернативного більш екологічного Способу 2. В обох способах необхідне введення замісників в бензильний радикал 4-(амінометил)-1-бензилпіролідін-2-ону буде відбуватись вже на першій стадії синтезу шляхом використання відповідних заміщених бензиламінів як вихідних сполук синтезу [83-85].

Одержання аналогів 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідін-2-ону згідно базовому способу 1 відбувається у 6 стадій (схема 3.1).

1-R-бензил-5-оксопіролідін-3-карбонові кислоти 3.3(a-r) одержані шляхом нагрівання суміші ітаконової кислоти 3.1 та заміщених бензиламінів 3.2(a-r) в еквімолярних співвідношеннях. До одержаних похідних в діоксані при нагріванні та перемішуванні за наявності карбонілдіімідазолу додавали розчин Na в метанолі, в результаті були одержані відповідні метилові естери 3.4(a-r). 4-Гідроксиметил-1-R-бензилпіролідін-2-они 3.5(a-r) отримували шляхом додавання боргідриду натрію, а потім використовували для одержання відповідних метансульфонатів 3.6(a-r) під дією мезилатхлориду. Одержані похідні перетворювали у відповідні азиди 3.7(a-r) шляхом додавання азиду натрію в ДМФА. На останній стадії азиди 3.7(a-r) розчиняли у сухому ТГФ і додавали трифенілфосфін, в результаті отримували чисті гідрохлориди 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідін-2-они 3.8(a-r) [86].



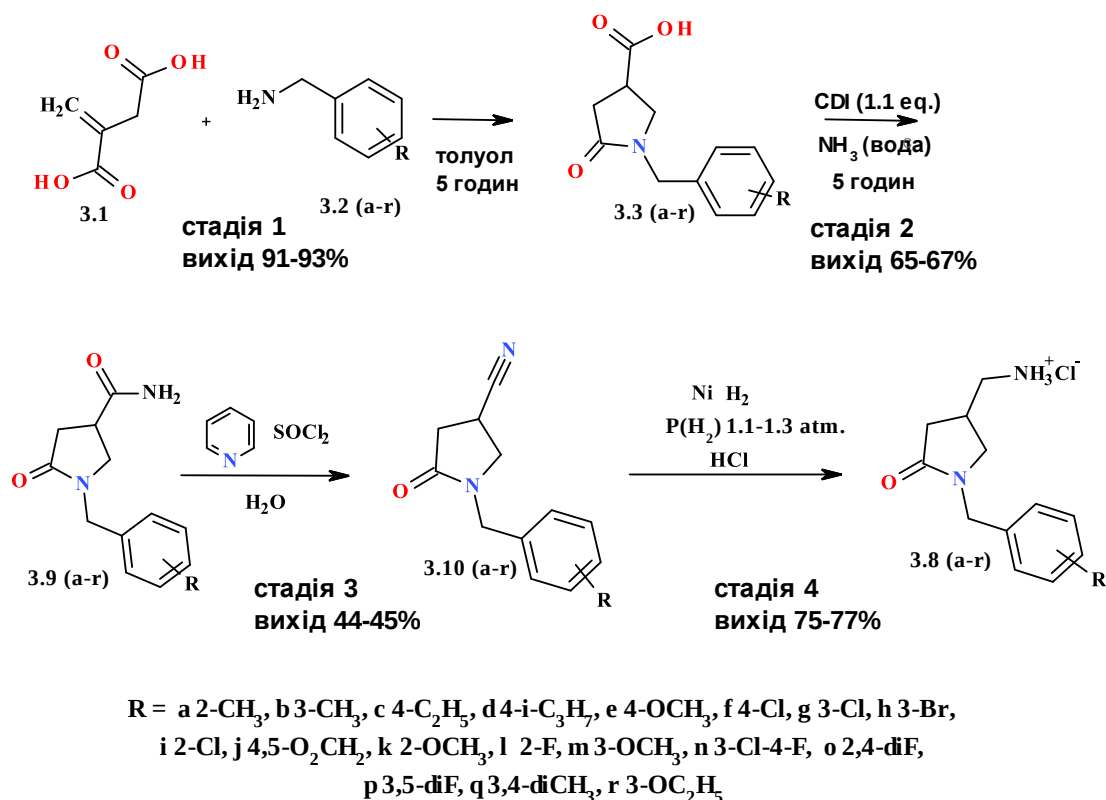
R = a 2-CH₃, b 3-CH₃, c 4-C₂H₅, d 4-i-C₃H₇, e 4-OCH₃, f 4-Cl, g 3-Cl, h 3-Br,
i 2-Cl, j 4,5-O₂CH₂, k 2-OCH₃, l 2-F, m 3-OCH₃, n 3-Cl-4-F, o 2,4-diF,
p 3,5-diF, q 3,4-diCH₃, r 3-OC₂H₅

Враховуючи необхідність використання в базовому способі одержання 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідін-2-онів азиду натрію, який є високотоксичною та вибухонебезпечною речовиною, нами запропоновано альтернативний більш екологічний спосіб синтезу (спосіб 2) (схема 3.2). Перевагами цього способу є відсутність необхідності використання азиду натрію та скорочення кількості стадій з 6 до 4 [86].

Одержання 1-R-бензил-5-окспіролідін-3-карбонових кислот 3.3(a-r) відбувається шляхом взаємодії розчинів ітаконової кислоти 3.1 та заміщених бензиламінів 3.2(a-r), подальше амідування у діоксані за наявності CDI

призводить до утворення відповідних амідів 3.9(a-r). До суспензії амідів в піридині при охолодженні додавали тіоніл хлорид і хлористий метилен, отримуючи цільові нітрили 3.10(a-r), які потім відновлювали, додаючи аміачну воду в метанолі та нікель Ренея. Отриману суміш гідрували під тиском водню (1.1-1.3 атмосфери) при інтенсивному перемішуванні. Отримані 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідин-2-они утворювалися у вигляді коричневого масла. Утворені продукти розбавляли 5% водним розчином HCl, одержували чисті гідрохлориди аналогів 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідин-2-ону 3.8(a-r) [86].

Схема 3.2



Аналоги 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідин-2-онів були одержані з виділенням проміжних продуктів на кожній стадії з реєстрацією відповідних відсотків виходу як проміжних так і цільових кінцевих продуктів.

З метою скорочення часу проведення синтезу та збільшення виходу цільових похідних нами була оптимізована методика альтернативного способу (Способу 2) синтезу, який ми вважаємо пріоритетним в порівнянні з базовим способом (Способом 1). Нами експериментально встановлено, що ефективним

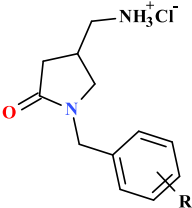
підходом є збільшення нагрівання реакційних сумішей до 10 годин на перших стадіях синтезу та проведення гідрування реакційної суміші, яка отримана на третій стадії Способу 2, під тиском водню в 1,5 атмосфери [86]. Перебіг реакцій контролювали методом ТШХ.

Синтезовані похідні являють собою білі або майже білі кристали, добре розчинні в пропанолі-2, етанолі, метанолі, ДМФА, ДМСО та воді.

Будову та індивідуальність одержаних аналогів 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідин-2-ону встановлено ^1H ЯМР-спектроскопією, елементним та LC/MS аналізом (табл. 3.1-3.2). ^1H ЯМР-спектри синтезованих гідрохлоридів похідних 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідин-2-ону 3.8(a-r) містять хімічні зсуви протонів, які відповідають основним фрагментам цільових сполук у відповідних областях спектрограм. Описані сигнали протонів характерні для всіх синтезованих сполук даної групи наведені у таблиці 3.2.

Таблиця 3.1

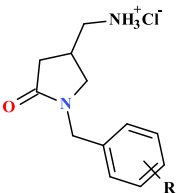
Виходи, LC/MS та елементного аналіз похідних 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідин-2-ону 3.8(a-r)

								
№	R	Вихід, % Сп1/Сп2/ оптимізований Сп2	Брутто - формула	%, C		%, N		LC/MS m/z
				Розр.	Знайд.	Розр.	Знайд.	
1	2	3	4	5	6	7	8	9
3.8a	2-CH ₃	78/75/85	C ₁₃ H ₁₉ ClN ₂ O	61.29	61.48	10.96	10.78	219.2 [(M+H) ⁺]
3.8b	3-CH ₃	78/75/85	C ₁₃ H ₁₉ ClN ₂ O	61.29	61.47	10.96	10.77	219.2 [(M+H) ⁺]
3.8c	4-C ₂ H ₅	79/76/85	C ₁₄ H ₂₁ ClN ₂ O	62.56	62.78	10.42	10.18	233.2 [(M+H) ⁺]
3.8d	4-i C ₃ H ₇	79/76/85	C ₁₅ H ₂₃ ClN ₂ O	63.70	63.42	9.90	10.01	247.4 [(M+H) ⁺]

1	2	3	4	5	6	7	8	9
3.8e	4- OCH ₃	78/75/85	C ₁₃ H ₁₉ ClN ₂ O ₂	57.68	57.85	10.34	10.73	235.2 [(M+H) ⁺]
3.8f	4-Cl	79/76/85	C ₁₂ H ₁₆ Cl ₂ N ₂ O	52.38	52.72	10.18	10.05	239.2 [(M+H) ⁺]
3.8g	3-Cl	80/77/86	C ₁₂ H ₁₆ Cl ₂ N ₂ O	52.38	52.71	10.18	10.02	239.0 [(M+H) ⁺]
3.8h	3-Br	79/76/85	C ₁₂ H ₁₆ BrClN ₂ O	45.09	45.32	8.76	8.68	320.2 [(M+H) ⁺]
3.8i	2-Cl	80/77/86	C ₁₂ H ₁₆ Cl ₂ N ₂ O	52.38	52.69	10.18	10.05	239.0 [(M+H) ⁺]
3.8j	4,5- O ₂ CH ₂	78/75/85	C ₁₃ H ₁₇ ClN ₂ O ₃	54.83	54.78	9.84	9.64	249.2 [(M+H) ⁺]
3.8k	2- OCH ₃	78/75/85	C ₁₃ H ₁₉ ClN ₂ O ₂	57.68	57.83	10.34	10.58	235.00 [(M+H) ⁺]
3.8l	2-F	80/77/86	C ₁₂ H ₁₆ ClFN ₂ O	55.71	55.96	10.83	10.97	223.2 [(M+H) ⁺]
3.8m	3- OCH ₃	78/75/85	C ₁₃ H ₁₉ ClN ₂ O ₂	57.68	57.81	10.34	10.57	235.2 [(M+H) ⁺]
3.8n	3-Cl- 4F	78/75/85	C ₁₂ H ₁₅ Cl ₂ FN ₂ O	49.16	49.49	9.56	9.78	257.2 [(M+H) ⁺]
3.8o	2,4-diF	80/77/86	C ₁₂ H ₁₅ ClF ₂ N ₂ O	52.09	52.35	10.12	10.57	241.2 [(M+H) ⁺]
3.8p	3,5-diF	80/77/86	C ₁₂ H ₁₅ ClF ₂ N ₂ O	52.09	52.32	10.12	10.49	241.2 [(M+H) ⁺]
3.8q	3,4-di CH ₃	79/76/85	C ₁₄ H ₂₁ ClN ₂ O	62.56	62.71	10.42	10.74	233.2 [(M+H) ⁺]
3.8r	3- OC ₂ H ₅	79/76/85	C ₁₄ H ₂₁ ClN ₂ O ₂	59.04	59.45	9.84	9.88	249.2 [(M+H) ⁺]

Хімічні зсуви протонів (δ , м.ч.) у спектрах ^1H ЯМР похідних

4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідин-2-ону 3.8(a-r)

							
№	R	$-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-$ 5H піролідин	CH_2	CH_2	ArH	NH^+	Сигнали протонів інших функціональних груп
1	2	3	4	5	6	7	8
3.8a	2- CH_3	2.31-2.53 (кв, J = 2.4 Hz, 1H), 2.56-2.65 (м, 2H), 3.12-3.20 (м, 2H)	2.85-2.86 (м, 2H)	4.35-4.39 (кв, j = 12.0 Hz, 2H)	6.91-6.93 (м, 1H); 6.99-7.02 (д, J = 8 Hz, 1H), 7.06-7.08 (дд, J = 1.6 Hz, 1H), 7.26-7.27 (м, 1H)	8.09 (с, 3H)	2.52 (с, 3H, CH_3)
3.8b	3- CH_3	2.32-2.39 (дд, J = 2.6, 1.8 Hz, 1H), 2.51-2.54 (м, 1H), 2.63-2.71 (м, 1H), 3.06 (м, 1H), 3.33-3.35 (м, 1H)	2.86-2.87 (м, 2H)	4.36-4.47 (кв, j = 14.8 Hz, 2H)	6.91-6.93 (м, 1H); 6.99-7.02 (м, 1H), 7.07-7.08 (д, J = 2.2 Hz, 1H), 7.26-7.27 (м, 1H)	8.10 (с, 3H)	2.54 (с, 3H, CH_3)
3.8c	4- C_2H_5	2.28-2.32 (дд, J = 7.2, 6.4 Hz, 1H), 2.49-2.52 (м, 2H), 3.06-3.09 (м, 2H)	2.85-2.86 (м, 2H)	4.35-4.38 (кв, J = 7.0 Hz, 2H)	6.18-6.20 (д, J = 6.8 Hz, 1H), 6.29 (с, 1H), 7.06-7.11 (м, 2H)	8.07 (с, 3H)	1.38 (3H, т, J = 2.4 Hz, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$) 4.13 2H, м $-\text{CH}_2\text{CH}_3$
3.8d	4-i C_3H_7	2.31-2.53 (кв, J = 2.6 Hz, 1H), 2.56-2.64 (м, 2H), 3.12-3.20 (м, 2H)	2.86-2.87 (м, 2H)	4.34-4.38 (кв, J = 5.4 Hz, 2H)	6.91-6.93 (м, 2H); 6.99-7.02 (д, J = 8 Hz, 1H), 7.26-7.27 (м, 1H)	8.10 (с, 3H)	4.80 (с, 1H, CH) 1.50 (с, 6H, $2 \times \text{CH}_3$)
3.8e	4- OCH_3	2.26-2.27 (дд, j = 7.2, 6.4 Hz, 2H), 2.43-2.45 (д, J = 8.6 Hz, 1H), 2.491-2.50 (м, 1H), 3.34-3.39 (м, 1H)	2.82-2.86 (м, 2H)	4.35-4.38 (кв, J = 12 Hz, 2H)	6.91-6.93 (м, 1H); 6.99-7.02 (м, 1H), 7.070-7.08 (д, J = 1.8 Hz, 1H), 7.26-7.27 (м, 1H)	8.12 (с, 3H)	3.75 (с, 3H, $-\text{OCH}_3$)
3.8f	4-Cl	2.28-2.30 (дд, J = 7.2, 6.4 Hz, 1H), 2.49-2.52 (м, 2H), 3.06-3.10 (м, 2H)	2.79 (т, J = 4.8 Hz, 2H)	4.39-4.53 (кв, J = 7.2 Hz, 2H)	7.18-7.19 (д, J = 1.8 Hz, 1H), 7.22 (с, 1H), 7.36-7.39 (м, 2H)	8.0 (с, 3H)	-
3.8g	3-Cl	2.99-2.52 (кв, J = 3.6 Hz, 1H), 2.55-2.65 (м, 2H), 3.0-3.08 (м, 2H)	2.79 (т, J = 4.8 Hz, 2H)	4.33-4.38 (кв, j = 6.8 Hz, 2H)	7.19-7.20 (д, J = 6.8 Hz, 1H), 7.29 (с, 1H), 7.36-7.41 (м, 2H)	8.0 (с, 3H)	-

1	2	3	4	5	6	7	8
3.8h	3-Br	2.30-2.40 (дд, J = 2.4, 1.6 Hz, 1H), 2.49-2.53 (м, 1H), 2.63-2.67 (м, 1H), 3.07 (м, 1H), 3.33-3.35 (м, 1H)	2.85 (т, J = 2.4 Hz, 2H)	4.35-4.38 (кв, j = 12 Hz, 2H)	7.22-7.24 (д, J = 7.6 Hz, 1H), 7.32-7.34 (м, 1H), 7.43 (т, J = 1.8 Hz, 1H), 7.47-7.49 (дд, J = 1.2, 0.8 Hz, 1H)	8.19 (с, 3H)	-
3.8i	2-Cl	2.28-2.30 (дд, J = 7.2, 6.4 Hz, 1H), 2.495-2.51 (м, 2H), 3.05-3.09 (м, 2H)	2.88 (т, J = 0.8 Hz, 2H)	4.39-4.52 (кв, j = 15.6 Hz, 2H)	7.30-7.34 (м, 3H), 7.416-7.466 (м, 1H)	8.08 (с, 3H)	-
3.8j	4,5-O ₂ CH ₂	2.26-2.28 (дд, j = 7.2, 6.4 Hz, 2H), 2.44-2.45 (м, 1H), 2.49-2.51 (м, 1H), 3.35-3.39 (м, 1H)	2.85 (т, J = 2.4 Hz, 2H)	4.36-4.49 (кв, j = 14.8 Hz, 2H)	7.31-7.34 (м, 2H), 7.42-7.47 (м, 1H)	8.26 (с, 3H)	6.14 (2H, с)
3.8k	2-OCH ₃	2.26-2.28 (дд, j = 7.2, 6.4 Hz, 2H), 2.43-2.45 (д, J = 8.8 Hz, 1H), 2.49-2.51 (м, 1H), 3.345-3.390 (м, 1H)	2.86-2.87 (м, 2H)	4.25-4.39 (кв, j = 15.4 Hz, 2H)	6.91-6.93 (м, 1H); 6.99-7.017 (д, J = 8 Hz, 1H), 7.06-7.08 (дд, J = 1.6 Hz, 1H), 7.26-7.27 (м, 1H)	8.20 (с, 3H)	3.79 (с, 3H, OCH ₃)
3.8l	2-F	2.24-2.28 (дд, J = 9.2, 7.6 Hz, 1H), 2.43-2.50 (м, 1H), 3.06-3.09 (м, 1H), 3.35-3.44 (м, 2H)	2.86-2.87 (м, 2H)	4.36-4.48 (кв, j = 14.8 Hz, 2H)	7.19-7.23 (м, 2H); 7.26-7.28 (м, 1H); 7.29-7.35 (м, 1H)	8.26 (с, 3H)	-
3.8m	3-OCH ₃	2.26-2.28 (дд, J = 6.4, 7.2 Hz, 2H), 2.43-2.45 (д, J = 8.0 Hz, 1H), 2.50-2.51 (м, 1H), 3.35-3.39 (м, 1H)	2.82-2.86 (м, 2H)	4.25-4.39 (кв, J = 15.2 Hz, 2H)	6.91-6.93 (м, 1H); 6.99-7.02 (д, J = 8.2 Hz, 1H), 7.06-7.08 (м, 1H), 7.26-7.27 (м, 1H)	8.18 (с, 3H)	3.82 (с, 3H, OCH ₃)
3.8n	3-Cl-4F	2.24-2.52 (дд, J = 7.2, 6.8 Hz, 1H), 2.41-2.481 (м, 1H), 2.630 (м, 1H), 3.07-3.08 (м, 1H), 3.34-3.35 (м, 1H)	2.84-2.87 (м, 2H)	4.36-4.47 (кв, J = 15.4 Hz, 2H)	7.22-7.24 (д, J = 7.6 Hz, 1H), 7.32-7.34 (м, 1H), 7.47-7.49 (м, 1H)	8.19 (с, 3H)	-
3.8o	2,4-diF	2.23-2.52 (дд, j = 7.6, 6.8 Hz, 1H), 2.41-2.48 (м, 1H), 2.62 (м, 1H), 3.07-3.0876 (м, 1H), 3.34-3.35(м, 1H)	2.83-2.84 (м, 2H)	4.32-4.42 (кв, J = 15.2 Hz, 2H)	7.06-7.09 (м, 1H), 7.21-7.27 (м, 1H), 7.32-7.34 (кв, J = 6.8 Hz, 1H)	8.18 (с, 3H)	-
3.8p	3,5-diF	2.30-2.32 (дд, j = 7.6, 6.8 Hz, 1H), 2.68 (м, 1H), 3.08-3.12 (м, 1H), 3.37-3.41 (м, 2H)	2.68-2.89 (м, 2H)	4.39 (с, 2H)	6.95-6.97 (м, 2H), 7.13-7.17 (м, 1H)	8.20 (с, 3H)	-

1	2	3	4	5	6	7	8
3.8q	3,4-di CH ₃	2.31-2.42 (кв, J = 2.8 Hz, 1H), 2.56- 2.64 (м, 2H), 3.12-3.22 (м, 2H)	2.83- 2.84 (м, 2H)	4.267- 4.397 (кв, J = 15.2 Hz, 2H)	6.96-7.09 (м, 1H), 7.21-7.27 (кв, J = 6.8 Hz, 2H)	8.09 (с, 3H)	2.00 (3H, с CH ₃) 2.37 (3H, с CH ₃)
3.8r	3- OC ₂ H ₅	2.27-2.28 (дл, j = 7.2, 6.4 Hz, 2H), 2.43-2.45 (д, J = 8.6 Hz, 1H), 2.50- 2.51 (м, 1H), 3.35-3.39 (м, 1H)	2.78- 2.84 (м, 2H)	4.35- 4.38 (кв, J = 7.2 Hz, 2H)	6.19-6.20 (д, J = 8.4 Hz, 1H), 6.31 (с, 1H), 7.06-7.11 (м, 2H)	8.10 (с, 3H)	1.05 3H, т, j = 1.2 Hz -CH ₂ CH ₃ 4.16 2H, кв, 5.4 Hz -CH ₂ CH ₃

На прикладі ¹H ЯМР-спектру 4-(амінометил)-1-[(2-хлорфеніл)метил]піролідин-2-он гідрохлориду 3.8i (рис. 3.3) інтерпретовані хімічні зсуви протонів піролідинового циклу (-CH₂-CH-CH₂-) у вигляді дублет-дублету на ділянці δ = 2.28-2.30 м.ч. (J = 7.2, 6.4 Hz), мультиплетів на ділянках δ = 2.49-2.52 м.ч та δ = 3.06-3.10 м.ч., відповідно.

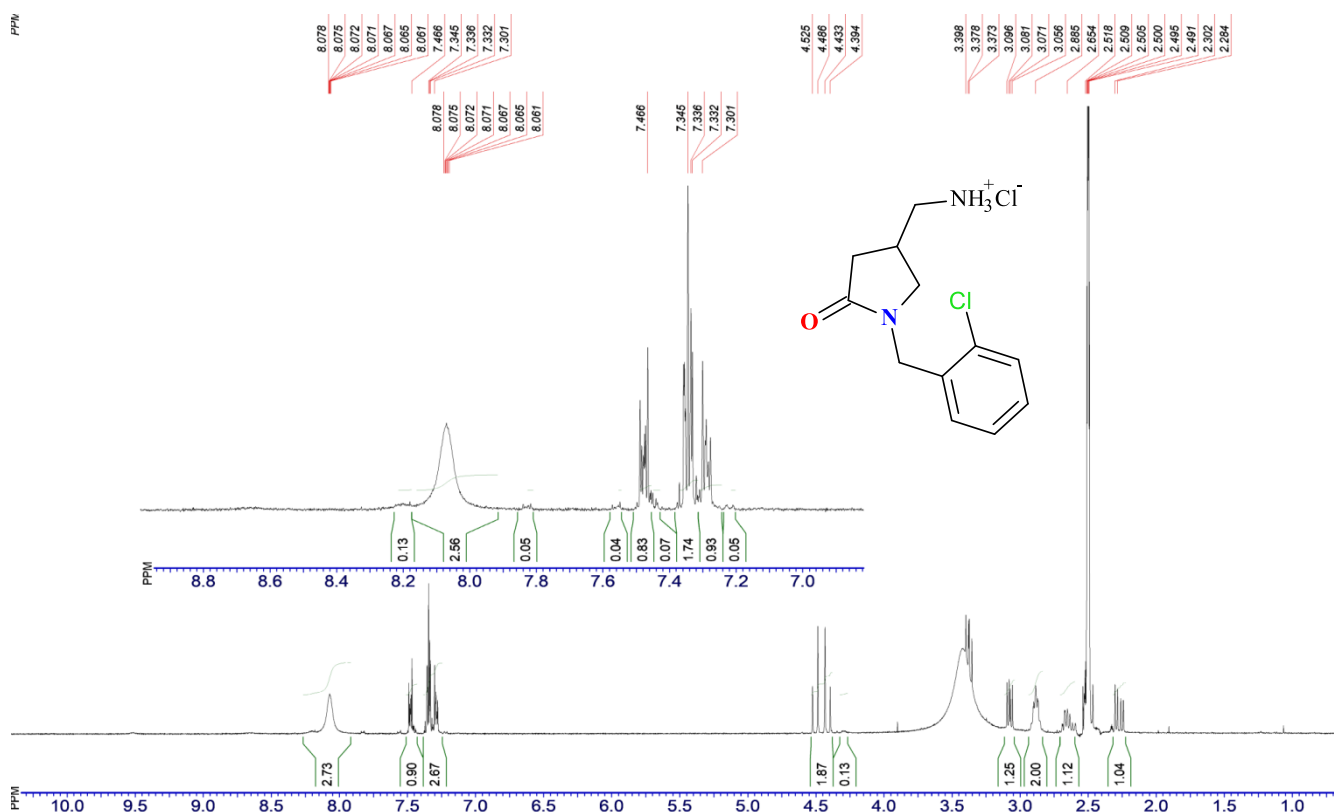


Рис. 3.3 ¹H ЯМР-спектр 4-(амінометил)-1-[(2-хлорфеніл)метил]піролідин-2-он гідрохлориду 3.8i

Сигнали метиленових груп фіксуються у вигляді триплету на ділянці $\delta = 2.89$ м.ч. ($J = 0.8$ Hz) і квартету на ділянці $\delta = 4.39-4.53$ м.ч. ($J = 15.6$ Hz). Ароматичні протони мають хімічні зсуви у вигляді мультиплетів на ділянках $\delta = 7.30-7.35$ м.ч. і $\delta = 7.42-7.47$ м.ч. На ділянці спектру $\delta = 8.08$ м.ч. фіксуються сигнали протонів гідрованої аміногрупи NH_3^+ у вигляді синглету.

Проведений хромато-мас-спектрометричний аналіз (LC/MS) дозволив встановити хроматографічну чистоту синтезованих сполук та зареєструвати відповідні піки молекулярного іону $[(M+H)^+]$ (табл.3.1) з метою підтвердження молекулярної маси і структури нових сполук. Хромато-мас-спектр 4-(амінометил)-1-[(2-хлорфеніл)метил]піролідин-2-он гідрохлориду 3.8і наведено на рис. 3.4.

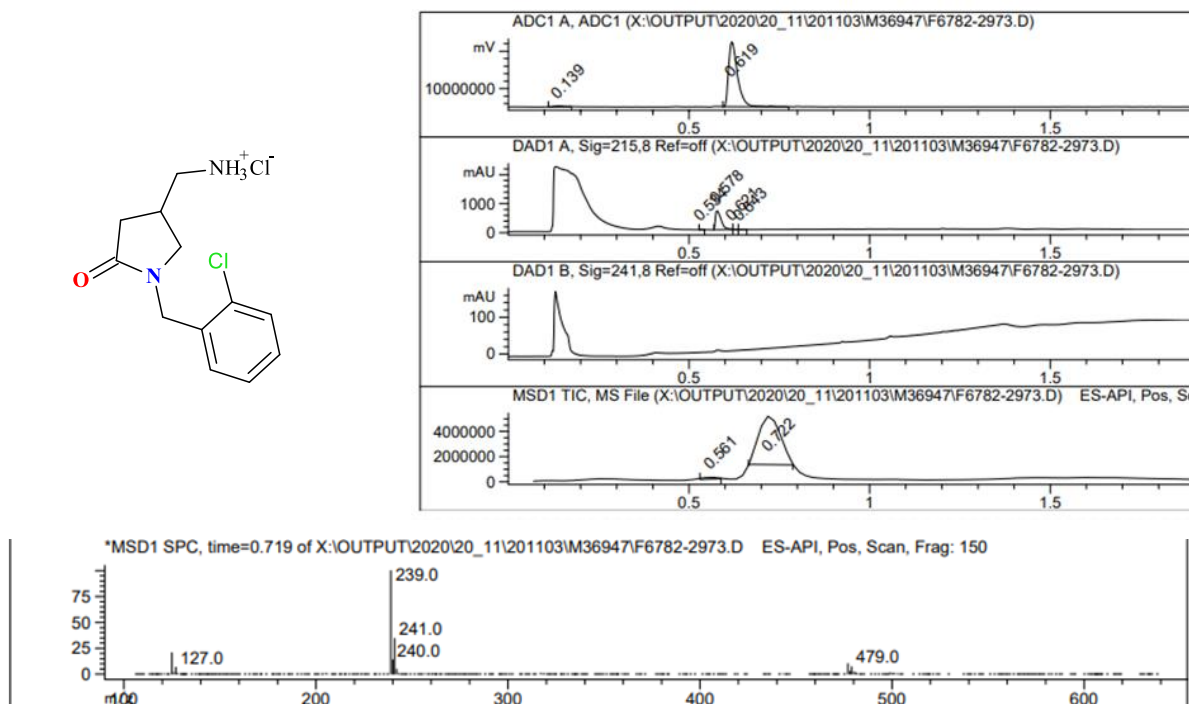


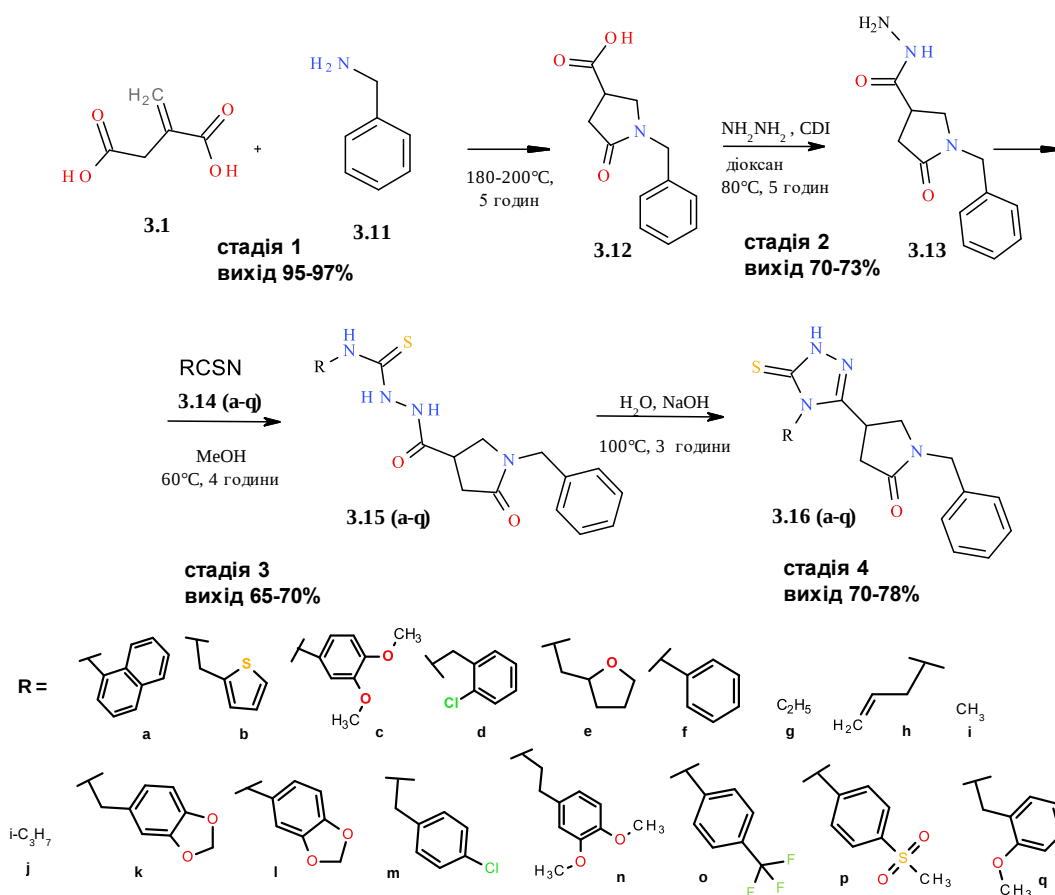
Рис. 3.4 Хромато-мас-спектр 4-(амінометил)-1-[(2-хлорфеніл)метил]піролідин-2-он гідрохлориду 3.8і

3.2 Синтез похідних 1-бензил-4-(4-(R)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідин-2-ону

В рамках запланованої хімічної модифікації базового скафолду 1-бензил-4-піролідин-2-ону шляхом поєднання з заміщеними 1,2,4-тріазол-5-тіонами були одержані нові похідні 1-бензил-4-(4-(R)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідин-2-ону 3.16(a-q) [87-92] згідно схеми 3.3.

Синтез цільових похідних відбувався у декілька стадій шляхом взаємодії ітаконової кислоти 3.1 з бензиламіном 3.11 в еквімолярному співвідношенні до утворення 1-бензил-5-оксопіролідин-3-карбонової кислоти 3.12, яку піддавали гідразинолізу з отриманням відповідного гідразиду 3.13 шляхом додавання гідразингідрату в діоксані. Потім додавали відповідні заміщені ізотіаціанати 3.14(a-q) при нагріванні в метанолі. Циклізацію проміжних тіосемікарбазидів 3.15(a-q) проводили при нагріванні з гідроксидом натрію до утворення нових 1-бензил-4-(4-(R)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідин-2-онів 3.16(a-q).

Схема 3.3



Підтвердження повноти протікання реакцій контролювали методом ТШХ.

Синтезовані похідні являють собою білі осаді добре розчинні в пропанолі-2, етанолі, метанолі, ДМФА, ДМСО і нерозчинні у воді.

Підтвердження утворення проміжних тіосемикарбазидів, які утворилися на третій стадії синтезу в результаті додавання до гідразиду 1-бензил-5-окспіролідін-3-карбонової кислоти заміщених ізотіаціанатів, проводили за допомогою ^1H ЯМР-спектроскопії. Так, на прикладі ^1H -ЯМР спектру тіосемикарбазиду 3.15с (1-бензил-N-{[(3,4-диметоксифеніл)карбамотіоіл]аміно}-5-окспіролідін-3-карбоксаміду) (рис. 3.5) інтерпретовані хімічні зсуви протонів піролідинового фрагменту на ділянках $\delta = 2.49$ - 2.50 , $\delta = 3.12$ - 3.25 м.ч. у вигляді мультиплетів та $\delta = 3.35$ - 3.45 м.ч. ($J = 12.0$ Hz) у вигляді квартету. Сигнали протонів метоксильних груп фіксуються у вигляді дублету в області $\delta = 3.71$ - 3.74 м.ч. ($J = 9.2$ Hz). Хімічний зсув протонів метиленової групи спостерігається на ділянці 4.36 м.ч. у вигляді синглету.

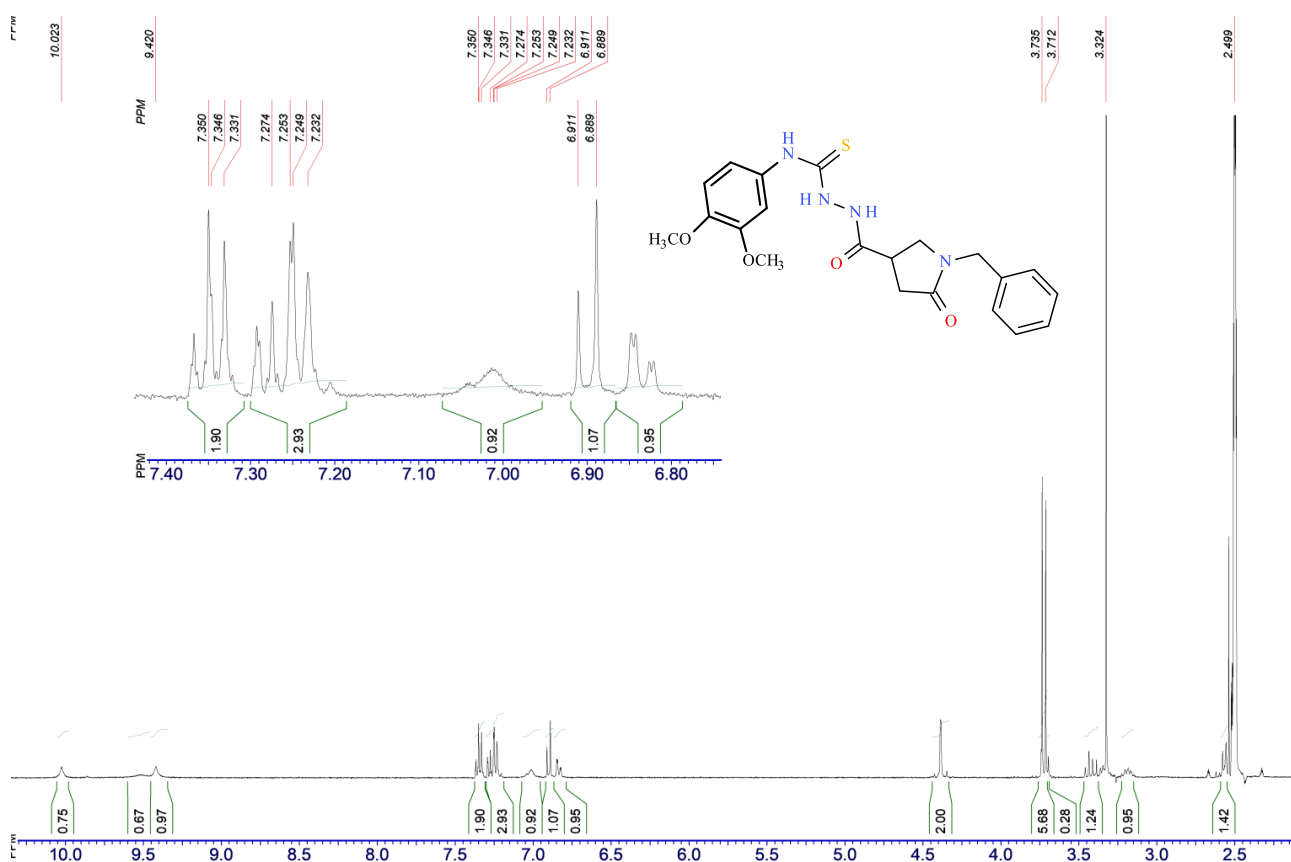


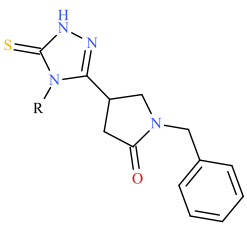
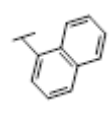
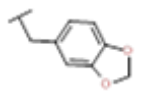
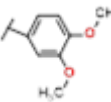
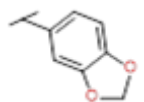
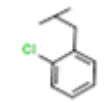
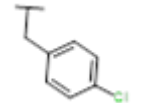
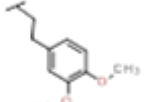
Рис. 3.5 ^1H ЯМР-спектр тіосемикарбазиду 3.15с (1-бензил-N-{[(3,4-диметоксифеніл)карбамотіоіл]аміно}-5-окспіролідін-3-карбоксаміду)

Сигнали ароматичних протонів мають характерні сигнали на ділянках $\delta = 6.82-6.85$ м.ч. ($J = 3.2$ Hz) та $\delta = 6.89-6.91$ м.ч. ($J = 8.8$ Hz) у вигляді дублет-дублету та дублету відповідно. Ще 5 протонів фіксуються на ділянках $\delta = 7.23-7.35$ м.ч., $\delta = 7.23-7.27$ м.ч., $\delta = 7.33-7.35$ м.ч. у вигляді мультиплетів. В слабкому полі спектрограми знайдені хімічні зсуви тіосемикарбазидного фрагменту у вигляді синглетів на ділянках $\delta = 9.40$ м.ч., $\delta = 9.56$ м.ч. і $\delta = 10.02$ м.ч.

Будову кінцевих похідних 1-бензил-4-(4-(R)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідин-2-ону 3.16(a-q) підтверджено ^1H і ^{13}C ЯМР-спектроскопією, даними LC/MS та елементного аналізу (табл. 3.3-3.5).

Таблиця 3.3

Виходи, температури плавлення та LC/MS похідних 1-бензил-4-(4-(R)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідин-2-ону 3.16(a-q)

									
№	R	Вихід, %	T _{пл} , °C*	LC/MS m/z	№	R	Вихід, %	T _{пл} , °C	LC/MS m/z
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3.16a		78	238-240	401.2 [(M+H) ⁺]	3.16j	i-C ₃ H ₇	75	167-169	317.2 [(M+H) ⁺]
3.16b		72	218-220	371.00 [(M+H) ⁺]	3.16k		71	196-198	409.2 [(M+H) ⁺]
3.16c		75	202-204	411.2 [(M+H) ⁺]	3.16l		71	191-193	395.0 [(M+H) ⁺]
3.16d		75	183-185	399.2 [(M+H) ⁺]	3.16m		75	180-182	399.2 [(M+H) ⁺]
3.16e		72	144-146	359.2 [(M+H) ⁺]	3.16n		72	199-201	439.2 [(M+H) ⁺]

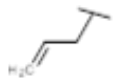
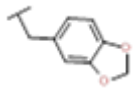
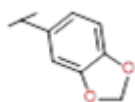
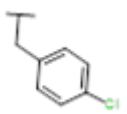
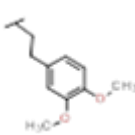
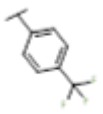
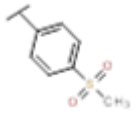
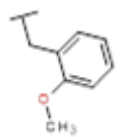
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3.16f		71	197-199	351.2 [(M+H) ⁺]	3.16o		75	180-182	419.0 [(M+H) ⁺]
3.16g	C ₂ H ₅	75	158-160	303.2 [(M+H) ⁺]	3.16p		71	211-213	429.2 [(M+H) ⁺]
3.16h		72	167-169	315.2 [(M+H) ⁺]	3.16q		72	168-170	395.2 [(M+H) ⁺]
3.16i	CH ₃	72	161-163	289.2 [(M+H) ⁺]					

Примітка. * – кристалізують із пропанолу-2.

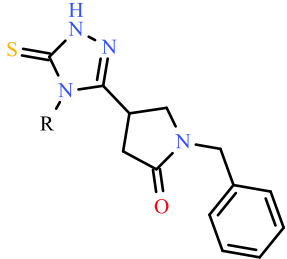
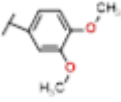
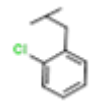
Таблиця 3.4

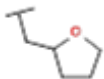
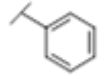
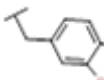
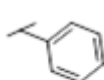
Дані елементного аналізу похідних 1-бензил-4-(4-(R)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідин-2-ону 3.16(a-q)

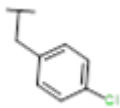
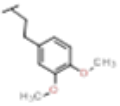
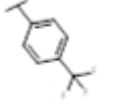
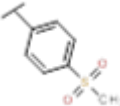
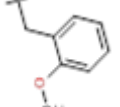
№	R	Брутто - формула	%, C		%, S		%, N	
			Розр.	Знайд.	Розр.	Знайд.	Розр.	Знайд.
1	2	3	4	5	6	7	8	9
3.16a		C ₂₃ H ₂₀ N ₄ OS	68.98	69.15	8.00	8.17	13.99	14.41
3.16b		C ₁₈ H ₁₈ N ₄ OS ₂	58.35	58.71	17.31	17.61	15.12	15.36
3.16c		C ₂₁ H ₂₂ N ₄ O ₃ S	61.45	61.68	7.81	7.96	13.65	13.82
3.16d		C ₂₀ H ₁₉ ClN ₄ OS	60.22	60.45	8.04	8.36	14.05	14.47
3.16e		C ₁₈ H ₂₂ N ₄ O ₂ S	60.31	60.48	8.94	9.11	15.63	16.11

1	2	3	4	5	6	7	8	9
3.16f		$C_{19}H_{18}N_4OS$	65.12	65.21	9.15	9.52	15.99	16.34
3.16g	C_2H_5	$C_{15}H_{18}N_4OS$	59.58	60.15	10.60	11.04	18.53	19.26
3.16h		$C_{16}H_{18}N_4OS$	61.12	61.37	10.20	10.64	17.82	18.23
3.16i	CH_3	$C_{14}H_{16}N_4OS$	58.31	58.51	11.12	11.44	19.43	19.86
3.16j	$i-C_3H_7$	$C_{16}H_{20}N_4OS$	60.73	60.92	10.13	10.24	17.71	18.12
3.16k		$C_{21}H_{20}N_4O_3S$	61.75	61.92	7.85	8.13	13.72	14.21
3.16l		$C_{20}H_{18}N_4O_3S$	60.90	61.12	8.13	8.44	14.20	14.65
3.16m		$C_{20}H_{19}ClN_4OS$	60.22	60.31	8.04	8.46	14.05	14.52
3.16n		$C_{23}H_{26}N_4O_3S$	62.99	63.15	7.31	7.78	12.78	13.02
3.16o		$C_{20}H_{17}FN_4OS$	57.41	57.52	7.66	7.98	13.39	13.84
3.16p		$C_{20}H_{20}N_4O_3S_2$	56.06	56.15	14.96	15.21	13.07	13.42
3.16q		$C_{20}H_{19}ClN_4OS$	63.94	63.71	8.04	8.46	14.05	14.52

Хімічні зсуви протонів (δ , м.ч.) у спектрах ^1H ЯМР похідних 1-бензил-4-(4-(R)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідин-2-ону 3.16(a-q)

						
№	R	CH_2	$-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}_2-$ 5H (піролідин)	NH- 1,2,4- тріазол	ArH	Сигнали протонів інших функціональних груп
1	2	3	4	5	6	7
3.16a		4.40 (д, J = 15.1 Hz, 1H), 4.06 (д, J = 15.1 Hz, 1H)	3.21 (дд, J = 14.4, 11.4, 7.1 Hz, 2H), 3.10 (дд, J = 9.8, 5.0 Hz, 1H), 2.99 (дд, J = 9.8, 8.1 Hz, 1H), 2.68 (дд, J = 16.5, 5.8 Hz, 1H), 2.41 (д, J = 9.4 Hz, 1H)	13.97 (с, 1H)	7.71-7.64 (м, 2H), 7.41 (т, J = 7.7 Hz, 1H), 7.35 – 7.24 (м, 4H), 7.17-7.11 (м, 1H), 7.08-7.00 (м, 3H)	-
3.16b		4.35 (с, 2H) 3.89 – 3.73 (м, 2H)	3.50-3.37 (м, 2H), 3.20 (дд, J = 9.9, 5.7 Hz, 1H), 2.66 (дд, J = 16.6, 9.4 Hz, 1H), 2.40 (дд, J = 16.5, 6.6 Hz, 1H).	13.78 (м, 1H)	7.45 (дд, J = 5.1, 1.3 Hz, 1H), 7.37-7.30 (м, 1H), 7.30-7.23 (м, 1H), 7.20-7.13 (м, 1H), 6.94 (дд, J = 5.1, 3.4 Hz, 1H), 5.40 (с, 2H)	-
3.16c		4.36 (д, J = 15.1 Hz, 1H), 4.30 (д, J = 15.0 Hz, 1H)	3.55-3.43 (м, 1H), 3.40 (дд, J = 9.7, 5.5 Hz, 1H), 3.28 (дд, J = 9.8, 8.3 Hz, 1H), 2.60 (дд, J = 16.7, 6.5 Hz, 1H), 2.40 (дд, J = 16.6, 9.3 Hz, 1H)	13.74 (с, 1H)	7.36-7.30 (м, 2H), 7.30-7.22 (м, 1H), 7.19-7.12 (м, 2H), 7.07 (д, J = 8.6 Hz, 1H), 7.00 (с, 1H), 6.90 (дд, J = 8.2, 1.8 Hz, 1H)	3.81 (с, 3H, OCH ₃); 3.72 (с, 3H, OCH ₃)
3.16d		5.27 (д, J = 2.5 Hz, 2H), 3.42-4.26 (м, 2H)	3.62 (д, J = 7.7 Hz, 2H), 3.40 – 3.31 (м, 1H), 3.27 (дд, J = 9.8, 5.8 Hz, 2H)	13.89 (с, 1H)	7.49 (д, J = 7.9 Hz, 1H), 7.36-7.25 (м, 4H), 7.22 (т, J = 7.5 Hz, 1H), 7.18-7.11 (м, 2H), 6.70 (д, J = 7.7 Hz, 1H)	-

1	2	3	4	5	6	7
3.16e		4.03-4.2 (м, 2H); 4.41 (т, 2H, J = 5.6 Hz)	1.52-2.05 (м 4H), 2.5-2.62 (м, 1H)	13.7 (м, 1H)	7.225-7.342 (м, 5H)	2.74-2.9 (м, 1H) 3.5-3.9 (м, 6H) (oxolan 7H)
3.16f		4.32 (т, 2H, J = 8.2 Hz)	2.50-2.54 (м, 2H), 3.29-3.53 (м, 3H)	13.8(с, 1H)	7.14-7.16 (д, J = 6.8 Hz, 2H), 7.26-7.41 (м, 5H), 7.53-7.56 (м, 3H)	-
3.16g	C ₂ H ₅	4.42 (с, 2H)	2.78-2.85 (м, 1H, CH ₂); 3.45 (кв, J = 6.4 Hz, 2H), 3.63 (т, J = 8.4 Hz, 1H), 3.91 (д, J = 7.2 Hz, 2H)	13.6 (с, 1H)	7.229-7.249 (м, 3H), 7.325-7.344 (м, 2H)	1.17 (т, 3H, J = 7.2 Hz, CH ₃); 2.54-2.62 (м, 1H, CH ₂)
3.16h		4.38 (д, 2H, J = 6.4 Hz)	2.79 (кв, J = 6.4 Hz, 1H CH ₂), 3.328-3.449 (м, 2H, CH ₂); 3.55 (т, 1H, J = 6.4 Hz, CH ₂), 3.73-3.75 (м, 1H, CH ₂)	13.6 (с, 1H)	7.21-7.27 (м, 3H), 7.32-7.33 (м, 2H)	4.62 (д, 2H, J = 6.4 Hz), 4.99 i 5.16 (дд, 1H, J = 4 Hz, 1H, J = 10 Hz), 6.26-6.40 (м, 1H) (CH ₂ =CH-CH ₂ - 5H проп-2-ен)
3.16i	CH ₃	4.36 (с, 2H)	2.72-2.83(с, 1H, CH ₂); 3.45 (д, J = 6.4 Hz, 2H), 3.64 (т, J = 8.2 Hz, 1H), 3.91 (д, J = 7.2 Hz, 2H)	13.62 (с, 1H)	7.21-7.28 (м, 2H), 7.32-7.34 (м, 3H)	2.72 (с, 3H, CH ₃)
3.16j	i-C ₃ H ₇	4.35 (д, 2H, J = 6.2 Hz)	3.52-3.38 (м, 2H), 3.24 (с, 1H), 2.66 (д, J = 9.4 Hz, 1H), 2.40 (д, J = 6.6 Hz, 1H).	13.6 (с, 1H)	7.64-7.72 (м, 2H), 7.40 (т, J = 7.7 Hz, 1H), 7.24-7.36 (м, 2H)	4.85 (с, 1H, CH) 1.72 (с, 6H, 2×CH ₃)
3.16k		4.31 (2H, с) 5.12 (2H, с)	2.27-2.67 (2H, м), 3.1-3.21 (1H, м) 3.23-3.41 (1H, м) 3.6-3.71 (1H, м)	13.8 (1H, с)	6.73-6.74 (д, 1H J = 1,6 Hz) 6.81-6.83 (д, 1H J = 7,6 Hz) 6.87-6.88 (д, 1H J = 1,6 Hz) 7.13-7.15 (м, 2H) 7.27-7.22 (м, 3H)	5.99 (2H с) (O-CH ₂ -O)
3.16l		4.44 (д, J = 15.2 Hz, 2H),	3.32-3.24 (м, 2H), 3.22-3.14 (м, 2H), 2.61 (дд, J = 9.1, 4.7 Hz, 1H).	10.05 (м, 1H)	7.36-7.31 (м, 3H), 7.31 – 7.26 (м, 2H), 7.26-7.20 (м, 1H), 6.89 – 6.82 (м, 2H)	6.02 (с, 2H, O-CH ₂ -O)

1	2	3	4	5	6	7
3.16m		5.23-5.24 (д, J = 2.0 Hz, 2H), 4.31-4.32 (д, 2H, J = 4.0 Hz)	3.62 (д, J = 7.7 Hz, 2H), 3.40 – 3.31 (м, 2H), 3.27 (дд, J = 9.8, 5.8 Hz, 1H).	13.8 (с, 1H)	7.30-7.37 (м, 5H), 7.28-7.29 (д, J = 4.8 Hz, 2H), 7.13-7.14 (д, 2H, J = 2.4 Hz)	-
3.16n		4.28-4.40 (2H, кв, J = 3.2 Hz, J = 4.4 Hz), 4.08 (т, 2H, J = 1.2 Hz) 3.29-3.33 (м, 2H)	2.27-2.70 (2H, м), 2.85-2.90 (2H, м), 3.15-3.28 (м 1H)	13.7 (1H, с)	6.23-6.65 (дд, 1H, J = 1.6, 4.8 Hz) 6.73-6.74 (д, 1H J = 2 Hz), 6.82-6.842 (д 1H J = 8.4 Hz), 7.18-7.35 (м, 5H)	3.45 (6H, д, J = 2.4 Hz) (2×OCH ₃)
3.16o		4.33 (с, 2H)	2.88 (дд, J = 16.5, 9.1 Hz, 1H), 2.74 – 2.65 (м, 1H), 2.60 (д, J = 16.6 Hz, 1H), 2.38 (дд, J = 16.6, 9.1 Hz, 2H).	13.89 (с, 1H)	7.29 (ддд, J = 24.0, 10.1, 6.8 Hz, 8H), 7.16 (д, J = 7.3 Hz, 1H)	-
3.16p		4.33 (2H, с)	2.31-2.69 (2H, м) 3.18 (с 1H) 3.4-3.57 (2H, м)	13.9 (1H, с)	8.10-8.13 (д, 2H J = 8.4 Hz) 7.72-7.75 (д, 2H J = 8.4 Hz) 7.30-7.32 (м, 3H) 7.16-7.18 (м, 2H)	1.91 1H, с. 1.36-1.37 д, 2H J = 6.4 Hz (SO ₂ CH ₃)
3.16q		4.3 (2H, с) 5.15 (2H, с)	3.05-3.41 (4H, м) 3.51-3.65 (1H, м)	13,8 (1H, с)	7.27-7.32 (4H, м) 7.15-7.15 (2H, д, J = 6.4 Hz) 7.01-7.02 (1H, д, J = 8.4 Hz) 6.82-6.83 (1H, т, J = 0.8 Hz) 6.69-6.71 (1H, д, J = 0.8 Hz)	3.79 (3H, с) (OCH ₃)

На ¹H ЯМР-спектрі 1-бензил-4-[4-(3,4-диметоксифеніл)-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл]піролідін-2-ону 3.16с (рис. 3.5) зафіксовані характерні для піролідинового циклу хімічні зсуви протонів водню у вигляді дублетів, дублет дублетів та мультиплетів у відповідних ділянках спектрограми: δ =3.55-3.43 м.ч. (м, 1H), δ =3.40 м.ч. (дд, J = 9.7, 5.5 Hz, 1H), δ =3.28 м.ч. (дд, J = 9.8, 8.3 Hz, 1H), δ =2.60 м.ч. (дд, J = 16.7, 6.5 Hz, 1H), δ = 2.40 м.ч. (дд, J = 16.6, 9.3 Hz, 1H). Сигнали протонів метоксильних груп фіксуються у сильному полі на ділянках δ =3.81 м.ч. і δ =3.72 м.ч. у вигляді синглетів, а

метиленової групи як дублети на ділянках $\delta = 4.36$ м.ч. ($J = 15.1$ Hz) і $\delta = 4.30$ м.ч. ($J = 15.0$ Hz). Ароматичні протони мають хімічні зсуви в областях $\delta = 7.36$ - 7.30 м.ч., $\delta = 7.30$ - 7.22 м.ч., $\delta = 7.19$ - 7.12 м.ч. і представляють собою мультиплети. Також фіксуються як дублетні, синглетні та дублет-дублетні сигнали на ділянках $\delta = 7.07$ м.ч. ($J = 8.6$ Hz), $\delta = 7.00$ м.ч., $\delta = 6.90$ м.ч. ($J = 8.2$, 1.8 Hz). Хімічний зсув протону водню 1,2,4-тріазольного фрагменту має характерну область інтерпретації $\delta = 13.74$ м.ч. у вигляді синглету.

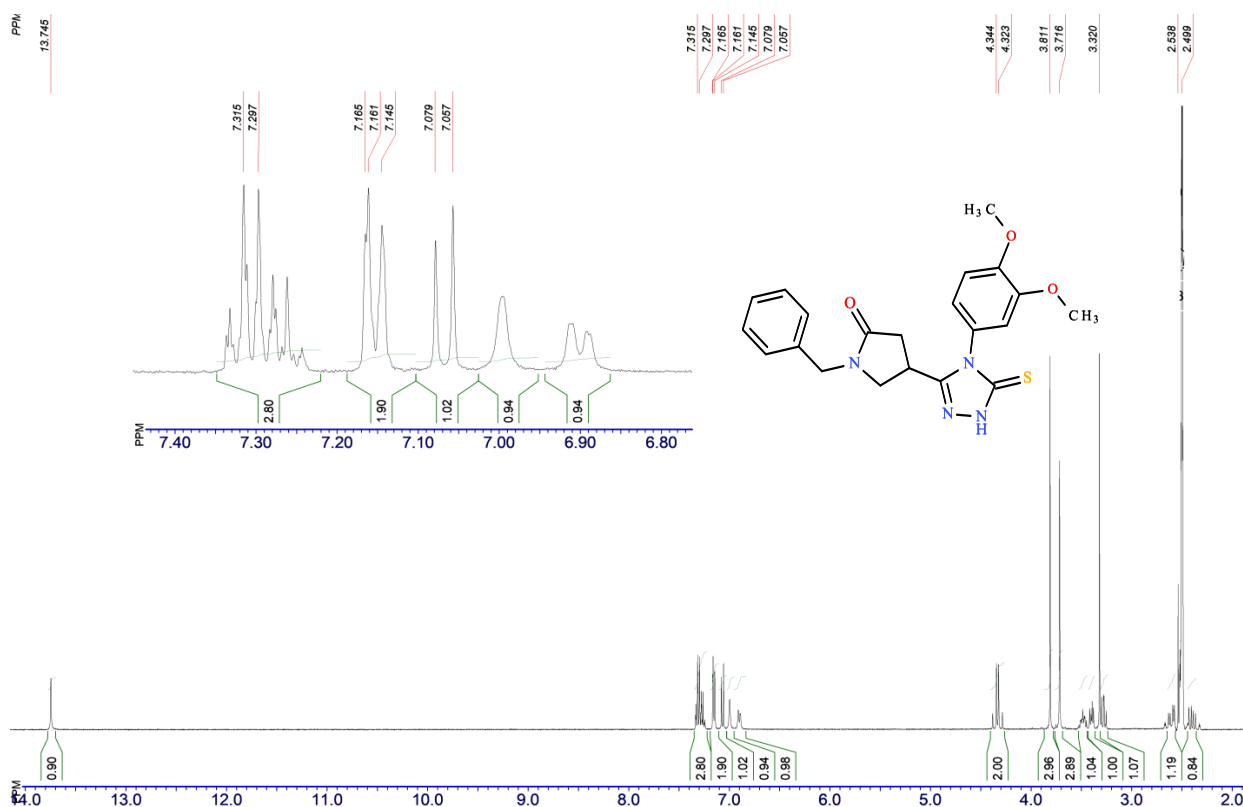


Рис. 3.5 ^1H ЯМР-спектр 1-бензил-4-[4-(3,4-диметоксифеніл)-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл]піролідин-2-ону 3.16с

На прикладі хромато-мас-спектрограми 1-бензил-4-[4-(3,4-диметоксифеніл)-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл]піролідин-2-ону 3.16с (рис. 3.6) показаний відповідний пік молекулярного іону $[(\text{M}+\text{H})^+]$, що вказує на чистоту одержаного продукту.

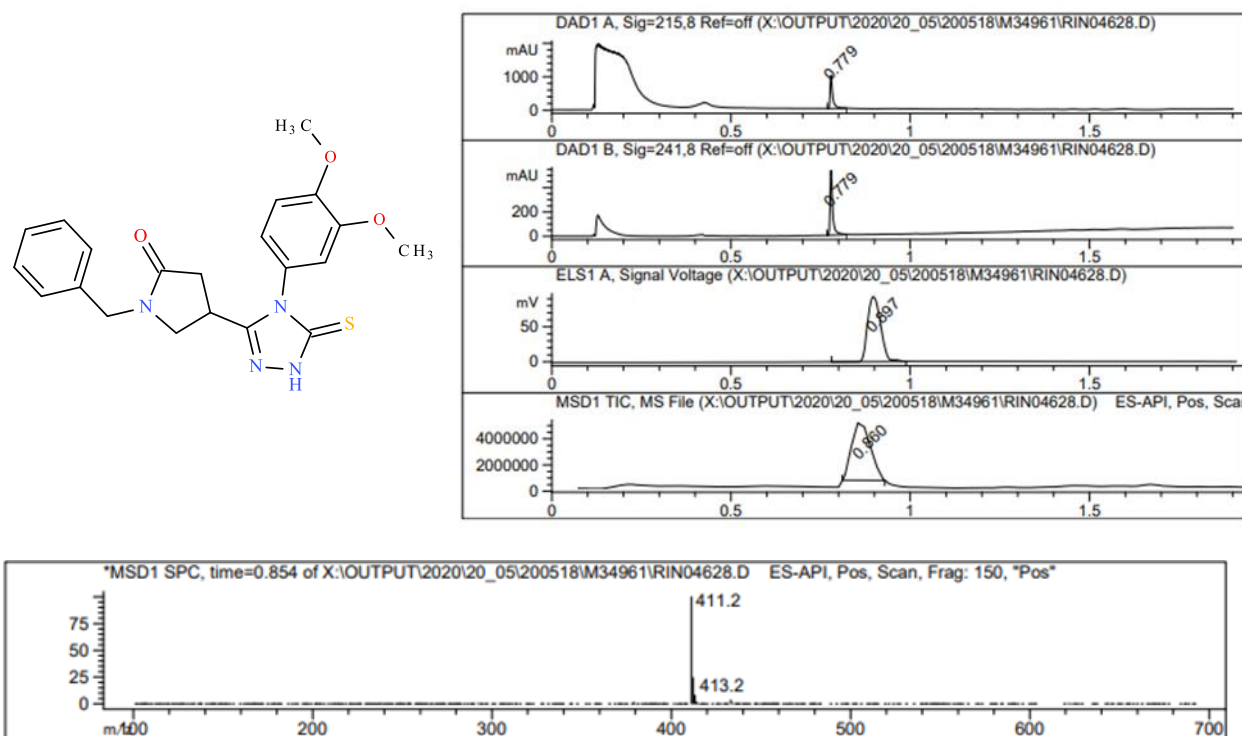
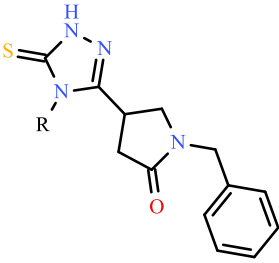
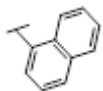


Рис. 3.6 Хромато-мас-спектр 1-бензил-4-[4-(3,4-диметоксифеніл)-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-3-іл]піролідин-2-ону 3.16с

Характерні хімічні зсуви інтерпретовані на ^{13}C ЯМР-спектрах сполук 3.16 (а-н), які відповідають сигналам атомів карбону основних фрагментів цільових похідних у відповідних областях спектрограм (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Хімічні зсуви атомів карбону (δ , м.ч.) у спектрах ^{13}C ЯМР похідних 1-бензил-4-(4-(R)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідин-2-ону 3.16(а-н)

		
№	R	Хімічні зсуви атомів карбону (δ , м.ч.)
1	2	3
3.16a		172.9, 170.0, 153.2, 136.2, 135.3, 134.2, 128.9, 128.2, 128.2, 128.0, 127.5, 127.3, 126.9, 126.4, 125.8, 124.0, 123.6, 50.5, 47.2, 37.7, 35.8

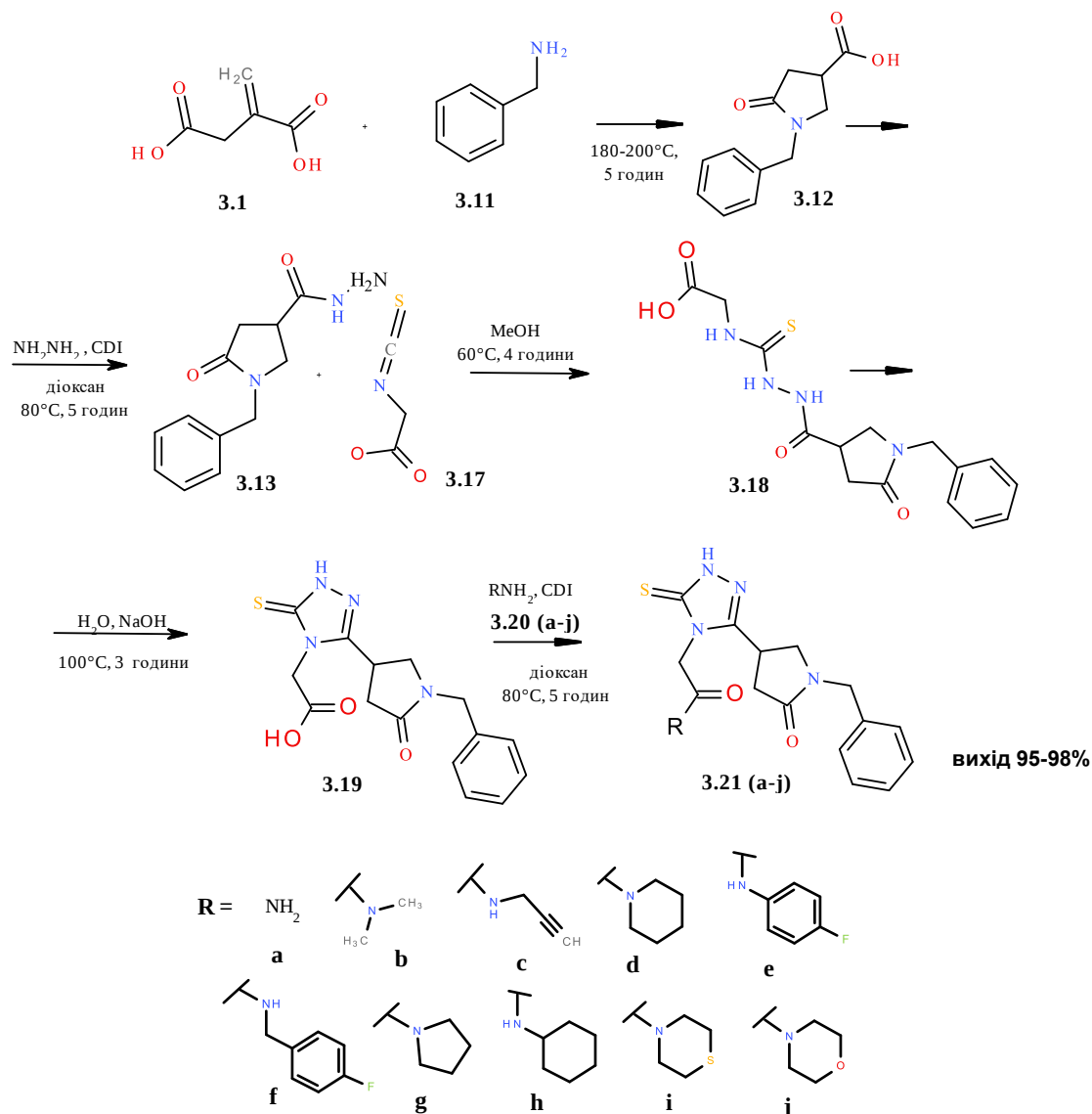
1	2	3
3.16b		174.4, 172.7, 153.9, 138.2, 136.2, 128.2, 128.2, 127.5, 126.5, 125.6, 125.4, 50.3, 47.5, 47.2, 35.8, 34.8
3.16c		172.9, 169.8, 153.4, 149.5, 144.8, 136.2, 133.0, 128.2, 128.2, 127.5, 121.6, 112.8, 109.1, 56.2, 55.9, 50.5, 47.2, 37.6, 35.8
3.16d		174.9, 172.7, 153.9, 136.2, 134.3, 134.1, 129.6, 129.6, 129.5, 128.2, 128.2, 127.5, 127.2, 50.3, 47.9, 47.2, 35.8, 34.8
3.16e		173.4, 172.7, 154.7, 136.2, 128.2, 128.2, 127.5, 77.6, 68.1, 50.3, 49.7, 47.2, 35.8, 34.7, 29.0, 25.4
3.16f		172.9, 169.9, 153.5, 136.2, 136.1, 129.0, 128.2, 128.2, 128.0, 127.5, 127.3, 50.5, 47.2, 37.5, 35.8
3.16g	C ₂ H ₅	172.7, 172.2, 154.7, 136.2, 128.2, 128.2, 127.5, 50.3, 47.2, 42.3, 35.8, 34.8, 13.1
3.16h		174.3, 172.7, 154.5, 136.2, 133.6, 128.2, 128.2, 127.5, 117.9, 50.3, 47.8, 47.2, 35.8, 34.6

3.3 Синтез похідних амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідін-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти

З метою створення нових синтетичних матриць нами була проведена подальша модифікація 5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазольного фрагменту шляхом введення залишку оцтової кислоти та подальшого амідування відповідними амінами (схема 3.4). Перші дві стадії аналогічні попередньому синтезу, які полягають в утворенні 1-бензил-5-оксопіролідін-3-карбонової кислоти 3.12 та відповідного гідразиду 3.13. Подальше нагрівання з 2-ізотіаціанатом оцтової кислоти 3.17 в метанолі призвело до одержання проміжного тіосемікарбазиду 3.18, який циклізували у 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідін-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтову кислоту 3.19. Подальше амідування відповідними амінами 3.20(а-і) проводили за наявності CDI при нагріванні. В результаті були одержані нові аміді 2-[3-(1-

бензил-5-оксо-піролідин-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти 3.21(a-j) [93].

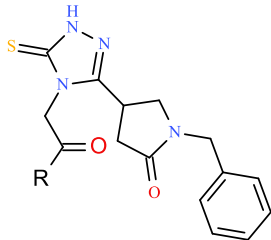
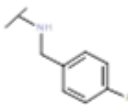
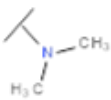
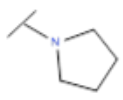
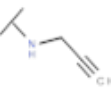
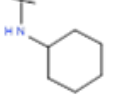
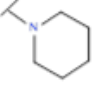
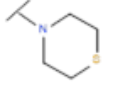
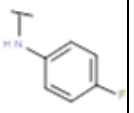
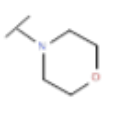
Схема 3.4



Перебіг реакцій підтверджували з використанням ТШХ. Синтезовані похідні являють собою білі осаді, розчинні в пропанолі-2, етанолі, метанолі, ДМФА, ДМСО і нерозчинні у воді.

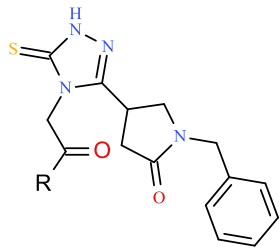
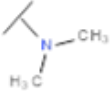
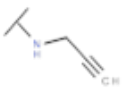
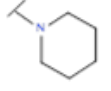
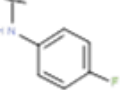
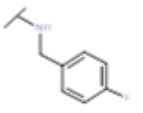
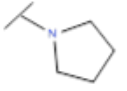
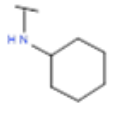
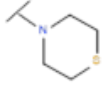
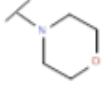
Будову та чистоту одержаних амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідин-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти підтверджено ^1H ЯМР-спектроскопією, LC/MS та елементним аналізом (табл. 3.7-3.9).

Виходи, температури плавлення та LC/MS амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідин-3-іл)-5-сульфонілден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти 3.21(а-і)

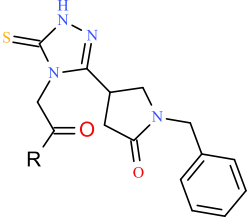
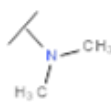
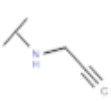
									
№	R	Вихід, %	T _{пл} , °C*	LC/MS m/z	№	R	Вихід, %	T _{пл} , °C	LC/MS m/z
3.21a		98	92-95	333.2 [(M+H) ⁺]	3.21f		95	167-169	440.2 [(M+H) ⁺]
3.21b		95	108-110	360.00 [(M+H) ⁺]	3.21g		95	212-214	386.0 [(M+H) ⁺]
3.21c		95	126-128	370.2 [(M+H) ⁺]	3.21h		97	117-119	414.2 [(M+H) ⁺]
3.21d		98	201-203	340.2 [(M+H) ⁺]	3.21i		95	192-194	418.2 [(M+H) ⁺]
3.21e		95	127-129	426.2 [(M+H) ⁺]	3.21j		95	181-183	402.2 [(M+H) ⁺]

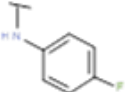
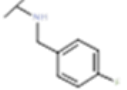
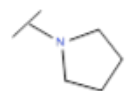
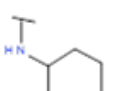
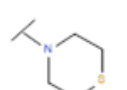
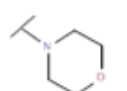
Примітка. * – кристалізують із пропанолу-2.

Дані елементного аналізу амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідин-3-іл)-5-сульфонілден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти 3.21(а-j)

								
№	R	Брутто - формула	%, C		%, S		%, N	
			Розр.	Знайд.	Розр.	Знайд.	Розр.	Знайд.
3.21a		$C_{15}H_{17}N_5O_2S$	54.37	54.62	9.67	9.71	21.13	21.35
3.21b		$C_{17}H_{21}N_5O_2S$	56.81	57.01	8.92	9.15	19.48	19.71
3.21c		$C_{18}H_{19}N_5O_2S$	58.52	58.78	8.68	8.92	18.96	19.12
3.21d		$C_{20}H_{25}N_5O_2S$	60.13	60.34	8.02	8.21	17.53	17.71
3.21e		$C_{21}H_{20}FN_5O_2S$	59.28	59.47	7.53	7.78	16.46	16.72
3.21f		$C_{22}H_{22}FN_5O_2S$	60.12	60.25	7.29	7.41	15.93	16.12
3.21g		$C_{19}H_{23}N_5O_2S$	59.20	59.42	8.32	8.48	18.17	18.25
3.21h		$C_{21}H_{27}N_5O_2S$	60.99	61.15	7.75	7.89	16.94	17.15
3.21i		$C_{19}H_{23}N_5O_2S_2$	54.65	54.71	15.36	15.48	16.77	16.91
3.21j		$C_{19}H_{23}N_5O_3S$	56.84	57.08	7.99	8.12	17.44	17.65

Хімічні зсуви протонів (δ , м.ч.) у спектрах ^1H ЯМР амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідин-3-іл)-5-сульфонілден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти 3.21(а-д)

							
№	R	CH ₂	-CH ₂ -CH-CH ₂ -5H (піролідин)	NH-1,2,4-тріазол	-CO-NH	ArH	Сигнали протонів інших функціональних груп
1	2	3	4	5	6	7	8
3.21a		4.08 (д, J = 12.4 Hz, 1H) 4.36 (д, J = 12.3 Hz, 1H), 4.50 (д, J = 3.8 Hz, 2H)	2.57 (дд, J = 12.4, 7.0 Hz, 1H), 2.66 (дд, J = 12.4, 6.9 Hz, 1H), 3.53 (м, J = 6.9 Hz, 1H), 3.61 (дд, J = 12.3, 6.9 Hz, 1H), 3.75 (дд, J = 12.3, 6.9 Hz, 1H),	13.60 (с, 1H)	8.26 (с, 2H)	7.07 (с, 2H), 7.35 – 7.25 (м, 3H)	-
3.21b		4.11 (д, J = 12.5 Hz, 1H), 4.40-4.47 (м, 1H), 4.47- 4.53 (м, 2H)	2.62 -2.69 (м, 2H), 3.53 (д, J = 7.0 Hz, 1H), 3.63 (дд, J = 12.5, 7.0 Hz, 1H), 3.75 (дд, J = 12.3, 7.0 Hz, 1H)	13.7 (с, 1H)	-	7.25-7.36 (м, 5H)	2.97 (с, 6H) (2×CH ₃)
3.21c		4.37 (д, J = 12.3 Hz, 1H), 4.51 (с, 2H)	2.26 (т, J = 2.9 Hz, 1H), 2.66 (ддд, J = 7.0, 2.9, 0.8 Hz, 2H), 3.55-3.63 (м, 1H), 3.53 (д, J = 6.9 Hz, 1H), 3.77 (дд, J = 12.2, 6.9 Hz, 1H)	13.7 (с, 1H)	8.27 (т, J = 5.6 Hz, 1H)	7.25-7.36 (м, 5H)	4.00 (ддд, J = 12.4, 5.7, 3.0 Hz, 1H), 4.18 – 4.06 (м, 2) (проп-2-ініл)
3.21d		4.06 (д, J = 12.3 Hz, 1H), 4.42 (д, J = 12.4 Hz, 1H), 4.51 (с, 2H)	2.63 (дд, J = 12.4, 7.0 Hz, 1H), 2.69 (дд, J = 12.5, 7.0 Hz, 1H), 3.44 - 3.57 (м, 3H)	13.7 (с, 1H)	-	7.25-7.35 (м, 5H),	1.61- 1.70 (м, 5H), 1.59 – 1.64 (м, 1H), 1.53-1.61 (м, 2H), 3.63 (дд, J = 12.3, 6.8 Hz, 1H), 3.77 (дд, J = 12.5, 7.0 Hz, 1H) (піперидин-1-іл)

1	2	3	4	5	6	7	8
3.21e		4.40 (с, 2H), 4.88 (с, 2H)	2.49-2.54 (м, 5H)	13.7 (с, 1H)	10.5 (с, 1H)	7.16 (т, 2H, J = 8.8 Hz), 7.22 і 7.27 (дд, 3H, J = 7.2 Hz), 7.31-7.35 (м, 2H), 7.55-7.58 (м, 2H)	-
3.21f		4.11 (д, J = 12.3 Hz, 1H), 4.35 (дд, J = 8.8, 1.5 Hz, 2H), 4.40 (д, J = 12.3 Hz, 1H), 4.49 (д, J = 4.2 Hz, 2H)	2.64 (квд, J = 12.4, 7.0 Hz, 2H), 3.53 (д, J = 7.0 Hz, 1H), 3.64 (дд, J = 12.3, 6.9 Hz, 1H), 3.79 (дд, J = 12.2, 7.0 Hz, 1H)	13.7 (с, 1H)	10.5 (с, 1H)	7.01-7.09 (м, 2H), 7.24-7.36 (м, 6H), 7.72-7.79 (м, 1H)	-
3.21g		4.06 (д, J = 12.3 Hz, 1H), 4.42 (д, J = 12.4 Hz, 1H), 4.52 (д, J = 1.5 Hz, 2H)	2.63 (дд, J = 12.4, 7.0 Hz, 1H), 2.70 (дд, J = 12.4, 6.9 Hz, 1H), 3.50-3.57 (м, 1H), 3.66 (дд, J = 12.3, 6.9 Hz, 1H), 3.74 (дд, J = 12.3, 7.0 Hz, 1H)	13.62 (с, 1H)	-	7.25-7.36 (м, 5H)	1.76-1.88 (м, 4H), 3.51 (дт, J = 3.7, 1.3 Hz, 2H), 3.45-3.52 (м, 2H) (піролідин-1-іл 8H)
3.21h		4.14 (д, J = 12.4 Hz, 1H), 4.41 (д, J = 12.4 Hz, 1H), 4.47 (д, J = 12.4 Hz, 1H), 4.54 (д, J = 12.4 Hz, 1H)	2.69 (дд, J = 12.4, 6.9 Hz, 1H), 3.53 (д, J = 7.0 Hz, 1H), 3.66 (дд, J = 12.4, 6.9 Hz, 1H), 3.70-3.82 (м, 2H)	13.7 (с, 1H)	10.52 (с, 1H)	7.20 (д, J = 9.9 Hz, 1H), 7.24-7.35 (м, 4H)	1.34-1.41 (м, 1H), 1.41-1.48 (м, 2H), 1.45-1.64 (м, 6H), 1.61-1.69 (м, 2H) (циклогексил 11H)
3.21i		4.06 (д, J = 12.3 Hz, 1H), 4.42 (д, J = 12.4 Hz, 1H), 4.51 (с, 2H)	2.62 (дд, J = 12.5, 7.0 Hz, 1H), 2.74 – 2.65 (м, 4H)	13.62 (с, 1H)	-	7.25-7.35 (м, 5H)	3.53 (д, J = 7.0 Hz, 1H), 3.60-3.72 (м, 6H), 3.77 (дд, J = 12.5, 7.0 Hz, 1H) (тіоморофолі н-4-іл 8H)
3.21j		4.05 (д, J = 12.4 Hz, 1H), 4.43 (д, J = 12.3 Hz, 1H), 4.43 (д, J = 12.3 Hz, 1H), 4.51 (с, 2H)	2.59-2.73 (м, 3H), 3.77 (дд, J = 12.5, 6.9 Hz, 2H)	13.60 (с, 1H)	-	7.21-7.26 (м, 1H), 7.25-7.35 (м, 3H)	3.60-3.70 (м, 2H), 3.48-3.59 (м, 6H) (морфолін-4-іл 8H)

Згідно ^1H ЯМР-спектру 2-[3-(1-бензил-5-оксопіролідин-3-іл)-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-4-іл]-*N*-(4-флуорфеніл) ацетаміду 3.21е характерні хімічні зсуви протонів відповідають відповідній ділянці спектрограми (рис. 3.7).

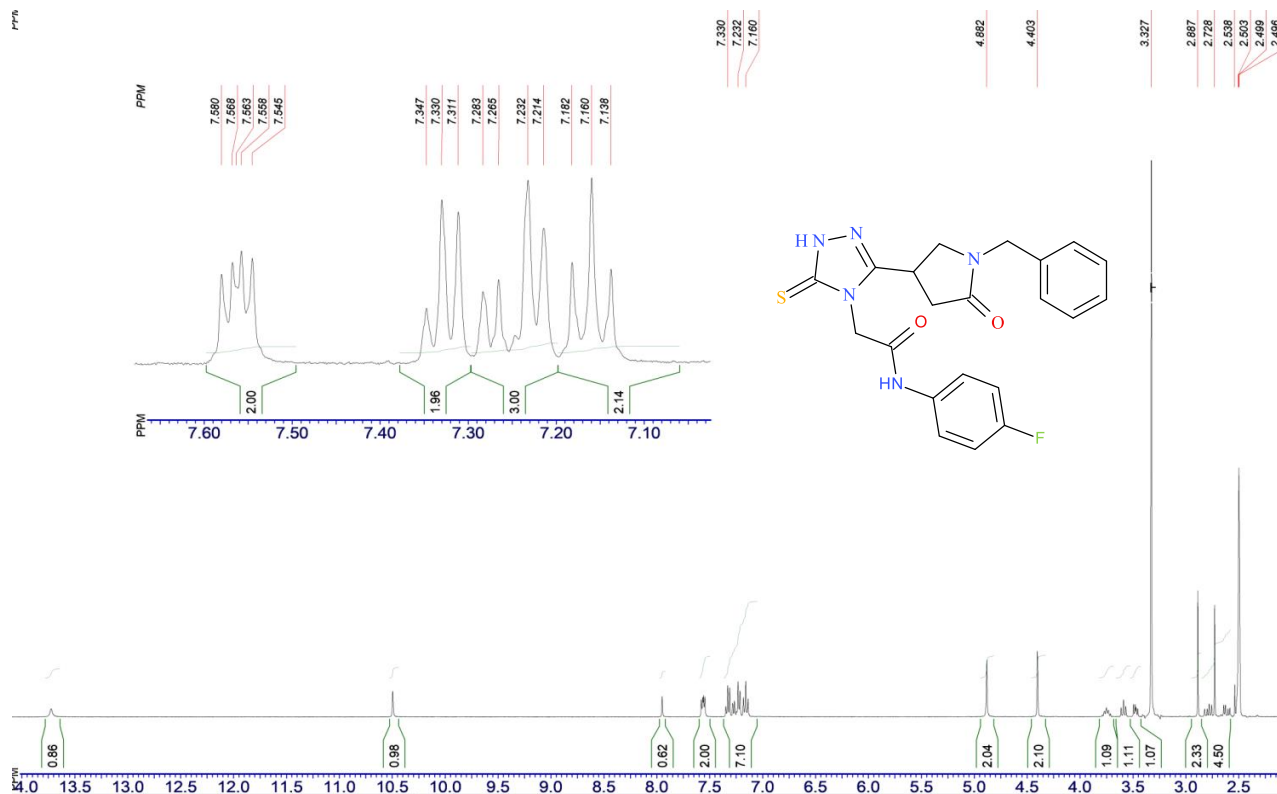


Рис. 3.7 ^1H ЯМР-спектр 2-[3-(1-бензил-5-оксопіролідин-3-іл)-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-4-іл]-*N*-(4-флуорфеніл) ацетаміду 3.21е

На спектрі інтерпретовані мультиплетний сигнал протонів піролідинового каркасу на ділянці $\delta = 2.49\text{--}2.53$ м.ч. та синглетні сигнали метиленових груп на ділянках $\delta = 4.40$ м.ч. і $\delta = 4.88$ м.ч. Хімічні зсуви протонів фіксуються на ділянках $\delta = 7.160$ м.ч., 7.223 м.ч., $\delta = 7.274$ м.ч., $\delta = 7.311\text{--}7.347$ м.ч., $\delta = 7.545\text{--}7.580$ м.ч. у вигляді дублетів, триплету та мультиплетів. Синглетні сигнали протонів амідної групи та тріазольного циклу знаходяться на ділянці $\delta = 10.5$ м.ч. та $\delta = 13.7$ м.ч.

Експериментальна частина

Методика синтезу 4-(амінометил)-1-[(2-метил)бензил]піролідин-2-ону гідрохлориду 3.8a (Спосіб 1)

Стадія 1. Суміш ітаконової кислоти 3.1 (0,068 моль) та 2-метилбензиламіну 3.2a (0,068 моль) нагрівають при температурі 130°C протягом 3 годин, до закінчення виділення з реакційної суміші води. Суміш у колбі охолоджують до кімнатної температури. Далі, отримані продукти піддають перекристалізації з етилацетату з отриманням похідних 1-(2-метил)-бензил-5-оксопіролідин-3-карбонової кислоти 3.3a у вигляді білих твердих речовин.

Стадія 2. До 1-(2-метил)-бензил-5-оксопіролідин-3-карбонової кислоти 3.3a (0,045 моль) в 50 мл діоксану, при температурі 80-90°C частинами, при перемішуванні додають карбонілдіімідазол (0,05 моль) з такою швидкістю, щоб бурхливе виділення CO₂ було контрольованим. Після завершення виділення CO₂ суміш перемішують при 80°C протягом 30 хвилин. Потім одержані розчини охолоджують до 50 °C і додають до них розчин Na (0,009 моль) в 5 мл метанолу. Розчини термостатують при 50°C протягом 5 годин. Підтвердивши повноту протікання реакції методом ТШХ, додають у суміш воду, піролідинкарбоновий естер, екстрагують за допомогою дихлорметану. Розчинник видаляють за допомогою роторного випарника. Одержують білі кристали метилового естеру 1-(2-метил)-бензил-5-оксопіролідин-3-карбонової кислоти 3.4a.

Стадія 3. Метиловий естер 1-(2-метил)-бензил-5-оксопіролідин-3-карбонової кислоти 3.4a (0,043 моль) розчиняють в метанолі та охолоджують до 10-15°C. Боргідрид натрію (0,054 моль) вводять у сферу реакції порційно, протягом 20 хвилин. Після закінчення додавання боргідриду продовжують перемішування протягом 2 годин при 20-25°C. Розчинник видаляють за допомогою роторного випарника, залишок переносять у 100 мл насиченого розчину натрію хлориду. Проводять екстрагування, використовуючи

етилацетат як екстрагент, органічну фазу обробляють Na_2SO_4 . Упарюють, одержуючи 4-гідроксиметил-1-(2-метил)-бензилпірролідін-2-он 3.5а у вигляді білих твердої речовини.

Стадія 4. До розчину 4-гідроксиметил-1-(2-метил)-бензилпірролідін-2-ону 3.5а (0,042 моль), розчиненого в 50 мл хлористого метилену CH_2Cl_2 додають безводний тріетиламін (6,35 г, 0,063 моль) і додають розчин мезилатхлориду в 10 мл хлористого метилену (0,046 моль). Реакцію проводять при перемішуванні протягом 1 години при температурі 0 °С. Проходження реакції контролюють методом ТШХ. Після завершення реакції CH_2Cl_2 промивають насиченим розчином солі кілька разів. Потім CH_2Cl_2 шар сушать над Na_2SO_4 і концентрують при зниженому тиску, отримуючи технічний продукт 4-метансульфонілметил-1-(2-метил)-бензилпірролідін-2-он 3.6а, який використовують для наступної стадії без подальшого очищення.

Стадія 5. До суспензії азиду натрію (0,066 моль) у мінімальній кількості ДМФА додають (0,033 моль) 4-метансульфонілметил-1-(2-метил)-бензилпірролідін-2-ону 3.6а. Нагрівають до температури 70-80°C при перемішуванні протягом 4 годин. Реакцію контролюють за допомогою ТШХ. Після проходження реакції розчин розбавляють водою і екстрагують продукт CH_2Cl_2 . Хлористий метилен випарюють. Отриманий азид 3.7а очищають хроматографуванням на силікагелі (елюент - етилацетат).

Стадія 6. Азид 3.7а (0,029 моль) розчиняють у сухому ТГФ. Додають трифенілфосфін (0,034 моль) при невеликому охолодженні (10-15°C). Реакції проводять при кімнатній температурі 3 години, контролюючи проходження ТШХ. Після проходження реакції розчинник упарюють, одержаний продукт розбавляють 5% водним HCl , екстрагують хлороформом домішки. Упарюють розчин HCl на роторі, отримують чистий гідрохлорид 4-(амінометил)-1-(2-метил)-бензилпірролідін-2-он 3.8а.

Сполуки 8(b-r) одержують аналогічно.

Методика синтезу 4-(амінометил)-1-[(2-метил)бензил]піролідин-2-ону гідрохлориду 3.8a (Спосіб 2)

Стадія 1. Перша стадія синтезу направлена на одержання 1-(2-метил)-бензил-5-оксопіролідин-3-карбонової кислоти 3.3a шляхом взаємодії розчинів ітаконової кислоти 3.1 та 2-метилбензиламу 3.2a в толуолі кип'ятінням впродовж 5-6 годин з насадкою Діна-Старка до видалення еквімолярної кількості води. Суміші залишають застигати при перемішуванні протягом 4 годин. Осад, що випав, відфільтровують, промивають невеликою кількістю толуолу і сушать на повітрі.

Стадія 2. До 30% розчину кислоти 3.3a у діоксані додають порціями CDI (1.1 екв.). Реакційну суміш перемішують 3 години при кімнатній температурі і додають в один прийом аміачну воду (10 екв. в перерахунку на чистий аміак) у вигляді 50% розчину в діоксані. Суміші перемішують 5 годин, діоксан відганяють на роторному випарнику, залишки розбавляють водою і підкислюють 0.1 М розчином хлористоводневої кислоти до pH=5-6. Осад, що випав, відфільтровують і сушать на повітрі, отримують амід 3.9a у вигляді бежевих кристалів.

Стадія 3. До суспензії амиду 3.9a в піридині (6 екв.) при охолодженні додають тіонілхлорид (2.5 екв.). Реакційну масу перемішують 12 годин і виливають у лід, додають хлористий метилен, отриману суміш пропускають через целіт. Органічний шар відокремлюють, водний екстрагують хлористим метиленом. Об'єднані органічні екстракти промивають 0.1 М розчином хлористоводневої кислоти, потім сушать над сульфатом натрію, концентрують і наносять на колонку з силікагелем для флеш-хроматографії (елюенти - етилацетат:гексан 6:4). Фракції, що містять цільову речовину, об'єднують і упарюють, отримуючи цільовий нітрил 3.10a.

Стадія 4. До 30% розчину нітрилу 3.10a в метанолі додають аміачну воду (5 еквівалентів у перерахунку на чистий аміак), нікель Ренея (5-7% ваг.). Отриману суміш гідрують під тиском водню (1.1-1.3 атмосфери) і при інтенсивному перемішуванні протягом 10-12 годин. Після закінчення процесу

суміш фільтрують через целіт і концентрують. Отримані залишки кілька разів повторно упарюють з толуолом, отримуючи 4-(амінометил)-1-(2-метил)-бензилпіролідін-2-он у вигляді коричневого масла. Продукт розбавляють 5% водним HCl, хлороформом екстрагують домішки, потім упарюють розчин HCl на роторі, одержують чистий гідрохлорид 4-(амінометил)-1-(2-метил)-бензилпіролідін-2-он 3.8a.

Оптимізована методика синтезу способу 2.

Методика синтезу 4-(амінометил)-1-[(2-метил)бензил]піролідін-2-ону гідрохлориду 3.8a

Стадії 1-2. Проводяться аналогічно Стадіям 1-2 способу 2, час нагрівання реакційних сумішей збільшується до 10 годин.

Стадія 3. Проводиться аналогічно Стадії 3 способу 2.

Стадія 4. Проводиться аналогічно Стадії 4 способу 2. Тиск водню підвищується до 1,5 атмосфери.

Сполуки 3.8(b-r) одержують аналогічно.

Методика синтезу 1-бензил-4-[4-(нафтален-1-іл)-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл]піролідін-2-ону 3.16a

До ітаконової кислоти 3.1 (0,01 моль) додають бензиламін 3.11 (0,01 моль) у диметилформаміді при нагріванні до 180-200°C протягом 5 годин. Отриманий осад промивають етанолом і фільтрують. Далі до отриманої 1-бензил-5-оксопіролідін-3-карбонової кислоти 3.12 додають карбонілдімідазол (CDI) (0,011 моль) у діоксані, а потім гідразингідрат в еквімолярному співвідношенні. Реакційну суміш перемішують при нагріванні до 80°C протягом 5 годин. Осад, що утворився, відфільтровують, сушать і кристалізували з етанолу. До 1-бензил-5-оксопіролідін-3-карбогідразиду 3.13 (0,01 моль) в 50 мл метанолу при перемішуванні додають 0,01 моль 1-ізотіюціанатонафталену 3.14a. Реакційну суміш нагрівають до 60°C протягом 4 годин. Потім реакційну суміш охолоджують, додають 100 мл води, осад, що утворився, відфільтровують і сушать. Отриманий проміжний продукт 3.15a розчиняють у воді, нагрівають до розчинення та додають (0,15 моль) гідроксиду

натрію при нагріванні до 100°C протягом 3 годин. Потім залишають охолоджуватися до кімнатної температури, після охолодження підкисляють суміш соляною кислотою до $\text{pH} = 6,5-7$. Отриманий осад 1-бензил-4-[4-(нафтален-1-іл)-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл]піролідін-2-ону 3.16а відфільтровують і сушать. Кристалізацію проводять з пропанолу-2.

Сполуки 3.16(b-q) одержують аналогічно.

*Методика синтезу 2-[3-(1-бензил-5-оксопіролідін-3-іл)-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-4-іл]ацетаміду 3.21а*

Методики синтезу перших двох стадій аналогічні методикам одержання 1-бензил-4-[4-(нафтален-1-іл)-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл]піролідін-2-ону 3.16а, які полягають в утворенні 1-бензил-5-оксопіролідін-3-карбонової кислоти 3.12 та відповідного гідразиду 3.13.

До 1-бензил-5-оксопіролідін-3-карбогідразиду 3.13 (0,01 моль) в 50 мл метанолу при перемішуванні додають 0,01 моль 2-ізотіаціанату оцтової кислоти 3.17. Реакційну суміш нагрівають до 60°C протягом 4 годин. Потім реакційну суміш охолоджують, додають 100 мл води, осад, що утворився, відфільтровують і сушать. Отриманий проміжний тіосемикарбазид 3.18 нагрівають до розчинення та додають (0,15 моль) гідроксиду натрію при нагріванні до 100°C протягом 3 годин. Потім охолоджують до кімнатної температури, після охолодження підкисляють суміш соляною кислотою до $\text{pH} = 6,5-7$. Отриману 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідін-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтову кислоту 3.19 відфільтровують і сушать. До 30% розчину кислоти 3.19 у діоксані додають порціями CDI (1.1 екв.). Реакційну суміш перемішують 3 години при кімнатній температурі і додають в один прийом аміачну воду (10 екв. в перерахунку на чистий аміак) у вигляді 50% розчину в діоксані. Суміші перемішують 5 годин, діоксан відганяють на роторному випарнику, залишки розбавляють водою і підкислюють 0.1 М розчином хлористоводневої кислоти до $\text{pH}=5-6$. Осад, що випав, відфільтровують і сушать на повітрі. Кристалізацію проводять з пропанолу-2.

Сполуки 3.21(b-j) одержують аналогічно.

Висновки до розділу 3

1. Теоретично обґрунтовано вибір перспективного об'єкта синтетичних досліджень *1-бензил-4-R-піролідін-2-ону*, визначені оптимальні напрямки його хімічної модифікації;
2. З метою виявлення нових біологічно активних речовин ноотропної дії розроблено декілька альтернативних шляхів одержання та здійснено синтез заміщених 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідін-2-онів;
3. Запропонована препаративна методика одержання заміщених 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідін-2-онів, яка відрізняється екологічністю, підвищеною ефективністю та простотою практичного виконання;
4. Розроблено препаративні методики та синтезовано похідні 1-бензил-4-(4-R-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідін-2-ону;
5. Досліджено умови одержання 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідін-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти та розроблено препаративні методики її амідування;
6. Досліджено спектральні характеристики синтезованих речовин, внаслідок чого за характером ^1H , ^{13}C ЯМР спектрів та даних хромато-мас-спектрометрії доведено будову 45 неописаних в літературі синтезованих речовин та підтверджено повноту перебігу реакції.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Semenets A. P., Suleiman M. M., Fedosov A. I., Shtrygol S. Yu., Havrylov Ih. O., Mishchenko M. V., Kovalenko S. M., Georgiyants V. A., Perekhoda L. O. Synthesis, docking, and biological evaluation of novel 1-benzyl-4-(4-(R)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl)pyrrolidin-2-ones as potential nootropic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2022. 244. P. 114823. doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114823 (Scopus, quartile 1).

(Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, обробка й узагальнення результатів, участь у написанні статті).

2. Перехода Л. О., Семенець А. П., Сулейман М. М., Георгіянц В. А., Коваленко С. М., Штриголь С. Ю., Федосов А. І., Яременко В. Д. 1-Бензил-4-{4-[2-оксо-2-(піперидин-1-іл)етил]-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл}піролідін-2-он, що виявляє ноотропну активність: пат. на корисну модель № 153961 України: МПК C07D 207/26, C07D 249/08, C07D 281/10, C07D 291/04, C07D 295/00, A61P 25/28. № у 2022 04591; заявл. 05.12.2022; опубл. 28.09.2023, Бюл. № 39. (Особистий внесок – патентний пошук, одержання лікарської субстанції та оформлення патенту)
3. Семенець А.П., Маріуца І.О., Сулейман М.М., Георгіянц В.А., Коваленко С.М., Перехода Л.О. Цілеспрямований пошук нових ноотропних агентів в ряду похідних піролідін-2-ону. *«Ліки – людині»: сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: Матеріали IV міжнар. наук.-практ. конф., 12-13 березня 2020 р., м. Харків., Т. 2. 2020. С. 499-501.
4. Семенець А. П., Сулейман М. М., Маріуца І. О., Ющенко А. М., Коваленко С. М., Перехода Л. О. Синтез, будови та фізико-хімічні властивості похідних 4-R-1-бензилпіролідін-2-ону. *Управління якістю в фармації*: Матеріали XIV міжнар. наук.-практ. конф., 22 травня 2020 р., м. Харків., 2020. С. 165.
5. Zaari M. Yu, Sych I. V., Semenets A. P., Suleiman M. M., Perekhoda L. O Synthesis of new 2,5-disubstituted 1,3,4-thiadiazole derivatives which contain 1,2,4-triazole fragment. *Topical issues of new medicines development*: Матеріали XXVII міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, 8-10 квітня 2020 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2020. С. 26-27.
6. Semenets A., Suleiman M., Kobzar N., Grinevich L., Georgiyants V., Kovalenko S., Perekhoda L. Search for new neurotropic agents in a series of alkyl derivatives 1-benzyl-4-[5-(R-sulphonyl)-4-R1-4,5-dihydro-1H-1,2,4-

triazol-3-yl]-2-one. *Results of modern scientific research and development: Матеріали II міжнар. наук.-практ. конф., 2-4 травня 2021 р., м. Мадрид, 2021. С. 109-112.*

7. Semenets A., Suleiman M., Grinevich L., Kobzar N., Kovalenko S., Georgiyants V., Perekhoda L. Synthesis and prediction of nootropic activity of substituted 4-(aminomethyl)-1-benzylpyrrolidin-2-ones. *«100 years of success and quality», dedicated to the 100th anniversary of Pharmaceutical Chemistry Department of the National University of Pharmacy: Матеріали міжнар. наук.-практ. симп., 18 жовтня 2021 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2021. С. 35-36.*
8. Semenets A., Suleiman M., Perekhoda L. Synthesis and docking studies of new 1-benzyl-4-(4-(R)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl)pyrrolidin-2-ones as potential nootropic agents. *Competition work of «100 years of success and quality», dedicated to the 100th anniversary of Pharmaceutical Chemistry Department of the National University of Pharmacy: Матеріали міжнар. наук.-практ. симп., 18 жовтня 2021 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2021. С. 12-15.*
9. Семенець А. П., Сулейман М. М., Коваленко С. М., Георгіянц В. А., Перехода Л.О. Синтез та докінгові дослідження ноотропної дії похідних амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-пірролідін-3-іл)-5-тіоксо-1H-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти. *Modern chemistry of medicines: Матеріали міжнар. internet-конф., 18 травня 2023 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2023. С. 220-221*

РОЗДІЛ 4

***IN SILICO* ТА *IN VIVO* ДОСЛІДЖЕННЯ НООТРОПНОЇ АКТИВНОСТІ ТА ТОКСИЧНОСТІ СИНТЕЗОВАНИХ СПОЛУК В РЯДУ ПОХІДНИХ 4-R-1-БЕНЗИЛПРОЛІДИН-2-ОНУ**

Доекспериментальне дослідження потенціалу нових сполук з метою встановлення перспектив проведення фармакологічного вивчення їх ноотропної активності проводили з використанням методів *in silico*, а саме, докінгових досліджень, прогнозування токсичності та фармакокінетичного профілю.

4.1 Обґрунтування вибору мішеней для докінгових досліджень: організатор кристалографічних моделей

Отримані дані літературних джерел свідчать, що механізми дії рацетамів залишаються остаточно не з'ясованими (огляд літератури). Терапевтичний ефект при відсутності встановленого на сьогодні загального молекулярного механізму дії робить актуальним виявлення загальних для всіх ноотропних засобів рецепторів та синаптичних процесів, за допомогою яких вони проявляють модулюючий вплив на когнітивні функції. Виявлення таких закономірностей сприятиме оптимізації проведення експериментальних досліджень, фармакотерапії існуючих препаратів та розробці нових високо ефективних ноотропних агентів за рахунок встановлення рекомендацій до раціонального дизайну «лікоподібних» молекул.

Загально прийнятим механізмом дії Пірацетаму та пірацетамоподібних засобів є участь у диференціальних ефектах на підтипи глутаматних рецепторів, що призводить до активації надходження кальцію до нейрональних клітин та можливості впливати на ацетилхолінові мішені, що призводить до посилення холінергічних функцій гіпокампу [94, 95]. Таким чином, рацетамові ноотропи здатні: запобігати віковим зниженням кількості N-метил-D-аспартату

(іонотропного рецептора); впливати на холінергічні рецептори на мембранах нейронів [96].

З метою оптимізації вибору біологічної мішені нами був створений органайзер кристалографічних моделей ноотропних мішеней з Protein data bank. Вибір оптимальних моделей рецептору N-метил-D-аспартату та ацетилхолінових рецепторів був заснований на специфіці архітектури даних мішеней та наявності в базі Protein data bank співкристалізованих лігандів, які заздалегідь передбачають домени майбутнього стикування. Обрані мішені для докінгових досліджень є складними механізмами з наявністю як активного сайту, так і багатоцентрної алостеричної модуляції, тому вже відомі підходи стикування в активний сайт мали би упереджені результати. У зв'язку з цим, нами були проаналізовані та узагальнені всі ланки, які впливають на нейротрансмісію з метою доцільності вибору відповідних доменів рецепторів для зв'язування їх сайтів з синтезованими речовинами.

Іонотропний рецептор глутамату бере участь у селективному зв'язуванні N-метил-D-аспартату (NMDA) і є гетеротетрамером з двох типів субодиниць, NR1 і NR2. Позаклітинна частина рецептора містить сайти зв'язування різних модуляторів та агоністів. Тут у субодиниць NR2 розташований сайт зв'язування глутамату, аспартату або N-метил-D-аспартату та алостеричні центри, а у субодиниць NR1 – сайт зв'язування коагоніста – гліцину або серину. Активація цих центрів викликає відкриття іонного каналу, що веде до притоку в клітину іонів Na^+ та Ca^{2+} . Канал відкриється лише в тому випадку, якщо постсинаптична клітина деполяризується в той же час, коли глутамат потрапляє в синапс. В свою чергу, йони, що потрапили до клітини, активують білкову кіназу, яка бере участь у фосфорилуванні ряду білків нейронів. Цей процес відіграє важливу роль в синаптичній пластичності, а отже в процесах навчання та пам'яті [97-101]. Схема рецептора NMDA наведена на рис. 4.1.

При пошуку кристалографічної моделі для дослідження було знайдено повідомлення про структуру пептиду GluN1-GluN2B NMDA (PDB ID: 5IOV)

(рис. 4.2) в композиції конкурентних станів, пов'язаних з антагоністами, агоністами, і стану, пов'язаного з алостеричним інгібітором Ro25-6981 [102].

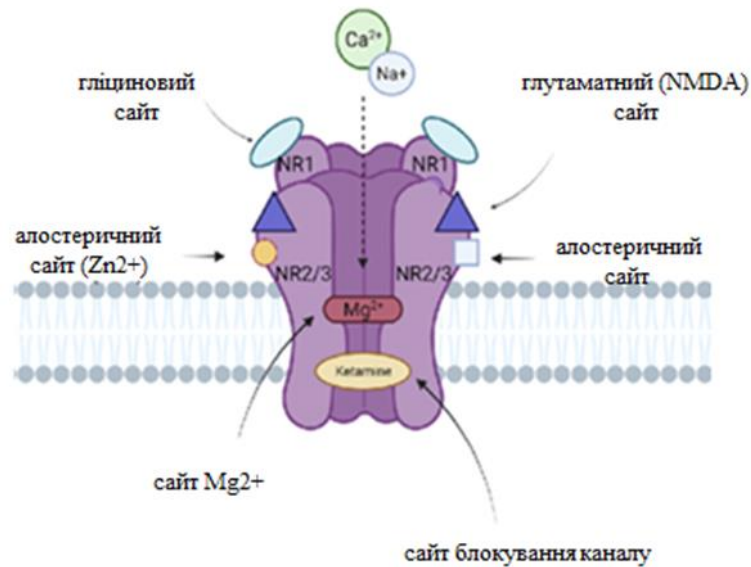


Рис. 4.1 Схема рецептора NMDA

Разом з експериментами з подвійним електронно-електронним резонансом встановлено, що конкурентні антагоністи розривають «кільце» ліганд-зв'язуючого домену (LBD), а агоністи зберігають кільце в конфігурації димер-3-димерів так, як і алостеричні інгібітори, діючи в амінокінцевий домен і додатково стабілізуючи рівень LBD. Вказана модель в дослідженнях показала, наскільки кільце виділення сигналу LBD є фундаментальним для його передачі в NMDAR [102].

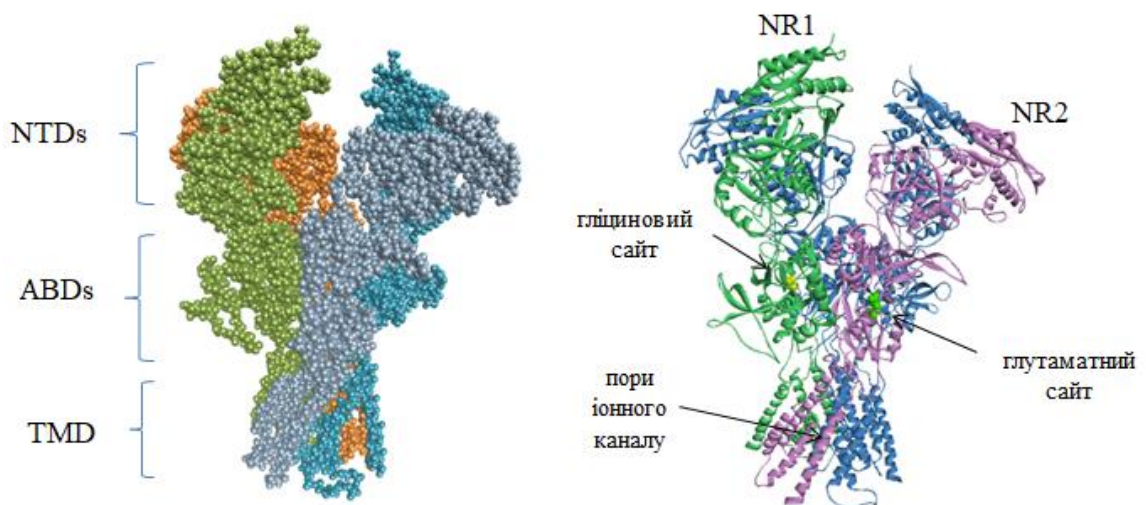


Рис. 4.2 Рентгенівська структура гетеротетрамерного рецептора GluN1/GluN2B (PDB: 5IOV): дві субодиниці GluN1 представлені зеленим і синім

кольором, а субодиниці GluN2B – оранжєвим та бузковим. Рецептор має багат шарову структуру з NTD (N-кінцевого домену) у «верхній частині», агоніст-зв'язуючого домену (ABD), що зв'язує гліцин (або D-серин) у NR1 і глутамат у NR2, і трансмембранний домен (TMD), який містить пори іонного каналу.

Існують три можливі реакції на деполяризацію постсинаптичних клітин, які включають короточасне і тривале потенціювання та ексайтотоксичність. Невелика деполяризація лише частково витісняє магній, дозволяючи невеликій кількості іонів кальцію проникнути в клітину. В свою чергу останні відіграють роль вторинних месенджерів для тимчасового залучення до клітин більшості глутаматних рецепторів, що підвищує ймовірність майбутньої деполяризації (короточасне потенціювання). Велика деполяризація повністю витісняє блокуючий йон, що дозволить великому об'єму кальцію потрапити в клітину. Існує припущення, що такий ефект деполяризації лежить в основі довготривалої потенціації і є механізмом синаптичної пластичності. Надзвичайно тривала деполяризація призводить до ексайтотоксичності за рахунок нерегульованого надходження кальцію в клітину [103]. Таке надмірне перезавантаження нейронів може призвести до активації кальпаїну, утворення активних форм кисню, пошкодження мітохондрій, запалення, що спричиняє загибель нейронів шляхом некрозу чи апоптозу [104].

З метою уникнення неконтрольованої деполяризації новими молекулами слід уникати прямого агоністичного впливу на головні центри лігандів за допомогою алостеричної модуляції.

Відомо, що алостеричні центри NMDA-рецептора мають локацію в N-кінцевих доменах (NTD) з переважним залученням субодиниці NR2, хоча існують алостеричні сайти, які знаходяться на її межі з субодиницею NR1 [105-107]. В цій частині знаходиться модулюючий сайт, що забезпечує позитивну алостеричну модуляцію і зв'язує спермін і спермідин, ендогенні поліаміни, а також іон Mg^{2+} (рис. 4.3). Хоча структурні деталі все ще відсутні, спермін, ймовірно, зв'язує інтерфейс між NTD GluN1 (NR1) і GluN2B (NR2) [107].

Вважається, що поліамін діє шляхом екранування кластерів негативних зарядів, присутніх на нижніх частках двох субодиниць NTD. Таким чином, спермін діє як «молекулярний клей», перетворюючи електростатичне відштовхування двох нижніх часток NTD у тяжіння. Кишеня для зв'язування цинку розташована на краю міждолькової щілини NR2 NTD (рис. 4.3). Два ключових залишки, NR2 His127 у верхній частці та Glu284 на міжчастковому шарнірі, безпосередньо координують іон цинку, тоді як залишки з локацією через щілину, ймовірно, взаємодіють з двовалентним іоном через проміжні молекули води [107]. Ці структурні дані узгоджуються з функціональним прогнозом, що зв'язування цинку стабілізує конформацію із закритою щілиною GluN2B (NR2) NTD. Гетеродимерна структура GluN1/GluN2B NTD у комплексі з іфенпродилем (або похідним Ro25-6981) виявила, що сайт зв'язування іфенпродилу не є лише вбудованим у NR2 NTD, як було запропоновано спочатку, а знаходиться на межі розділу між двома сусідніми доменами (рис. 4.3) і взаємодіє з верхніми частками NTD NR1 і NR2. Крім того, іфенпроділ контактує з нижньою часткою NR2 NTD, таким чином стабілізуючи NTD у конфігурації із закритою щілиною, подібно до цинку [107].

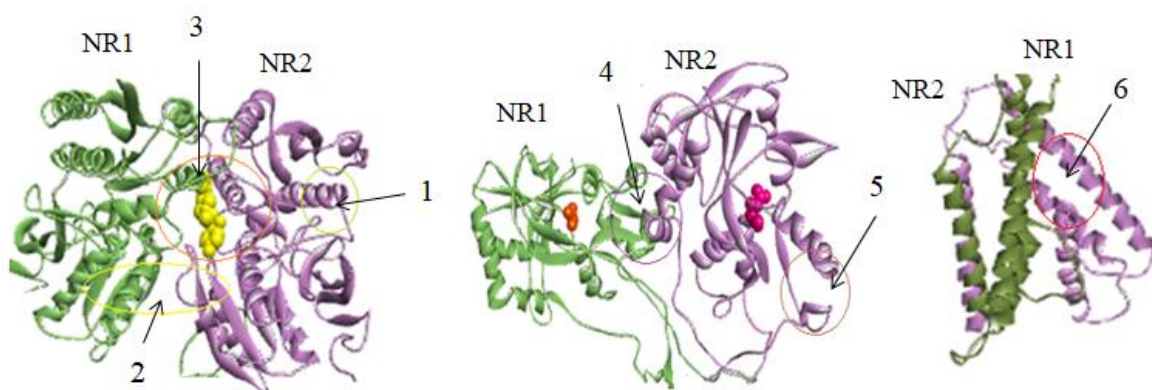


Рис. 4.3 Візуалізація N-кінцевого (ліва панель), агоніст-зв'язуючого (центральна панель) трансмембранного (права панель) доменів субодиниць NR1 і NR2 NMDA-рецептора: 1 – цинковий сайт; 2 – сайт позитивних алостеричних модуляторів (спермін, спермідин, поліаміни); 3 – сайт інгібітора

Ro25-6981; 4, 5 – сайти негативних алостеричних модуляторів похідних TCN і UBP, QNZ і DQP; 6 - сайт позитивних алостеричних модуляторів PS і CIQ

До недавнього часу алостерична модуляція була, в основному, обмежена областю N-кінцевого домену. Справжнім проривом в науці виявилось відкриття нових сайтів для нещодавно синтезованих негативних алостеричних модуляторів (похідні бензолсульфонамідів TCN, похідні нафтоїнової та фенантроєвої кислоти UBP, похідні хіназолін-4-онів QNZ і DQP) агоніст-зв'язуючого домену (ABD) [107]. Як виявилось, нові синтезовані похідні мали вражаючу вибірковість дії на рецептори GluN2A (TCN), GluN2C (UBP, DQP) і GluN2D (UBP, QNZ) (рис. 4.3). Таке відкриття надає нові можливості для ідентифікації нових алостеричних сайтів саме цього домену, особливо коли невідомі механізми дії певної групи речовин на рецептор NMDAR, як, наприклад, рацетамової групи ноотропів. Цікаво, що роль ABD субодиниці NR1, яка містить не менш важливий за глутамат гліцин ґрунтовно не досліджена, що привернуло нашу увагу з метою вивчення впливу дії нових молекул в якості можливих алостеричних модуляторів гліцинового центру. Алостеричний потенціал трансмембранного внутрішньоклітинного домену (TMD) є ґрунтовно не дослідженим. Наразі існують тільки дві сполуки, які потенційно можуть зв'язуватись на ділянці TMD NMDAR, це прегненолон сульфат (PS), ендогенний нейростероїд, і нещодавно ідентифікований тетрагідроізохінолін CIQ [107]. Обидва діють як позитивні алостеричні модулятори з чіткою селективністю до субодиниць (рис 4.3.). Враховуючи весь можливий алостеричний потенціал NMDAR для молекулярної стиковки нових молекул були задіяні дві субодиниці NR1 і NR2 з залученням всіх інтрефейсів доменів рецептора.

Ацетилхолінові рецептори – трансмембранні рецептори з ендогенним лігандом – агоністом ацетилхоліном, який, в свою чергу, служить нейротрансмітером в гангліонарних синапсах парасимпатичної та симпатичної системи, нервово-м'язових синапсах, а також в деяких ділянках ЦНС [108]. Як

мускаринові, так і нікотиніві рецептори існують у різних підтипах, що обумовлює численні способи фармакологічної зміни холінергічної передачі.

Нікотиніві ацетилхолінові рецептори, або nAChR, являють собою складні пентамерні іонні канали, які беруть участь у хімічній нейротрансмісії [109, 110]. Вони знаходяться переважно у центральній і периферичній нервовій системі і мають високу спорідненість до ацетилхоліну і нікотину. Активація nAChR призводить до чітких моделей сигналізації Ca^{2+} , які можуть забезпечити ширший контроль синаптичної пластичності та вивільнення нейромедіаторів [111] (рис. 4.4).

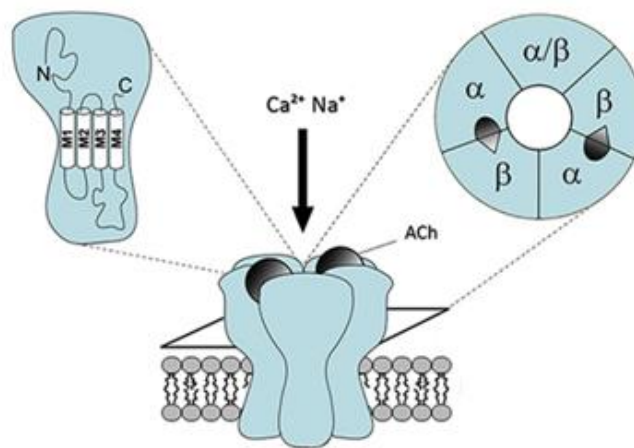


Рис. 4.4 Структура нікотинівих рецепторів нейрону.

Зліва) Діаграма, що показує топографію розташування субодиниць nAChR.

Середня) Розташування субодиниць nAChR у зібраному рецепторі.

Справа) Локалізація та організація сайтів зв'язування ACh у гетеромерному рецепторі.

Терапевтично значуща роль підтипів nAChR із різноманітністю комбінацій, біофізичними властивостями та моделями експресії є серйозною проблемою для раціонального відкриття ліків та дизайну для цієї родини рецепторів [112]. Це вимагає ретельного розуміння молекулярних і структурних механізмів, що керують селективністю підтипу nAChR, щоб сприяти успішним терапевтичним стратегіям нейрональних захворювань, пов'язаних з цією мішенню.

Підтип нікотинового рецептора $\alpha 3\beta 4$ утворює головний ретранслятор між центральною та периферичною нервовими системами у вегетативних гангліях. Цей рецептор також міститься у великій кількості в хабенуло-інтерпедункулярному тракті [113], який модулює мезолімбічну систему дофаміну, головного шляху винагороди в головному мозку, що призводить до покращення навчання та поведінки [114]. Тому для докінгових досліджень нами обрана кристалографічна модель саме цього підтипу нікотинового рецептора $\alpha 3\beta 4$ (PDB ID: 6PV7) в комплексі з ніотином (рис. 4.5).

Архітектура моделі нікотинового рецептора $\alpha 3\beta 4$ представлена у ліпідному та детергентному середовищах з використанням функціонального відновлення для визначення ліпідів, придатних для структурного аналізу та містила холестерилгемісукцинат (CHS), моноклональні антитіла для одержання комплексу рецептор-Fab (рецептор-антигензв'язуючий домен). Структура рецептора в комплексі з ніотином, доповнена молекулярною динамікою і пропонує принцип селективності агоністів. Будова внутрішньоклітинної ділянки встановлена відповідними залишками, які регулюють іонну провідність [115].

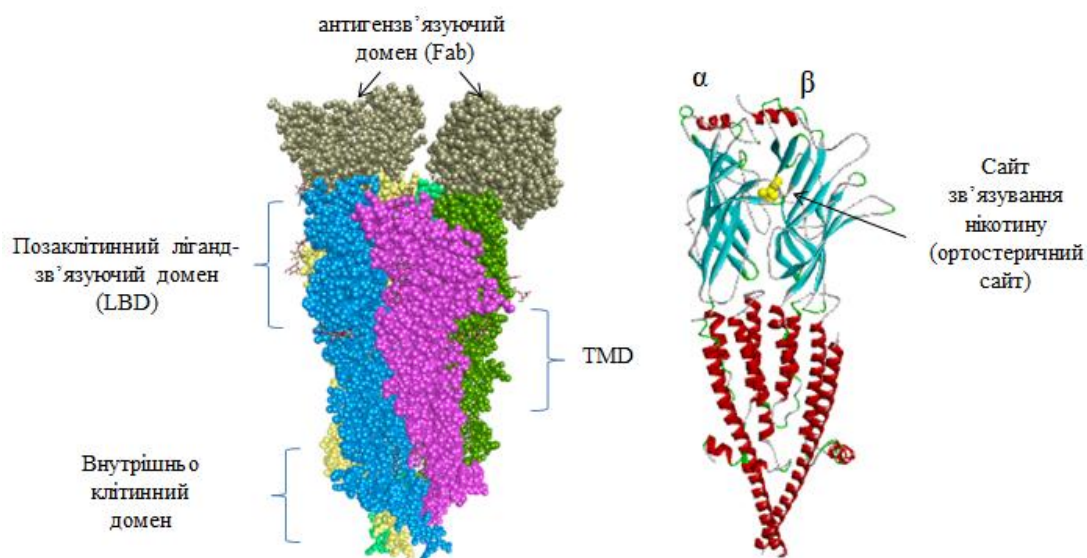


Рис. 4.5 Рентгенівська структура підтипу нікотинового рецептора (nAChR) $\alpha 3\beta 4$ (PDB ID: 6PV7). Вигляд з боку nAChR, паралельно клітинній мембрані, показуючи позаклітинні, трансмембранні, внутрішньоклітинні (α –

жовтий, фіолетовий колір; β – синій, зелений і блакитний колір), антигензв'язуючі (сірий колір) домени. Димер двох субодиниць, що показує сайт зв'язування нікотину, забарвлений у жовтий колір.

Карман зв'язування ліганду для агоністів/антагоністів у nAChRs знаходиться на межі між двома сусідніми субодиницями, причому одна субодиниця є основною стороною, а інша – комплементарною (рис. 4.6). Зв'язування ліганду стимулює різні функціональні стани nAChR через конформаційні зміни, викликані відносним рухом п'яти субодиниць одна до одної. Встановлено, що ортостерична кишеня вистелена бічними ланцюгами амінокислот з основних ділянок, що включають залишки Trp147 і Trp 149, Tyr55 або Tyr93 і меншою мірою Tyr195. Основний сайт зв'язування оточений двома сусідніми залишками Cys192 і Cys193, які поєднані дисульфідним містком. Окремий зовнішньоклітинний домен на α -субодиниці, розташований в районі залишку Lys125 на відстані близько 10 Å від сайту зв'язування ацетилхоліну і є сайтом зв'язування більшості класичних агоністів. В свою чергу алостерична модуляція передбачає, що зміна внутрішньої рівноваги між дискретними конформаційними станами може спричинити конститутивну активацію/інактивацію рецептора [116, 117]. Альтернативою посилення нікотинових функцій у мозку є сенсibiliзація nAChR до активації ендogenousним лігандом за допомогою так званих нікотинових алостеричних потенціюючих лігандів (модуляторів). Існує твердження, що їх сайти мають деякі спільні елементи з класичними агоністами, але фактично відрізняються від них в nAChR. Також було припущено, що диполі, які виникають в залишках сайту можуть бути посилені аніонним бічним ланцюгом залишку Asp-89 [117]. Сполучні ефектори (модулятори), що беруть участь у регуляції відкриття каналу, розподіляються також на інтерфейсах між позаклітинним та трансмембранним доменами ECD-TMD. Наразі відомий сайт позитивної алостеричної модуляції позаклітинного домену розташований на інтерфейсах субодиниць, нижче ортостеричного сайту поблизу трансмембранного домену

TMD, який також містить алостеричні порожнини позитивної/негативної модуляції [118] (рис. 4.6).

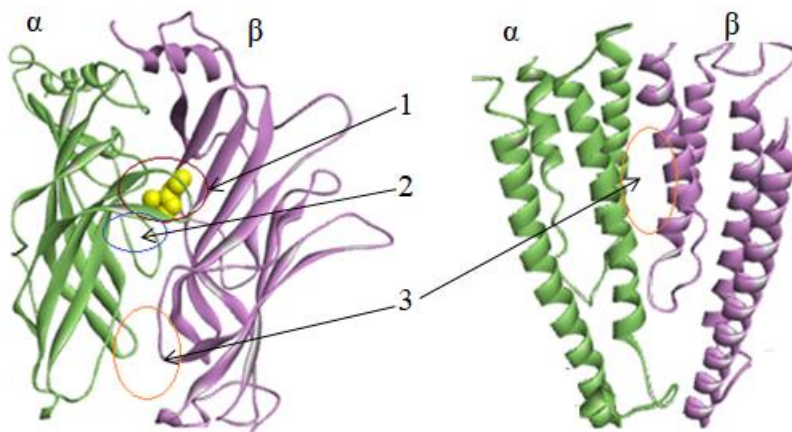


Рис. 4.6 Візуалізація позаклітинного (ліва панель) і трансмембранного (права панель) доменів компленарних субодиниць α і β nAChR: 1 – сайт класичних агоністів/антагоністів; 2 – сайт неконкурентних агоністів/алостеричних потенціаторів (модуляторів); 3 – сайти алостеричних модуляторів

Таким чином, агоністи, зв'язані в ортостеричному місці nAChR, спочатку стабілізують відкритий стан, а пізніше десенсибілізований закритий стан, тоді як ефектори, зв'язані на алостеричній ділянці, можуть змінювати енергетичні бар'єри між переходами, що зміщує рівновагу між станами. Такий багатогранний вплив на активацію рецептора є пріоритетним в пошуку нових кандидатів у ліки, які б мали можливу агоністичну дію, або виконували б роль потенційних алостеричних модуляторів. Алостерична модуляція нікотинного рецептора ще потребує ґрунтовних наукових досліджень, тому для молекулярної стиковки нами були задіяні інтерфейси всіх доменів.

Мускаринові ацетилхолінові рецептори – це G-білкові рецептори, які існують у вигляді п'яти молекулярно відмінних підтипів M_1 - M_5 . Кожен із п'яти підтипів поділений на два основні функціональні класи на основі сполучення G-білка. M_1 , M_3 і M_5 вибірково з'єднуються з G-білками типу Gq/G11, що призводить до утворення інозитол-1,4,5-трифосфату та 1,2-діацилгліцерину через активацію специфічної фосфоліпази-С β та подальшого підвищення рівня

внутрішньоклітинного кальцію. M_2 і M_4 переважно активують G-білки типу G_i/G_o , що призводить до інгібування аденілатциклази та подовження відкриття калієвих, неселективних катіонних і транзиторних рецепторних потенційних каналів (рис. 4.7) [119].

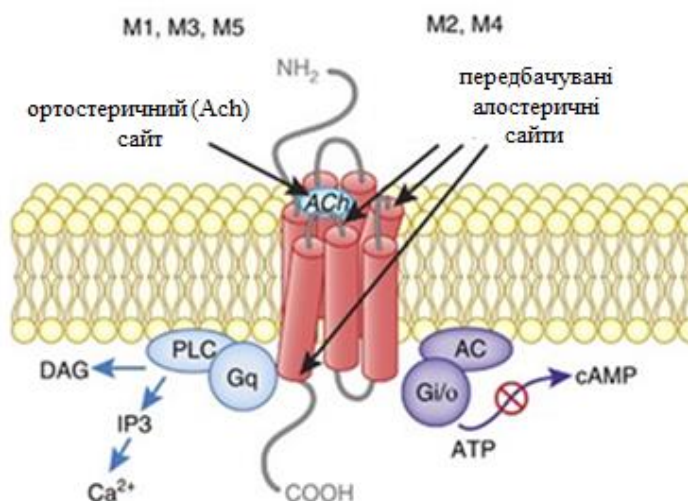


Рис. 4.7 Структура та сигнальні шляхи мускаринового ацетилхолінового рецептора mAChR

Відомо, що підтип M_1 присутній у корі головного мозку, гіпокампі та в усьому мозку. Мускаринові рецептори в цих місцях відіграють певну роль у когнітивному функціонуванні [120]. Тому для проведення молекулярного докінгу нами обрана кристалографічна модель мускаринового рецептора цього підтипу (PDB ID: 5CXV), співкристалізована із зворотним агоністом Тіотропієм (рис. 4.8). При порівнянні кристалічних структур мускаринових рецепторів M_1 і M_4 , зв'язаних із зворотним агоністом, з раніше повідомленими структурами рецепторів M_2 і M_3 , були виявлені певні відмінності в ортостеричних і алостеричних сайтах зв'язування, які сприяють селективності лікарських засобів у цьому важливому сімействі рецепторів. Також було ідентифіковано кластери залишків, які утворюють мережу, що з'єднує ортостеричні та алостеричні сайти цих рецепторів [121].

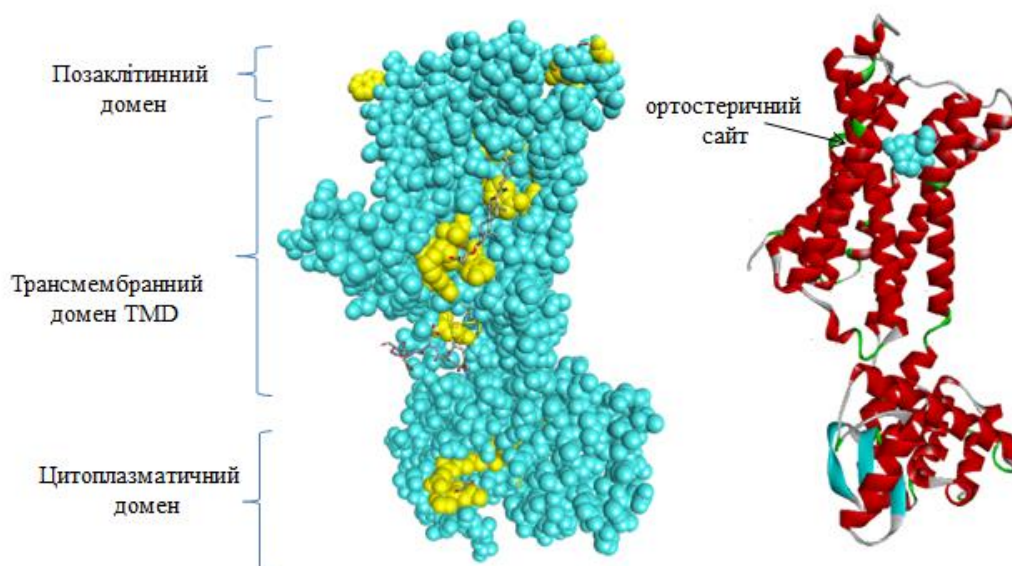


Рис. 4.8 Рентгенівська структура підтипу M1 мускаринового рецептора mAChR (PDB ID: 5CXV). Вигляд з боку mAChR, паралельно клітинній мембрані, показуючий позаклітинний, трансмембранний та цитоплазматичний домени (жовтим кольором позначені активний і алостеричні центри кожного з доменів). Субодиниця M1, що показує сайт зв'язування ліганду (ортостеричний сайт), забарвлена у блакитний колір.

Згідно з результатами фармакологічних досліджень, сайт зв'язування антагоністів перекриває сайт, з яким зв'язується ацетилхолін і на додаток залучає до свого складу гідрофобні ділянки білкової молекули рецептору та навколишньої клітинної мембрани, тому в моделі він позначений як загальний ортостеричний сайт. Незважаючи на те, що ортостеричні центри відіграють важливу роль в активації рецептора, не менш важливою є алостерична модуляція, яка має відповідні домени зв'язування для алостеричних модулаторів. У мускаринових рецепторів це великий позаклітинний вестибюль, який є добре задокументованою ділянкою зв'язування позитивних модулаторів (рис. 4.9) [122]. Скорочення позаклітинного вестибюлю може бути ключовою особливістю активації новими ноотропними молекулами. Алостеричний сайт має унікальну дотичність до ортостеричного центру трансмембранного домену саме через наявність відповідних залишків, які, утворюють «дах» ортостеричного сайту та «підлогу» алостеричного сайту. Утворена мережа

пропонує кращий енергетичний зв'язок між сайтами, але, порівняння розташування бічних ланцюгів між неактивною та активною структурами рецептора показує, що більшість залишків на інтерфейсі трансмембранних пучків, які сприяють кооперативності, за прогнозами, не зазнають помітного руху між станами, тоді як прогнозується, що порівняння залишків, розташованих далі від межі розділу сайтів, значно змінюватиметься між двома станами. Такий інтерфейс утворює частину гідрофобного ядра рецептора і може діяти як шарнір, що опосередковує конформаційні перебудови в позаклітинному вестибюлі. Трансмембранна частина рецептора містить ще один сайт, завдяки якому відбувається алостерична регуляція рецепторної відповіді. В ньому знаходяться залишки із верхніх ділянок відповідних трансмембранних пучків, основна функція яких полягає в регулюванні дисоціації антагоністів ортостеричного сайту зв'язування шляхом уповільнення їх дисоціації [121, 122]. В цитоплазматичному внутрішньоклітинному домені існують також три алостеричні модулюючі сайти (рис. 4.9), які можуть відігравати важливу роль у кластеризації, стабілізації та модуляції рецепторних функцій [123], зокрема через взаємодію з G-білком.

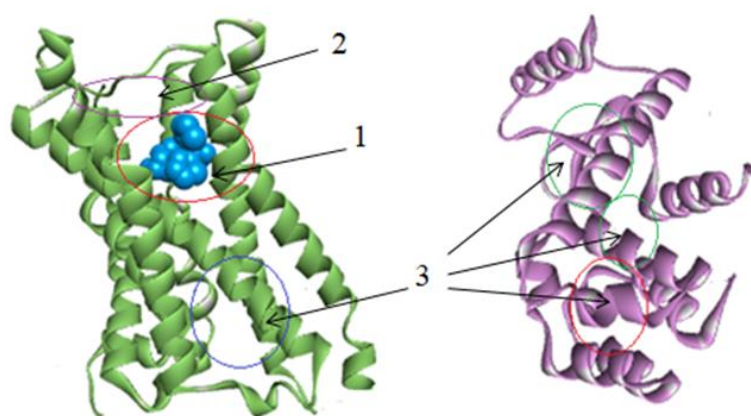


Рис. 4.9 Візуалізація позаклітинного і трансмембранного доменів (ліва панель), цитоплазматичний домен (права панель) mACHR: 1 – сайт класичних агоністів/антагоністів; 2 – позаклітинний вестибюль (сайт позитивних алостеричних модуляторів); 3 – сайти алостеричних модуляторів

Алостеричні модулятори, які взаємодіють із сайтами зв'язування, топологічно відмінними від сайтів зв'язування ортостеричного ліганду, потенційно можуть забезпечити покращену селективність щодо підтипів рецепторів і безпеку разом із збереженням просторових і часових аспектів рецептора. Для молекулярної стиковки будуть задіяні всі інтерфейси рецептора через наявність алостеричних модулюючих сайтів в кожному домені.

Виходячи з механізмів глутаматної та холінергічної нейротрансмісії, особливостей архітектури обраних мішеней нами рекомендований подальший вибір доменів стикування для нових молекул, який заснований на обранні тих ланцюгів пептидів, де наявні ліганд-активні та алостеричні сайти.

4.2 *In silico* дослідження ноотропної активності синтезованих сполук в ряду похідних 4-R-1-бензилпіролідін-2-ону

Метою застосування докінгових досліджень є визначення аффінітету синтезованих сполук до відповідної біологічної мішені та оптимізація експериментального скринінгу шляхом обрання сполук, для яких потенційно спостерігатиметься певний вид активності. В основі цієї методології закладено оптимізацію орієнтованості ліганду для зв'язування з певною біологічною мішенню. Зв'язування ліганду з білком може бути пов'язане з моделлю «ключ-замок», де правильний «ключ» (молекула, що вивчається) містить правильну конформацію, щоб вписатися в «замок» (рецепторний домен) [124]. Однак у фізіологічних умовах і «замок», і «ключ» не є статичними об'єктами. Конформація ліганду змінюється в залежності від сайту зв'язування білка, і аналогічно залишки сайту зв'язування білка пристосовуються до ліганду. Структурні зміни в залишках сайту зв'язування є мінімальною реакцією на ліганд-індуковані зміни в білках, тому що, в багатьох випадках, також можуть відбуватися ліганд-індуковані великомасштабні перебудови доменів. Отже, найкращий протокол стикування має визначати проблему стикування як модель «індукованої відповідності» [125]. Програмне забезпечення Autodock 4.2

враховує гнучкі алгоритми докінгу, що надають важливість конформаційної вибірки лігандів, оскільки в біомолекулах спостерігаються дедалі більше індукованих конформаційних змін.

Застосування методології утворення біомолекулярного комплексу «ліганд-мішень» враховує певну специфічність зв'язування низькомолекулярної хімічної сполуки із відповідною мішенню і буде корисною для аналізу енергій асоціації або енергії зв'язування з використанням спеціальних оціночних значень [126-128], до яких відносяться скорингова функція (*Affinity DG Scoring*), величина вільної енергії зв'язування та константа зв'язування (*EDoc* ккал/моль і *Ki* мкМ (мікромоль)).

Ці функції діють як селектор позиції та дають уявлення про спорідненість зв'язування між двома зістикованими молекулами. Розрахунок цих функцій дає змогу розрізняти речовини, що зв'язуються і не зв'язуються з мішенню, з великої кількості закріплених конформацій, створених за один прогін стикування. Скорингова функція *Affinity dG Scoring* визначає ентальпійний вклад у величину вільної енергії зв'язування.

Вільна енергія зв'язування *EDoc* обчислюється для кращих конформаційних положень ліганду та визначається як сумарна енергія міжмолекулярних взаємодій (водневих зв'язків, донорно-акцепторних та електростатичних взаємодій), кінцева загальна внутрішня енергія та вільна торсійна енергія, за винятком незв'язаної енергії системи.

Константа зв'язування *Ki* мкМ визначає кількість речовини у молярному відношенні, яка необхідна для виникнення стабільного біомолекулярного комплексу.

Обчислені значення прогнозують аффінітент досліджуваних молекул по відношенню до мішеней та дають оцінку стійкості утворених комплексів.

Оскільки кристалографічних моделей відомих ноотропів рацетамової групи, співкристалізованих з обраними пептидами не існує, а їх активність встановлена на підставі фармакологічних досліджень, процедуру молекулярного докінгу було також проведено для референс-препаратів

(Пірацетам, Небрацетам, Прамірацетам), а одержані для них скорингові функції, енергії та константи зв'язування використані як стандартні.

В результаті молекулярної стиковки досліджуваних похідних відносно рецептора N-метил-D-аспартату були виявлені молекула 3.16l, яка мала зв'язування в алостеричному сайті N-кінцевого домену (центр відомого інгібітора Ro25-6981) та молекула 3.8с з локалізацією в новому сайті негативної алостеричної модуляції агоніст-зв'язуючого домену (ABD). Також було виявлено, що референс препарат Пірацетам стикувався в той же сайт, що і молекула 3.8с [129-134].

Утворенню комплексу молекули 3.16l з рецептором сприяють гідрофобні взаємодії, про що свідчить глибоке занурення молекули в гідрофобну кишеню (рис. 4.10). Така взаємодія відбувається за участі 4 $\pi\sigma$ зв'язків між 1,2,4-тріазольним, бензодіаксольним та фенільним фрагментами з амінокислотними залишками Pro73, Phe143, Ile113 і Ala75, відповідно. Стабілізаційні зв'язки $\pi\pi$, π -Alk, Alk виникають між всіма фрагментами молекулами з залишками Tyr109, Ile106, Pro73, Ala102, Ala75, Met74, Pro106, Ala71 і Ile107. Результат такої взаємодії підтверджується від'ємними значеннями скорингової функції (Affinity dG = -7.6 ккал/моль), вільної енергії (EDoc = -5.74 ккал/моль) та констант зв'язування (K_i = 61.93 μ M).

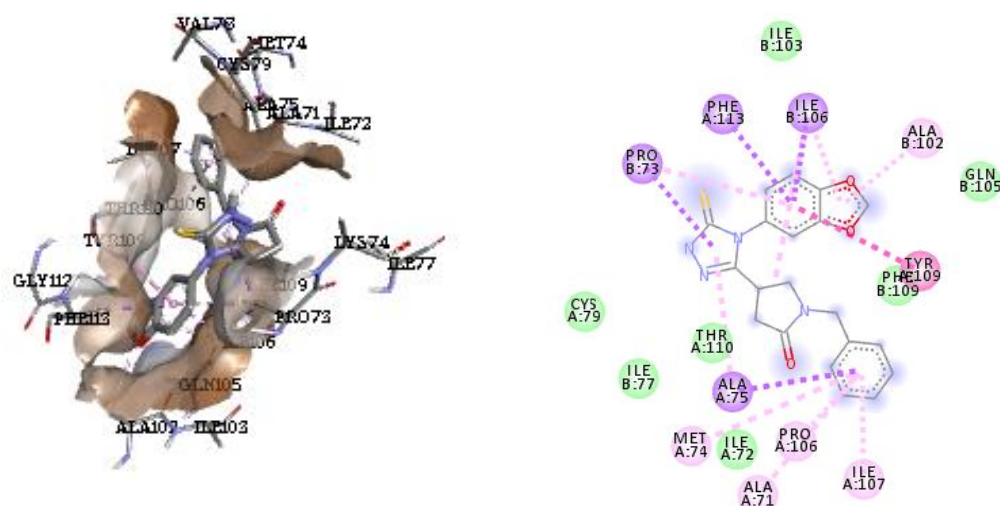


Рис. 4.10 Суперпозиція (ліва панель) та діаграма міжмолекулярних взаємодій (права панель) молекули 3.16l в алостеричному сайті N-кінцевого домену (NTD) рецептора N-метил-D-аспартату. Візуалізація зв'язків показана

пунктирними лініями відповідного кольору: сили Вандер Ваальса – світло-зелений, π - σ зв'язок – бузковий, π - π взаємодія – фіолетовий; π -Alk і Alk взаємодії – рожевий.

Комплекс з рецептором молекули 3.8с, подібно Пірацетаму, можливий за рахунок утворення водневих зв'язків з залишками амінокислот Thr668, Met689, Phe 692 за участі протонів водню аміногрупи, а для Пірацетаму – з залученням атому Оксигену і протону водню ацетамідного фрагменту. Молекула 3.8с має ще один карбон-водневий зв'язок між атомом Оксигену фрагменту піролідин-2-ону та залишком Glu65. Утворені зв'язки стабілізують гідрофобну кишеню, яка виникає завдяки $\pi\sigma$, π -Alk і Alk взаємодіям фенільного кільця молекули 3.8с, а для Пірацетаму – за участі піролідинового каркасу з відповідними залишками сайту (рис.4.11)

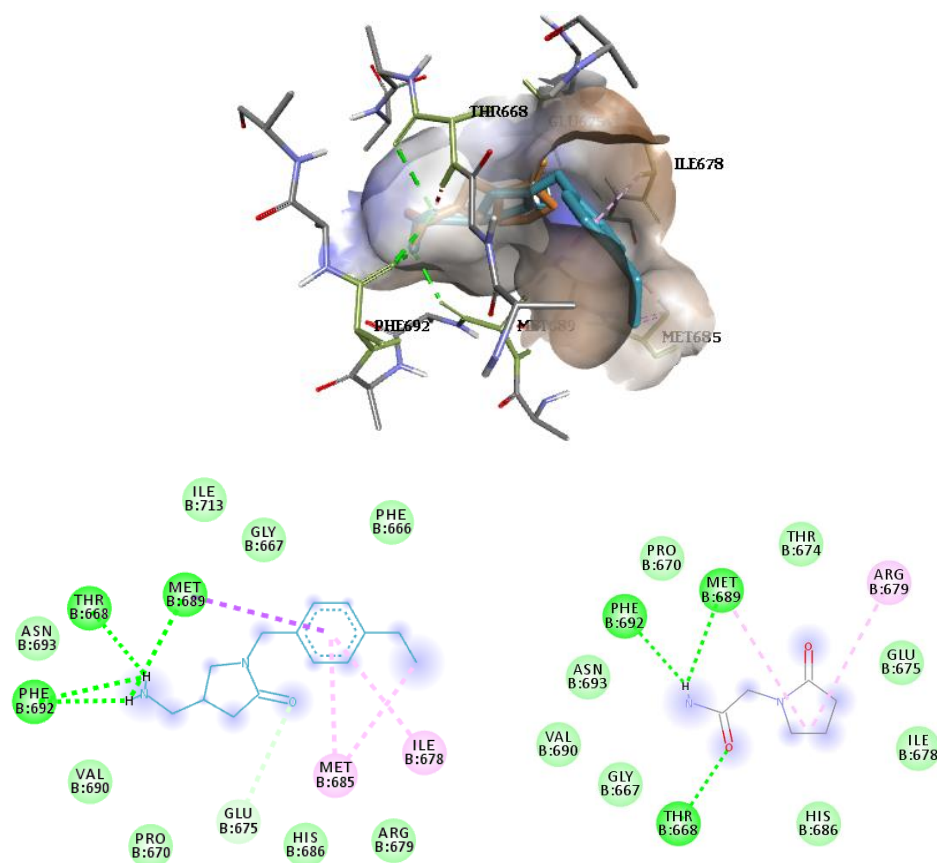


Рис. 4.11 Суперпозиція (центральна панель) молекули 3.8с (блакитна) і Пірацетаму (оранжева). Діаграми міжмолекулярних взаємодій (ліва панель) молекули 3.8с і Пірацетаму (права панель) в алостеричному сайті агоніст-зв'язуючого домену (ABD) рецептора N-метил-D-аспартату. Візуалізація зв'язків

показана пунктирними лініями відповідного кольору: сили Вандер Ваальса – світло-зелений; водневі зв'язки – зелений і сірий; π - σ зв'язок – бузковий, π -Alk і Alk взаємодії – рожевий.

Термодинамічна вірогідність алостеричної модуляції рецептора домену ABD підтверджується помірними обчисленими значеннями скорингової функції, вільної енергії та констант зв'язування (рис. 4.12).

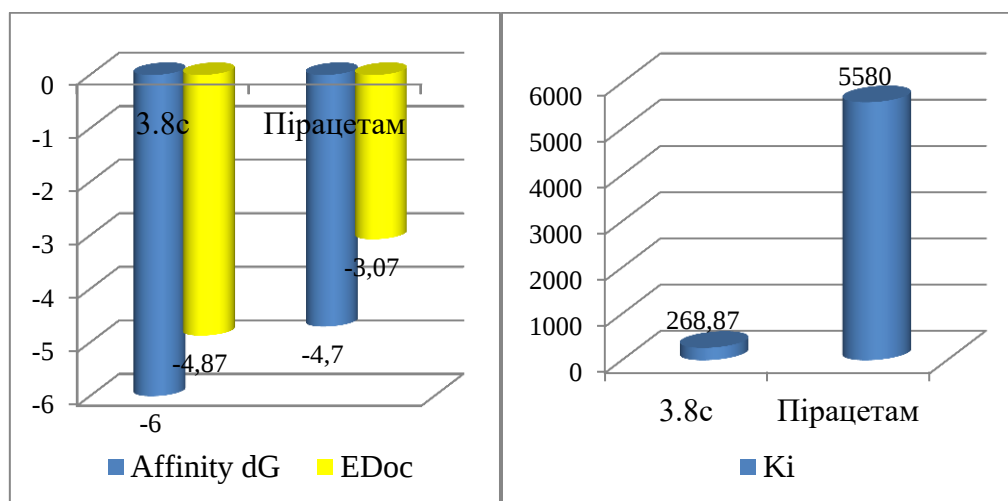


Рис. 4.12 Оціночні значення докінгу молекули 3.8с і Пірацетаму відносно рецептора N-метил-D-аспартату: значення скорингової функції та вільної енергії зв'язування (ліва панель); констант зв'язування (права панель)

Докінгові дослідження решти тестованих молекул відносно рецептора N-метил-D-аспартату не виявили їх стикування в активних центрах та відомих сайтах алостеричної модуляції, незважаючи на досить непогані обчислені оціночні значення (табл. 4.1)

Таблиця 4.1

Оціночні значення докінгу досліджуваних похідних в невідомих/неактивних порожнинах рецептора N-метил-D-аспартату

Молекула	Affinity dG Scoring ккал/моль	EDoc ккал/моль	Ki μM	NR1	NR2
1	4	5	6	7	8
N-кінцевий домен NTD					
3.8a	-5.8	-5.04	201.67	+	
3.8b	-5.7	-4.12	962.13		+
3.8d	-5.9	-4.74	335.84	+	
3.8e	-5.6	-4.37	622.72	+	

Продовження табл. 4.1

1	2	3	4	5	6
3.8g	-5.9	-4.85	278.58	+	
3.8i	-5.6	-5.00	217.93	+	
3.8j	-6.2	-4.20	838.08	+	
3.8k	-5.2	-4.48	520.08		+
3.8l	-5.6	-4.17	882.20	+	
3.8m	-5.8	-4.29	710.82		+
3.8n	-6.2	-4.84	282.06		+
3.8o	-5.7	-4.48	523.92		+
3.8q	-5.9	-4.32	675.89		+
3.8r	-5.5	-4.27	738.99		+
3.16a	-7.5	-6.03	37.85		+
3.16b	-7.1	-5.35	120.62		+
3.16c	-8.2	-4.98	223.06	+	
3.16e	-7.0	-4.58	442.05		+
3.16f	-7.9	-5.61	76.82		+
3.16g	-6.5	-4.85	279.71	+	
3.16h	-6.3	-4.75	329.32		+
3.16i	-6.4	-5.12	176.68	+	
3.16j	-6.6	-4.13	946.00	+	
3.16k	-8.5	-5.68	68.61		+
3.16m	-7.6	-5.15	167.85	+	
3.16n	-7.2	-4.02	1140	+	
3.16o	-8.2	-5.38	114.43		+
3.16q	-7.5	-5.49	94.34	+	
3.21a	-7.0	-4.44	553.72		+
3.21b	-6.8	-4.68	370.24		+
3.21c	-5.9	-4.33	670.27		+
3.21e	-7.5	-5.26	138.94		+
3.21f	-8.1	-4.07	1040		+
3.21g	-7.8	-4.90	255.16		+
3.21i	-7.2	-4.89	258.26		+
3.21j	-7.0	-5.37	116.20	+	
Небрацетам	-5.4	-4.64	400.33		+
Агоніст зв'язуючий домен (ABD)					
3.8f	-5.4	-4.54	466.60	+	
3.8h	-5.6	-4.10	995.80	+	
3.8p	-6.0	-3.81	1620		+
3.16d	-7.5	-4.78	312.91		+
3.16p	-7.2	-5.41	108.67		+
3.21d	-6.8	-5.50	93.61		+
3.21h	-7.0	-4.83	289.13		+
Прамідрацетам	-5.2	-3.95	1280	+	

Завдяки одержаним результатам стиковки нових рацетамових молекул і ноотропних референс-препаратів встановлено, що майже всі тестовані речовини не сприятимуть активації/інгібуванню рецептора N-метил-D-аспартату через вже відомі алостеричні центри, що можливо виключає їх безпосередній вплив на механізми глутаматергічної нейротрансмісії.

Проведені докінгові дослідження синтезованих речовин відносно ацетилхолінового нікотинового рецептора свідчать, що всі тестовані молекули не мали агоністичного/антагоністичного впливу на ортостеричний сайт, проте мали зв'язування у відмінних від головного сайту центрах. Враховуючи, що алостеричні сайти цієї мішені не мають чіткої доказової бази стосовно локації, ми можемо лише припускати, що більшість досліджуваних молекул можуть виступати як потенційні ліганди алостеричної модуляції (ефектори) [129-134].

Група нових речовин (15 молекул) і референс препарат Небрацетам стикувалися з мішенню у відомому сайті позитивної алостеричної модуляції позаклітинного домену на інтерфейсах субодиниць, який розташований нижче ортостеричного сайту поблизу трансмембранного домену (сайт 1) (рис. 4.13). В свою чергу було виявлено, що 18 досліджуваних молекул і референс препарат Прамірацетам зв'язувались в можливому алостеричному сайті, який знаходиться вище ортостеричного між двома субодиницями (сайт 2) (рис. 4.13). Хоча візуалізований сайт 2 не мав типових гідрофобних залишків триптофану та тирозину, характерних для класичних неконкурентних агоністів та лігандів алостеричної потенціації (ефекторів), нашу увагу привернула наявність в кишені залишку аспарагінової кислоти Asp-89, яка відіграє роль підсилювача диполів вже відомого сайту.

Лише 12 молекул, в тому числі Пірацетам, мали зв'язування в некомпленарних порожнинах різних інтерфейсів, тому вони ймовірно не матимуть суттєвого алостеричного ефекту, хоча мали результативні значення стиковки (табл. 4.2)

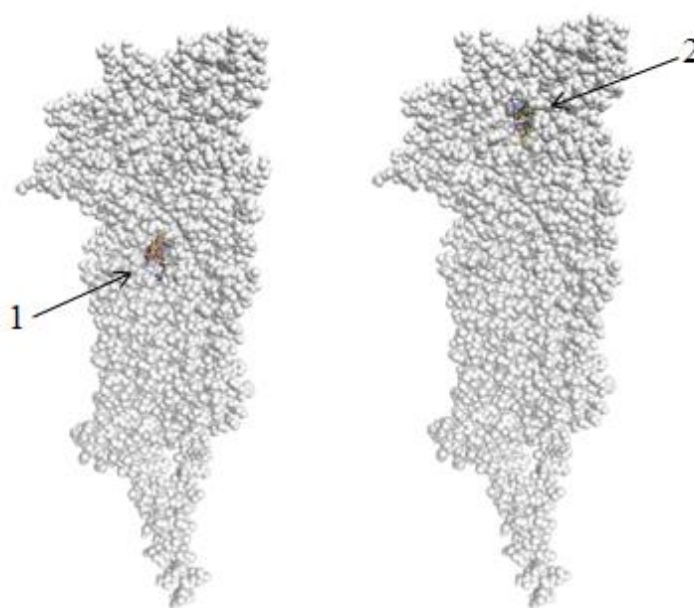


Рис. 4.13 Візуалізація стиковки досліджуваних молекул відносно ацетилхолінового нікотинного рецептора: алостеричний сайт 1 (ліва панель), алостеричний сайт 2 (права панель)

Таблиця 4.2

Оціночні значення докінгу досліджуваних похідних в невідомих/неактивних порожнинах ацетилхолінового нікотинного рецептора

Молекула	Affinity dG Scoring ккал/моль	EDoc ккал/моль	Ki μM
Позаклітинний ліганд-зв'язуючий домен			
3.16g (β)	-6.6	-5.24	143.49
3.16q (β)	-7.0	-4.89	259.01
3.21c (α)	-5.3	-4.06	1060
3.21f (β)	-6.5	-4.72	345.08
3.21j (α)	-7.0	-4.39	606.01
Пірацетам (β)	-5.1	-3.81	1610
Трансмембранний домен			
3.8b (β)	-5.8	-6.11	33.13
3.8c (β)	-6.3	-5.78	57.52
3.8d (β)	-6.6	-6.16	30.63
3.8k (β)	-5.2	-5.93	45.29
3.8q (β)	-6.5	-5.35	120.02
3.21e (β)	-7.1	-4.30	707.69
Внутрішньо-клітинний домен			
3.16i (β)	-6.4	-5.30	131.31

Результати зв'язування в двох алостеричних сайтах підтверджуються обчисленими від'ємними значеннями скорингової функції, вільної енергії зв'язування та константами зв'язування (рис. 4.14, табл. 4.3).

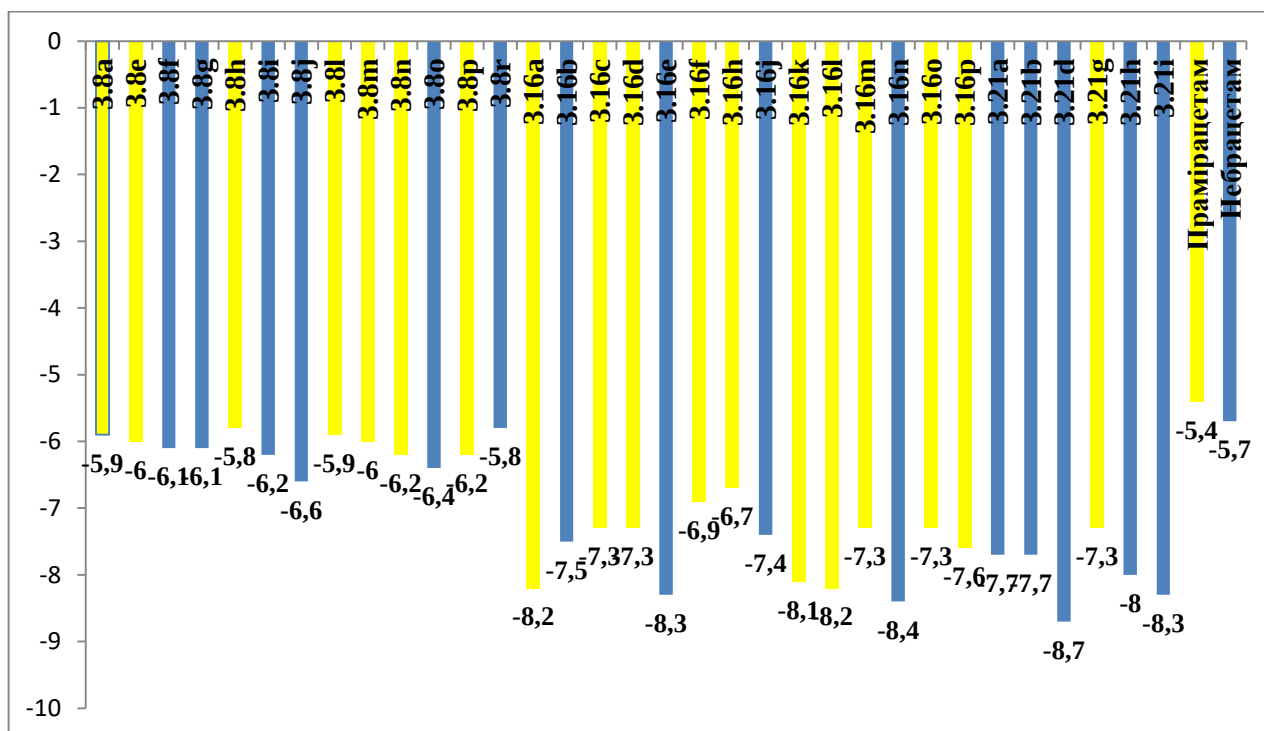


Рис. 4.14 Значення скорингових функцій (Affinity DG) досліджуваних похідних відносно ацетилхолінового нікотинного рецептора. Локація молекул: сайт 1 - синій, сайт 2 – жовтий.

Розраховані значення докінгу досліджуваних речовин знаходяться на рівні, або перевищують абсолютні значення референс-препаратів, що свідчить про термодинамічну ймовірність та енергетичну сприятливість утворення комплексів між молекулами та рецептором.

Таблиця 4.3

Оціночні значення докінгу досліджуваних похідних відносно ацетилхолінового нікотинного рецептора

Молекула	EDoc ккал/моль	Ki μM	Молекула	EDoc ккал/моль	Ki μM
1	2	3	4	5	6
Сайт 1			3.8e	-5.48	95.64
3.8f	-5.84	52.09	3.8h	-6.36	21.67
3.8g	-5.61	77.34	3.8l	-5.75	61.42

1	2	3	4	5	6
3.8i	-5.75	60.57	3.8m	-5.91	46.52
3.8j	-5.53	87.73	3.8n	-7.31	4.38
3.8o	-5.30	131.13	3.8p	-5.65	72.43
3.8r	-4.83	289.78	3.16a	-5.96	42.55
3.16b	-6.45	18.69	3.16c	-5.58	81.36
3.16e	-5.82	54.32	3.16d	-4.87	270.11
3.16j	-4.76	321.55	3.16f	-5.53	88.70
3.16n	-3.85	1510	3.16h	-4.85	279.18
3.21a	-5.00	218.02	3.16k	-5.08	188.15
3.21b	-5.91	46.83	3.16l	-5.92	45.39
3.21d	-6.49	17.48	3.16m	-5.77	58.76
3.21h	-5.45	101.82	3.16o	-5.28	134.77
3.21i	-5.52	89.47	3.16p	-5.62	75.99
Небраце- там	-5.95	43.50	3.21g	-4.75	328.77
Сайт 2			Праміраце- там	-2.81	8650
3.8a	-6.17	29.91			

Детальний аналіз геометричного розташування досліджуваних речовин, які мали локацію в першому алостеричному сайті свідчить про те, що всі сполуки взаємодіяли з залишками амінокислот переважно за рахунок водневих зв'язків, гідрофобних і π -аніон взаємодій (табл. 4. 4).

Таблиця 4.4

**Амінокислотні залишки та типи зв'язків досліджуваних похідних
відносно ацетилхолінового нікотинового рецептора (сайт 1)**

Молекула	фрагмент молекули - амінокислотний залишок - типи зв'язку
1	2
Сайт 1	
3.8f	NH ₂ –Ile45-2×водн.; піролід.-2-он: Ser265-водн., Ile45- карб.водн; феніл- Glu179- π -anion
3.8g	NH ₂ – Glu179-водн.; CH ₂ -Val46- карб.водн; феніл: Glu179- π -anion
3.8i	NH ₂ –Ile45, Asn47-2×водн.; піролід.-2-он: Ser265-водн., Ile45- карб.водн; феніл- Glu179- π -anion
3.8j	NH ₂ –Gln48, Ser177-2×водн.; піролід.-2-он: Ser265-водн., Ile45- карб.водн; феніл-Glu179- π -anion
3.8o	NH ₂ ; Tyr214-водн., Arg209-don.-don.; піролід.-2-он: Val47-водн., Ser46- ас.- ас.; F: Ser265, Gln48 -2×водн., Val46-галоген.
3.8r	NH ₂ –Gln48, Ser177-2×водн.; піролід.-2-он: Val47-водн., Glu179- карб.водн; OC ₂ H ₅ - Tyr214-водн.
3.16b	1,2,4-тріазол-Asn48-водн.; піролід.-2-он: Val47-водн., Ser46-карб.водн; CH ₂ - Ile45- карб.водн; феніл-Glu179- π -anion

1	2
3.16e	1,2,4-тріазол: Val46-водн., Glu179- π -anion; піролід.-2-он-Thr260- ас.-ас.; феніл: $2\times \pi$ -Alk-Lys262, Ile263- $\pi\sigma$
3.16j	1,2,4-тріазол; Val46-водн., Val46- π -Alk; піролід.-2-он-Thr260- ас.-ас.; феніл: $2\times \pi$ -Alk-Lys262, Ile263; ізопропіл-Ile263-Alk
3.16n	піролід.-2-он: Ser265-водн.; 1,2,4-тріазол: Tyr214, Glu179, Trp180- $3\times$ водн., Ser265- π -H, Arg209-don.-don., Glu179- π -anion; феніл: Glu179- π -anion, Ile263- $\pi\sigma$; $2\times$ OCH ₃ : Ser265, Ile45, Ser177- карб.водн;
3.21a	CONH ₂ - водн.- Glu179; 1,2,4-тріазол: Val46-водн., Val46- π -Alk; піролід.-2-он-Thr260- ас.-ас.; феніл: $2\times \pi$ -Alk-Lys262, Ile263
3.21b	CO- Ser265-водн.; 1,2,4-тріазол: Asn48-водн., Arg209-don.-don., Asn48-карб.водн.; піролід.-2-он-Trp180-водн.; CH ₂ - Ile45- карб.водн; феніл- Glu179- π -anion
3.21d	CO- Tyr214-водн.; 1,2,4-тріазол: Val46-водн., Val46- π -Alk; піролід.-2-он-Val46- Alk; феніл: Ile263, Lys262, leu259; піперидин-Val47-Alk
3.21h	CONH-Val47-водн.; 1,2,4-тріазол: Ser265-водн., Glu179- π -anion; піролід.-2-он- Val46- Alk; феніл: π -Alk-Arg50, Ile263- $\pi\sigma$; циклогексил- Ile263-Alk
3.21i	CO- Ser265-водн.; 1,2,4-тріазол: Trp180- π -Sulfur, Glu179- π -anion; CH ₂ -Thr260- карб.водн; феніл- Ile263- $\pi\sigma$
Небрацетам	NH ₂ – Arg209-don.-don.; CH ₂ -Val46-карб.водн; феніл- Glu179- π -anion

Проте були виявлені молекули, які утворювали несприятливі взаємодії: donor-donor з залишками Arg209 (3.16n, 3.8o) і Arg50 (3.21b); acceptor-acceptor – з залишками Thr260 (3.21a, 3.16e, 3.16j) та Ser46 (6o). Зв'язок donor-donor також утворював Небрацетам з залишком Arg209. Такі взаємодії можуть свідчити про наявність сил відштовхування між лігандом і мішенню, але розраховані показники докінгу свідчать про те, що суттєвого впливу на утворення стійкого комплексу вони не мали. Візуалізація такої стиковки наведена на прикладі молекули 3.16e (Affinity dG = -8.3 ккал/моль, ED_{oc} = -5.82 ккал/моль, K_i = 54.32 μ M) і Небрацетаму (Affinity dG = -5.7 ккал/моль, ED_{oc} = -5.92 ккал/моль, K_i = 43.50 μ M) (рис. 4.15)

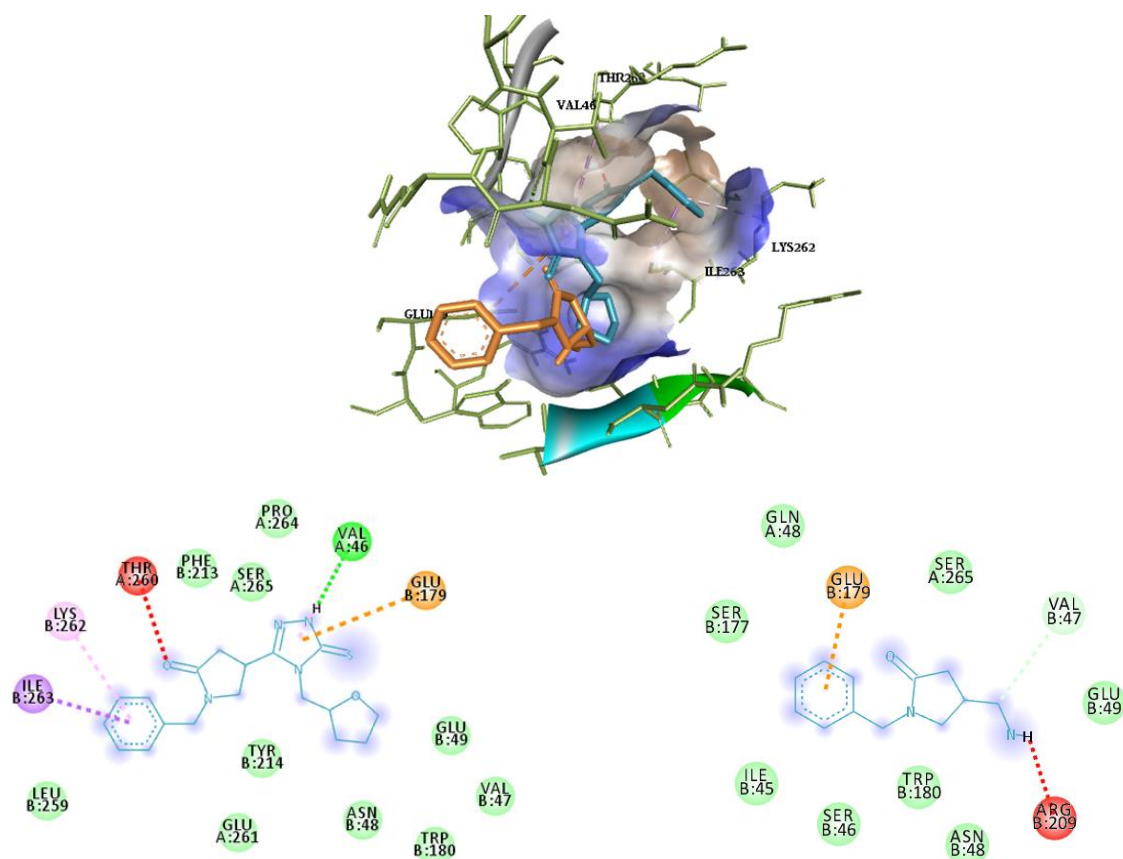


Рис. 4.15 Суперпозиція (центральна панель) молекули 3.16е (блакитна) і Небрацетаму (оранжева). Діаграми міжмолекулярних взаємодій (ліва панель) молекули 3.16е і Небрацетаму (права панель) в алостеричному сайті 1 ацетилхолінового нікотинового рецептора. Візуалізація зв'язків показана пунктирними лініями відповідного кольору: сили Вандер Ваальса – світло-зелений; водневі зв'язки – зелений і сірий; π -аніон – оранжевий, π - σ зв'язок – бузковий, взаємодії donor-donor, acceptor-acceptor – червоний, π -Alk взаємодія – рожевий.

В результаті аналізу геометричного розташування молекул в сайті і порівняння обчислених оціночних значень була виявлена молекула-хіт 3.21d, яка мала найкращу енергетичну позицію (Affinity dG = -8.9 ккал/моль, EDoc = -6.49 ккал/моль, K_i = 17.48 μ M) зі сприятливим міжмолекулярними взаємодіями для утворення стабільного комплексу з мішенню. Візуалізація такої взаємодії наведена на рис. 4.16.

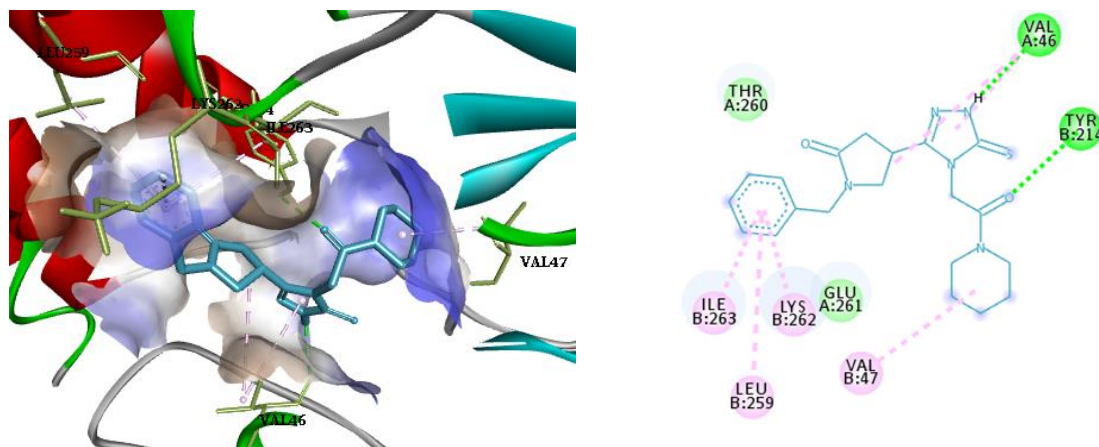


Рис. 4.16 Суперпозиція молекули-хіта 3.21d (ліва панель) та діаграма міжмолекулярних взаємодій молекули (права панель) в алостеричному сайті 1 ацетилхолінового нікотинного рецептора. Візуалізація зв'язків показана пунктирними лініями відповідного кольору: сили Вандер Ваальса – світло-зелений; водневий зв'язок - зелений; π -Alk і Alk взаємодії – рожеві.

В другій кишені всі 18 стикованих молекул утворюють комплекси за рахунок водневих зв'язків. Практично всі утворені комплекси додатково стабілізуються π -cation, π -anion, π -H і гідрофобними взаємодіями. Амінокислотні залишки та типи їх зв'язування з фрагментами молекул наведені в табл. 4.5.

Таблиця 4.5

Амінокислотні залишки та типи зв'язків досліджуваних похідних відносно ацетилхолінового нікотинного рецептора (сайт 2)

Молекула	фрагмент молекули - амінокислотний залишок - типи зв'язку
1	2
Сайт 2	
3.8a	NH ₂ –Gln83-3×водн.; піролід.-2-он-Lys87-водн.; феніл- Asp89- π -anion; CH ₃ -Pro85- Alk
3.8e	піролід.-2-он: Lys87-водн., Trp86- карб.водн.; OCH ₃ -Asn111- водн.
3.8h	NH ₂ –Gln83-водн.; піролід.-2-он-Lys87-водн.; феніл-Asp89- π -anion
3.8l	NH ₂ –Gln83-2×водн.; піролід.-2-он-Lys87-водн.; феніл: Pro85, Ile18- π -Alk
3.8m	NH ₂ : Ile18, Arg83-3×водн.; піролід.-2-он-Trp86-карб.водн; OCH ₃ : Gln101-водн., Asp89-карб.водн.
3.8n	NH ₂ – Asp89- водн.; піролід.-2-он-Trp86- водн.; феніл- Trp86- π - π , F: Lys87-водн., Gln83, Ile85-2×галоген.
3.8p	NH ₂ : Tyr151-водн.; Asn111- don.-don.; CH ₂ - Asp89-карб.водн; феніл- Lys87- π -Alk; F-Pro88- галоген.

1	2
3.16a	піролід.-2-он: Gln-водн., Lys87-Alk; 1,2,4-тріазол: Lys87, Glu17-2×водн., Lys87- π-Alk; нафтил- Pro85- 2×π-Alk
3.16c	1,2,4-тріазол: Lys87, Glu17-2×водн., Trp86- карб.водн.; піролід.-2-он-Asn111-водн.; феніл: Lys87-π-cation, Pro85-π-Alk; OCH ₃ : Gln101-водн., Pro88-карб.водн.
3.16d	1,2,4-тріазол: Lys87-водн., Trp86-π-π; піролід.-2-он- Lys87-Alk; CH ₂ - Asp104-карб.водн; феніл- Pro85- π-Alk
3.16f	1,2,4-тріазол: Lys87-π-cation, Asp104-π-anion; феніл: Glu17-π-anion, Pro85-π-Alk
3.16h	1,2,4-тріазол: Glu17, Lys87-2×водн, Trp86-π-π, Lys87- π-Alk; піролід.-2-он- Lys87- Alk; CH ₂ - Asp104-карб.водн; аліл-Tyr151-π-Alk
3.16k	1,2,4-тріазол: Gln83, Lys87-2×водн.; піролід.-2-он- Gln101- водн., Asp104-карб.водн; CH ₂ - Val102-карб.водн; бензодіаксол:Trp86, Asn111-2×водн., Trp86- π-π, Pro85- π-Alk
3.16l	піролід.-2-он- Gln83- водн., Glu17-карб.водн; 1,2,4-тріазол-Lys87-водн.; бензодіаксол: Pro85, Ile80- π-Alk, Pro85- π-H; феніл- Pro85-π-Alk
3.16m	1,2,4-тріазол: Lys87-водн., Trp86-π-π, Lys87- π-Alk; піролід.-2-он- Lys87- Alk; CH ₂ - Asp104-карб.водн; феніл- Pro85-π-Alk; Cl-Lys87-Alk
3.16o	1,2,4-тріазол: Tyr151-водн., Tyr151-π-Sulfur; піролід.-2-он: Ile18, Pro85-Alk; CF ₃ : Asp104, Val102-2×галоген.
3.16p	1,2,4-тріазол: Val108-водн., Tyr109-π-Sulfur; піролід.-2-он-Lys87-водн.; CH ₂ - Lys87-карб.водн; феніл- Pro85-π-Alk; SO ₂ CH ₃ -Arg88-водн.
3.21g	1,2,4-тріазол: Tyr151-водн., Trp66-don.-don., Tyr151-π-Sulfur; піролід.-2-он- Pro85-Alk; феніл-Pro85-π-Alk
Праміраце-там	CONH- Lys87-водн.; CH ₂ - Glu17-карб.водн; піролід.-2-он- Pro85-Alk; ізопропіл: Pro85-Alk, Trp86, Tyr151- π-Alk

Дослідження геометричної локації молекул в сайті показали наявність характерного для нього залишку аспарагінової кислоти Asp89, яка відіграє роль підсилювачів диполів в сайті зв'язування класичних алостеричних потенціаторів нікотинової мішені. Тестовані сполуки взаємодіють з залишком Asp89 переважно за допомогою сил Ван дер Ваальса, і тільки деякі з них утворюють π-аніон (3.8a), карбон-водневий (3.8m, 3.8p) і водневий (3.8n) зв'язки. На рис. 4.17 наведені приклади різноманітності міжмолекулярних взаємодій молекули 3.8n (Affinity dG = -6.2 ккал/моль, EDoc = -7.31 ккал/моль, K_i = 4.38 μM) і молекули-хіта 3.16a (Affinity dG = -8.2 ккал/моль, EDoc = -5.96 ккал/моль, K_i = 42.55 μM) з цим залишком.

Як і в першому сайті, тут мають місце для двох речовин 3.8p і 3.21g небажані donor-donor взаємодії з залишками Asn111 і Trp66 відповідно, які

згідно розрахованих оціночних значень суттєво не впливають на енергетичний потенціал комплексів і мали помірні оціночні значення докінгу (3.8p – Affinity $dG = -6.2$ ккал/моль, EDoc = -5.65 ккал/моль, $K_i = 72.43 \mu M$; 3.21g – Affinity $dG = -7.3$ ккал/моль, EDoc = -4.75 ккал/моль, $K_i = 328.77 \mu M$). На рис. 4.18 показані діаграми міжмолекулярних взаємодій цих молекул.

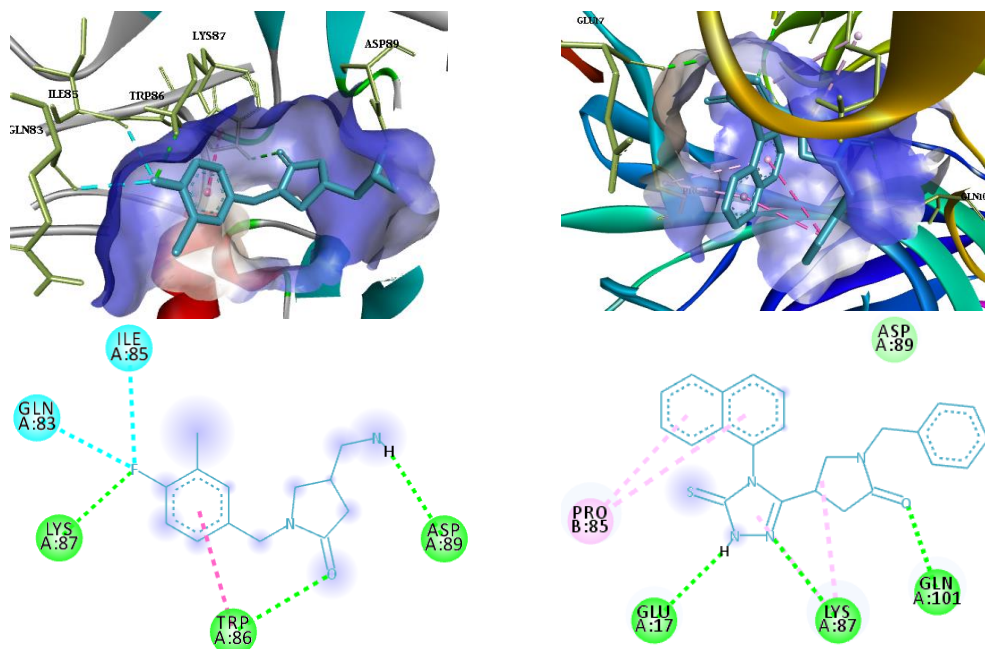


Рис. 4.17 Суперпозиції та діаграми міжмолекулярних взаємодій молекули 3.8p (ліва панель) і молекули-хіта 3.16a (права панель) в алостеричному сайті 2 ацетилхолінового нікотинного рецептора. Візуалізація зв'язків показана пунктирними лініями відповідного кольору: сили Вандер Ваальса – світло-зелений; водневі зв'язки – зелений; галогеновий зв'язок – блакитний; π - π взаємодія – фіолетовий; π -Alk і Alk взаємодії – рожевий.

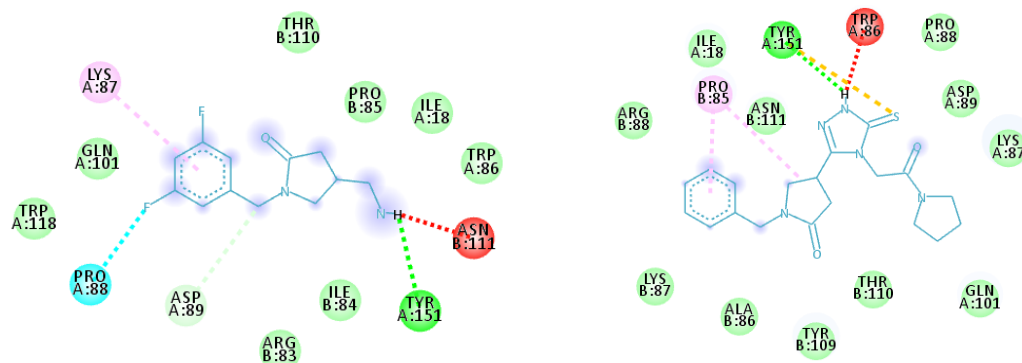


Рис. 4.18 Діаграми міжмолекулярних взаємодій молекул 3.8p (ліва панель) і 3.21g (права панель) з несприятливими зв'язками та іншими

міжмолекулярними взаємодіями в алостеричному сайті 2 ацетилхолінового нікотинового рецептора. Візуалізація зв'язків показана пунктирними лініями відповідного кольору: сили Вандер Ваальса – світло-зелений; водневі зв'язки – зелений; галогеновий зв'язок – блакитний; , зв'язок π -Sulfur – оранжевий; взаємодія donor-donor – червоний; π -Alk і Alk взаємодії – рожевий.

Резюмуючи результати докінгу відносно ацетилхолінової нікотинової мішені можна припустити, що тільки 35 тестованих молекул можливо матимуть алостеричний вплив на ацетилхоліновий нікотиновий рецептор. Виходячи з візуалізацій локацій стиковки і енергетики утворених комплексів вони ймовірно відіграватимуть роль своєрідних алостеричних модуляторів (ефекторів).

Одержані результати молекулярної стиковки синтезованих речовин відносно ацетилхолінового мускаринового рецептора свідчать, що всі тестовані молекули не мали агоністичного/антагоністичного впливу на ортостеричний сайт. Серед них 37 молекул, включаючи Пірацетам і Небрацетам мали зв'язування в алостеричному сайті позаклітинного вестибюлю в межах дотичних ділянок до ортостеричного центру (рис. 4.19), а саме тої мережі амінокислотних залишків, яка сприяє енергетичному зв'язку між центрами і опосередковує конформаційні перебудови в позаклітинному вестибюлі, що призводить до його скорочення [129-134].

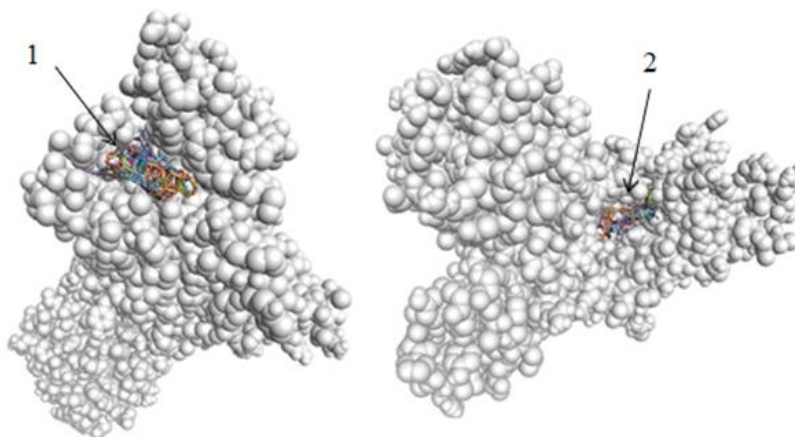


Рис. 4.19 Візуалізація стиковки досліджуваних молекул відносно ацетилхолінового мускаринового рецептора: алостеричний сайт 1 (ліва панель, вид зверху), алостеричний сайт 2 (права панель, вид знизу)

В свою чергу, 8 молекул і Прамірацетам мали локацію в алостеричному сайті трансмембранного домену (рис. 4.19), основна функція якого полягає в регуляториці рецепторної відповіді та дисоціативних процесів антагоністів ортостеричного сайту [129-134].

Результати стиковки досліджуваних сполук в добре задокументованих алостеричних сайтах підтверджуються обчисленими від'ємними значеннями скорингової функції, вільної енергії зв'язування та константами зв'язування, що свідчить про термодинамічну ймовірність та енергетичну сприйливість утворення комплексів з рецептором. (рис. 4.20, 4.21, табл. 4.6).

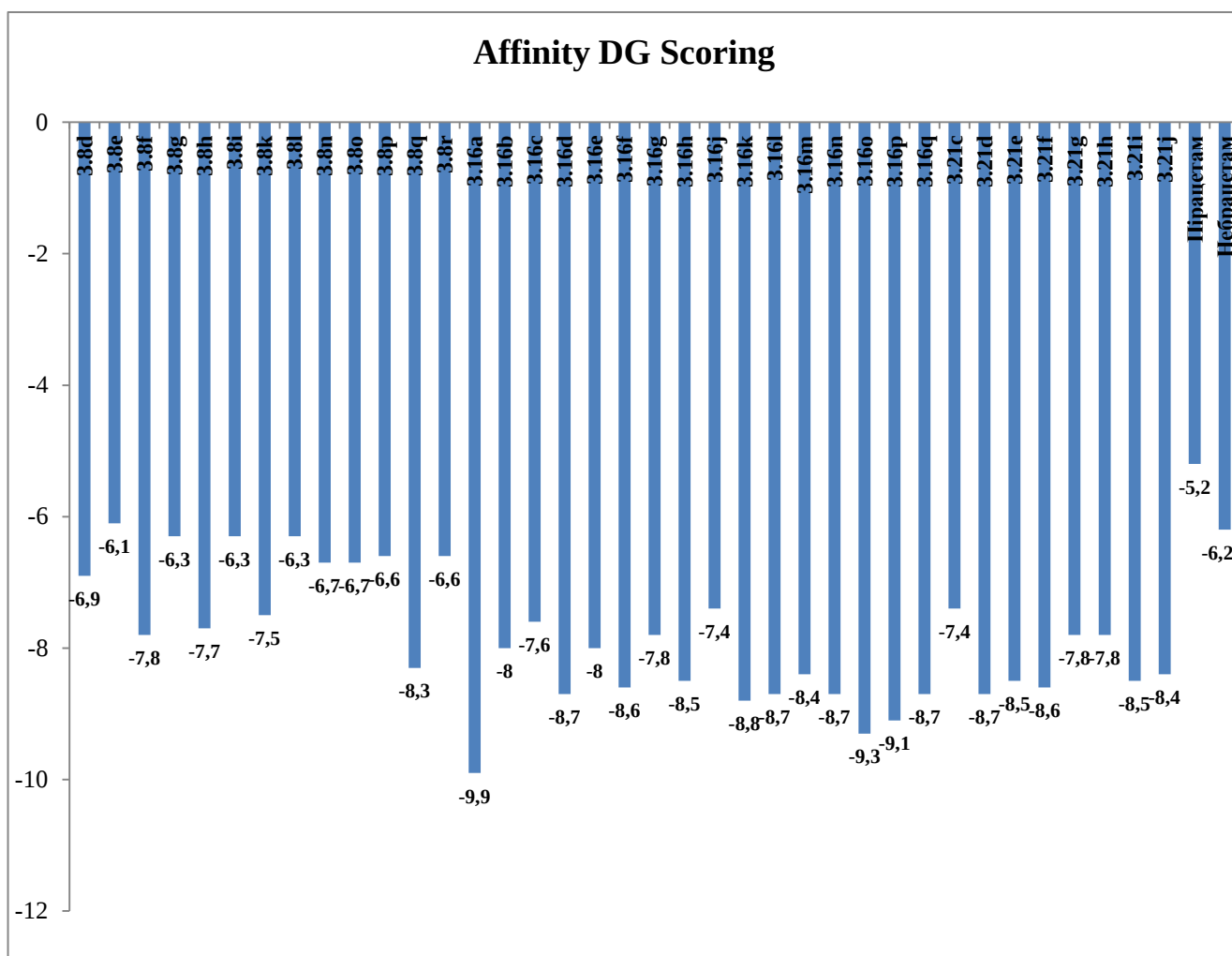


Рис. 4.20 Значення скорингової функції (Affinity DG) досліджуваних похідних відносно ацетилхолінового мускаринового рецептора: *локація молекул в сайті 1*

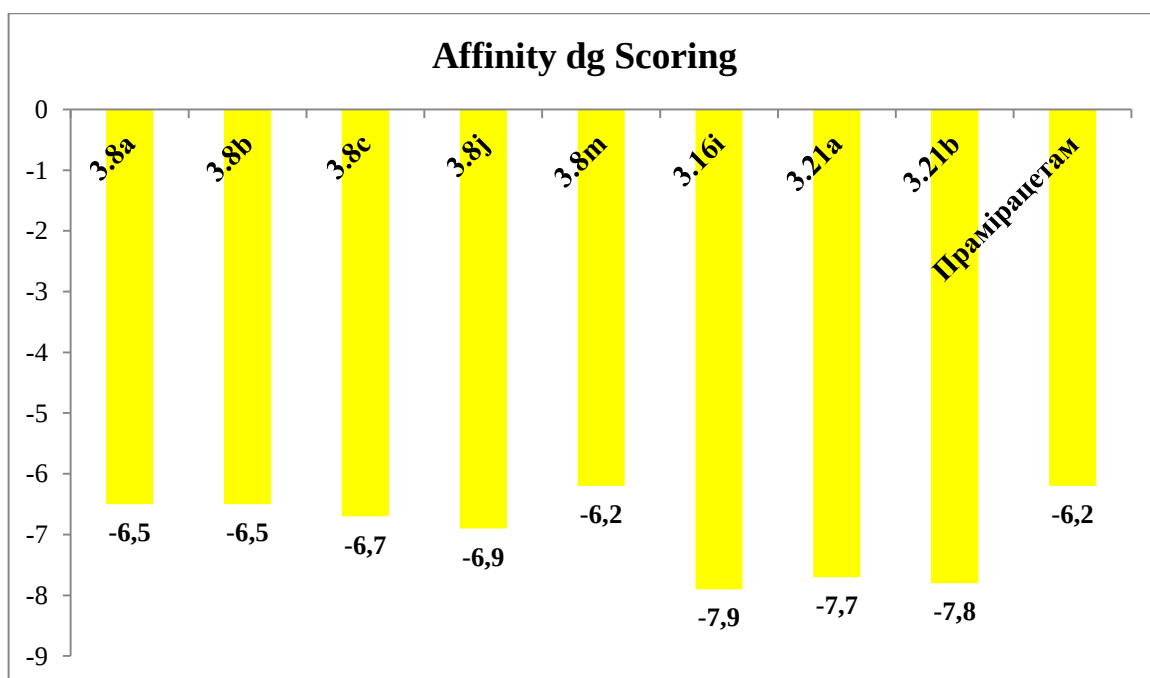


Рис. 4.21 Значення скорингової функції (Affinity DG) досліджуваних похідних відносно ацетилхолінового мускаринового рецептора: *локація молекул в сайті 2*

Таблиця 4.6

Оціночні значення докінгу досліджуваних похідних відносно ацетилхолінового мускаринового рецептора

Молекула	EDoc ккал/моль	Ki μM	Молекула	EDoc ккал/моль	Ki μM
1	2	3	4	5	6
сайт 1			3.16n	-5.77	59.09
3.8d	-6.15	31.26	3.16o	-6.02	38.40
3.8e	-5.60	79.12	3.16p	-6.10	34.05
3.8f	-6.18	29.33	3.16q	-6.10	33.56
3.8g	-5.62	76.41	3.21c	-5.75	60.59
3.8h	-6.27	25.54	3.21d	-6.04	37.50
3.8i	-6.24	26.66	3.21e	-6.08	34.79
3.8k	-5.81	55.32	3.21f	-5.09	185.50
3.8l	-6.04	37.38	3.21g	-5.94	44.52
3.8n	-5.88	48.69	3.21h	-6.76	11.06
3.8o	-5.75	60.83	3.21i	-6.66	13.20
3.8p	-4.79	307.04	3.21j	-5.73	62.55
3.8q	-6.54	16.11	Пірацетам	-3.64	2150
3.8r	-5.69	67.66	Небрацетам	-6.15	30.84

1	2	3	4	5	6
3.16a	-7.67	2.38	Сайт 2		
3.16b	-6.58	14.96	3.8a	-6.40	20.44
3.16c	-6.14	31.52	3.8b	-6.27	25.27
3.16d	-7.04	6.96	3.8c	-6.45	18.86
3.16e	-5.73	63.16	3.8j	-6.13	32.27
3.16f	-6.41	20.00	3.8m	-5.70	66.01
3.16g	-5.69	67.70	3.16i	-7.07	6.61
3.16h	-7.59	2.73	3.21a	-6.43	19.21
3.16j	-6.84	9.70	3.21b	-6.12	32.62
3.16k	-6.82	10.01	Прамі- рацетам	-5.14	170.06
3.16l	-6.25	26.12			
3.16m	-6.83	9.90			

Проведений нами аналіз геометричного розташування молекул в обох сайтах свідчить про те, що всі сполуки взаємодіяли з залишками амінокислот переважно за рахунок водневих зв'язків та гідрофобних взаємодій. В табл. 4. 7 наведені фрагменти молекул і типи зв'язків, які виникають з амінокислотними залишками алостеричних сайтів рецептора.

Таблиця 4.7

**Амінокислотні залишки та типи зв'язків досліджуваних похідних
відносно ацетилхолінового мускаринового рецептора**

Молекула	фрагмент молекули - амінокислотний залишок - типи зв'язку
1	2
Сайт 1	
3.8d	NH ₂ -Ileu183, Ser184-водневі; піролід.-2-он-Thr189-водн.; феніл: Tyr404-ππ, Tyr106-π-Н; ізопропіл: Tyr404-πσ, Tyr82, Trp101-π-Alk
3.8e	NH ₂ -Ile180-водн.; феніл-Tyr404-ππ
3.8f	NH ₂ -Thr189-2×водн.; феніл: Tyr106-ππ, Ser109-π-Н, Cys404-π-Sulfur; метил: Tyr404-πσ, Tyr408-π-Alk, Cys407-Alk
3.8g	феніл-Ile180-π-Alk; метил: Tyr404-π-Alk, Ieu102-Alk
3.8h	феніл- Tyr106-ππ; метил: Tyr82-π-Alk, Ieu102-Alk
3.8i	NH ₂ -Ileu183-2×водн.; феніл-Tyr404-ππ; Cl: Tyr404, Tyr82-π-Alk
3.8k	NH ₂ -Thr189-водн.; феніл-Tyr106-ππ; OCH ₃ -Tyr181-πσ, Tyr404-карб.водн.
3.8l	NH ₂ :Ile180, Ieu183-водневі; F-Tyr106-водн.; феніл-Tyr404-ππ
3.8n	NH ₂ : Ile180-2×водн., Ieu183-водн.; F- Cys178-галоген.; Cl-Tyr82-π-Alk
3.8o	NH ₂ :Ile180, Ieu183 -водневі; феніл-Tyr404-ππ; F- Cys178-галоген.
3.8p	NH ₂ :Ile180, Ieu183 -водневі; феніл-Tyr404-ππ; F-Tyr106-водн.
3.8q	NH ₂ -Thr189-водн.; феніл-Cys404-π-Sulfur; метил: Tyr106, Tyr404-πσ, Tyr404-π-Alk, Cys407-Alk

1	2
3.8r	NH ₂ :Ile180, leu183-водневі; піролід.-2-он-Тур106-водн.
3.16a	1,2,4-тріазол: Тур106-водн., leu183-π-Alk; феніл-Тур404-ππ; піролід.-2-он-Тур404-πAlk; нафтил-Трр400-ππ
3.16b	піролід.-2-он- Ile180-водн.; феніл-Тур404-ππ; 1,2,4-тріазол-leu183-π-Alk; тіофен-Трр400-ππ
3.16c	піролід.-2-он- Ile180-водн.; феніл: Тур404, Трр400-ππ; 1,2,4-тріазол-leu183-π-Alk
3.16d	піролід.-2-он- Ile180-водн.; феніл: Тур404, Трр400-ππ; 1,2,4-тріазол-leu183-π-Alk, Cl-Тур179-Alk
3.16e	піролід.-2-он- Тур106-водн.; феніл-Тур404-ππ; феніл-Тур404-ππ; оксолан-Pro186-Alk
3.16f	феніл: Тур404, Трр400-ππ; 1,2,4-тріазол-leu183-π-Alk
3.16g	піролід.-2-он- Ile180-водн.; феніл: Тур404, Тур82, Тур381-ππ, Трр400-πσ; 1,2,4-тріазол: Thr189-don.-don., leu183-π-Alk
3.16h	піролід.-2-он- Ile180-водн.; феніл-Тур404-ππ; 1,2,4-тріазол: Тур381-ππ, leu183-π-Alk, проп-2-ен- Трр400-π-Alk
3.16j	1,2,4-тріазол: Thr189-водн., Тур381-ππ; феніл-Тур85-ππ; ізопропіл- Трр400-π-Alk
3.16k	1,2,4-тріазол: Трр400-π-Sulfur, ππ; піролід.-2-он- Трр400- π-Alk; феніл: Тур85-ππ, Glu401- π-anion, leu86- π-Alk; бензодіакс.: Тур106, Ile180 –водн.
3.16l	1,2,4-тріазол: Тур106-водн., Тур404-ππ; феніл: Тур85-ππ, Glu401- π-anion, leu86- π-Alk; бензодіакс.-Тур400-ππ
3.16m	піролід.-2-он- Тур106-водн.; 1,2,4-тріазол: leu183- водн., π-Alk; феніл: Тур404, Трр400-ππ; Cl-Трр400-Alk
3.16n	1,2,4-тріазол-Тур106-don.-don.; піролід.-2-он: Тур381, Трр400-π-Alk; феніл: Тур404, Трр400, Тур82-ππ, Pro186-π-Alk, Трр400-πσ; OCH ₃ : Трр400-водн., Ser388-карб.водн.
3.16o	1,2,4-тріазол: Ile180, leu183-водн., leu183-π-Alk; піролід.-2-он- Трр400-π-Alk; феніл-Трр400-ππ; CF ₃ : Тур82, Тур404-π-Alk
3.16p	SO ₂ CH ₃ -Трр400-водн., феніл: Трр400, Тур404-ππ; 1,2,4-тріазол-leu183-π-Alk
3.16q	1,2,4-тріазол-Тур404-don.-don.; феніл-Трр400-ππ; OCH ₃ -Тур85-карб.водн.
3.21c	піролід.-2-он- Ile180-водн.; феніл-Тур404-ππ
3.21d	1,2,4-тріазол-Тур381- ππ., піролід.-2-он-Тур404-πAlk; феніл: Тур85-ππ, leu86- πAlk; піперидин-Pro186
3.21e	піролід.-2-он- Ile180-водн.; феніл: Тур404-ππ, Трр400-πσ; F-Трр400-галоген.
3.21f	піролід.-2-он: Ile180-водн., leu183-Alk; 1,2,4-тріазол-leu183-π-Alk; феніл: Тур404, Трр400-ππ; F-Трр400-галоген.
3.21g	(CH ₂ CO)-Тур106-водн.; піролід.-2-он: Тур404-πAlk, Трр400-πAlk, Тур82-ас-ас; феніл-Glu401-π-anion
3.21h	1,2,4-тріазол-leu183-водн., піролід.-2-он: Тур381, Тур106-водн.; феніл-Тур404-ππ; циклогекс.- феніл-Тур404-πAlk
3.21i	1,2,4-тріазол-Ile180-2×водн.; піролід.-2-он: Тур404, Тур106-водн.; феніл: Тур404, Thr82-ππ; тіоморф.: Pro186, Трр400-Alk
3.21j	1,2,4-тріазол: Тур404-don.-don., Тур404-ππ, Ile180-πAlk; феніл- Трр400-ππ; морфол.: Glu401-карб.водн., Тур404-πAlk
Пірацетам	NH ₂ CO: Тур106-водн., Трр157-водн.; піролід.-2-он: Phe197, Трр378- π-Alk, Ala196-Alk
Небрацетам	NH ₂ :Ile180, leu183 -водневі; феніл-Тур404-ππ

1	2
	Сайт 2
3.8a	NH ₂ -Asp122-водн.; феніл: leu367-π-Alk leu64-Alk; метил: Ile119, leu64-Alk
3.8b	CH ₂ -Ile119-карб.водн.; феніл-leu64-πσ; метил: Ile11, Tyr418-π-Alk, leu64-Alk
3.8c	піролід.-2-он-Thr365-водн., феніл: leu64-πσ, Alk, Phe63-π-Alk, Ile119-Alk
3.8j	NH ₂ -Asp122-2×водн.; бензодіакс.-leu64-πσ
3.8m	NH ₂ -Ser126-don.-don.; піролід.-2-он-Arg123-водн.; феніл: leu64, leu367, Ala363-π-Alk
3.16i	CH ₂ -Asn60-карб.водн.; феніл: leu64-πσ, Ile119, leu367-π-Alk; піролід.-2-он-Arg123-Alk; 1,2,4-тріазол-Arg123-π-Alk
3.21a	1,2,4-тріазол: Asn60 (водн.), Ala363-π-Alk; піролід.-2-он-Ala363-Alk; феніл: leu64-πσ, leu367, Ile119-π-Alk; метил: Asp122, Asn60-карб.водн.
3.21b	CH ₂ -Asn60-карб.водн.; 1,2,4-тріазол: Ala363, Arg123-π-Alk; феніл: leu64-πσ, Ile119, leu367-π-Alk
Прамід-рацетам	(NHCO)-Asn61, Asn422-водн.; піролід.-2-он: Thr366-водн., lys359-Alk; ізопропіл: leu367, leu64, Ile119-Alk

Згідно одержаних даних геометричної локації сполук в першому сайті були виявлені молекули які утворювали несприятливі взаємодії: асептор-асептор - з залишком Tyr82 (3.21g), donor-donor – з залишками Tyr404 (3.16q, 3.21j) і Tyr106 (3.16n). Незважаючи на досить не погані обчислені значення докінгу (рис. 4.20, табл. 4.6), утворення такого роду взаємодій з амінокислотними залишками Tyr106 і Tyr404, які сприяють конформаційним перебудовам в позаклітинному вестибюлі, ймовірно можуть негативно вплинути на його скорочення, тим самим знівелювати активацію рецептора. Для прикладу, на рис. 4.22 показані діаграми таких взаємодій в сайті рецептора.

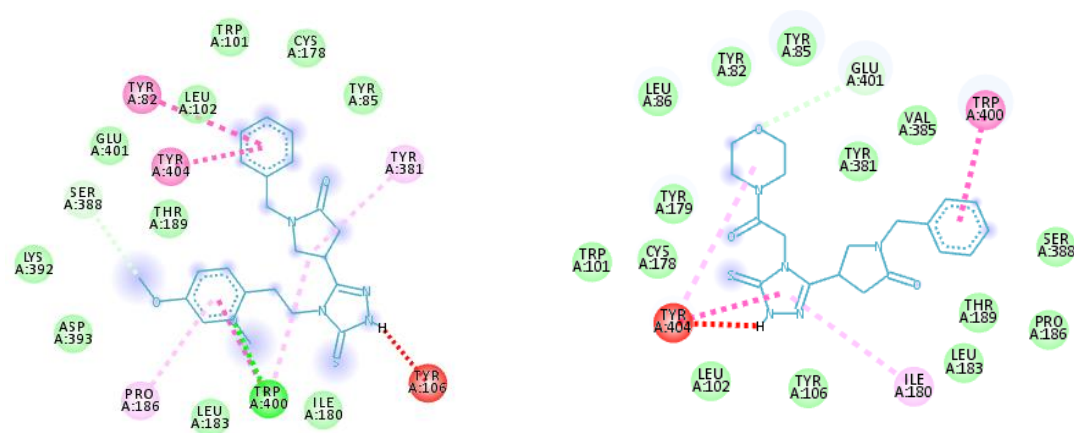


Рис. 4.22 Діаграми міжмолекулярних взаємодій молекул 3.16n (ліва панель) і 3.21j (права панель) з несприятливими зв'язками та іншими міжмолекулярними взаємодіями в алостеричному сайті 1 ацетилхолінового

мускаринового рецептора. Візуалізація зв'язків показана пунктирними лініями відповідного кольору: сили Вандер Ваальса – світло-зелений; водневі зв'язки – зелений, сірий; взаємодія donor-donor – червоний; π - π взаємодії – фіолетовий; π -Alk і Alk взаємодії – рожевий.

За допомогою детального аналізу утворених міжмолекулярних взаємодій з залишками сайтів досліджуваних молекул і обчислених оціночних значень була виявлена молекула-хіт 3.16а, яка мала найкращу енергетичну позицію в першому алостеричному сайті (Affinity dG = -9.9 ккал/моль, EDoc = -7.67 ккал/моль, K_i = 2.38 μ M) з урахуванням всіх взаємодій для утворення стабільного комплексу з рецептором. Візуалізація такої взаємодії наведена на рис. 4.23.

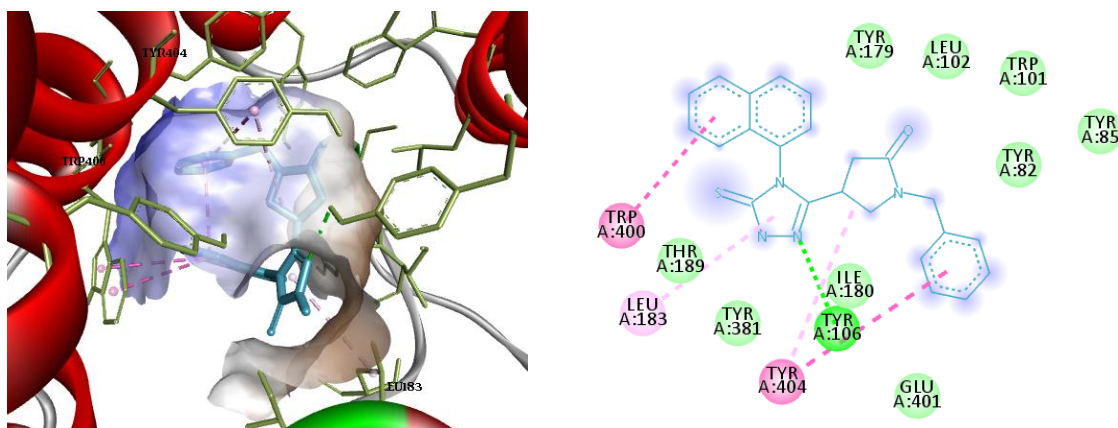


Рис. 4.23 Суперпозиція молекули-хіта 3.16а (ліва панель) та діаграма міжмолекулярних взаємодій молекули (права панель) в алостеричному сайті 1 ацетилхолінового мускаринового рецептора. Візуалізація зв'язків показана пунктирними лініями відповідного кольору: сили Вандер Ваальса – світло-зелений; водневий зв'язок - зелений; π - π взаємодії – фіолетовий; π -Alk взаємодії – рожевий.

В результаті стиковки молекул в другий алостеричний сайт згідно обчислених значень, молекули мали середні або на рівні Прамірацетаму показники (рис. 4.21, табл. 4.6). На рис. 4.24 наведені суперпозиції і діаграми міжмолекулярних взаємодій молекули 3.16і з середнім результатом докінгу (Affinity dG = -7.9 ккал/моль, EDoc = -7.07 ккал/моль, K_i = 6.61 μ M) і

референс-препарату Прамірацетаму для порівняння їх геометричних локацій в сайті.

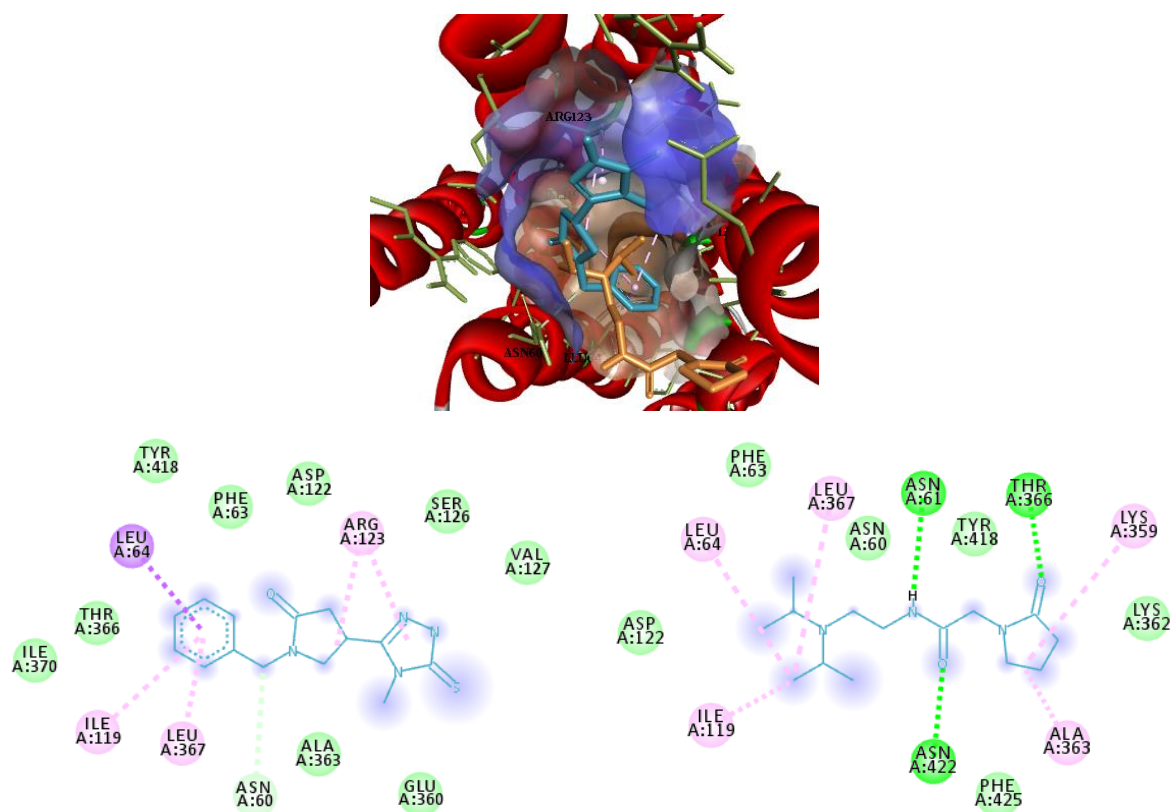


Рис. 4.24 Суперпозиція (центральна панель) молекули 3.16і (блакитна) і Прамірацетаму (оранжева). Діаграми міжмолекулярних взаємодій (ліва панель) молекули 3.16і і Прамірацетаму (права панель) в алостеричному сайті 2 ацетилхолінового мускаринового рецептора. Візуалізація зв'язків показана пунктирними лініями відповідного кольору: сили Вандер Ваальса – світло-зелений; водневі зв'язки – зелений і сірий; π - σ зв'язок – бузковий; π -Alk і Alk взаємодії – рожевий.

Згідно результатів докінгу тестованих молекул відносно ацетилхолінової мускаринової мішені можна припустити, що всі 45 сполук матимуть модулюючий вплив на рецептор через вже відомі алостеричні сайти. Опрацьований масив обчислених цифрових значень стиковки та проведений детальний аналіз геометричного розташування синтезованих сполук в алостеричних сайтах ацетилхолінових рецепторів свідчить, що всі тестовані молекули в якійсь мірі сприятимуть ноотропній активності через механізми холінергічної нейротрансмісії [129-134]. Нами встановлені певні структурно-

біологічні закономірності одержаних похідних, які свідчать, що базовий 1-бензил-піролідин-2-он в поєднанні з 3-тіо-1,2,4-тріазольним каркасом в 4 положенні піролідин-2-ону, можна розглядати як перспективну синтетичну матрицю для створення комбінаторних бібліотек потенційних ноотропів. За результатами молекулярного докінгу запропонована скополамін-індукована амнезія як модель експериментального фармакологічного скринінгу.

З метою оптимізації експериментальних досліджень і виявлення кореляції одержаних результатів *in silico* досліджень та м експериментальних показників для первинного фармакологічного скринінгу були рекомендовані перспективні сполуки з найкращими і посередніми оціночними значеннями докінгу (рис. 4.25, табл 4.8)

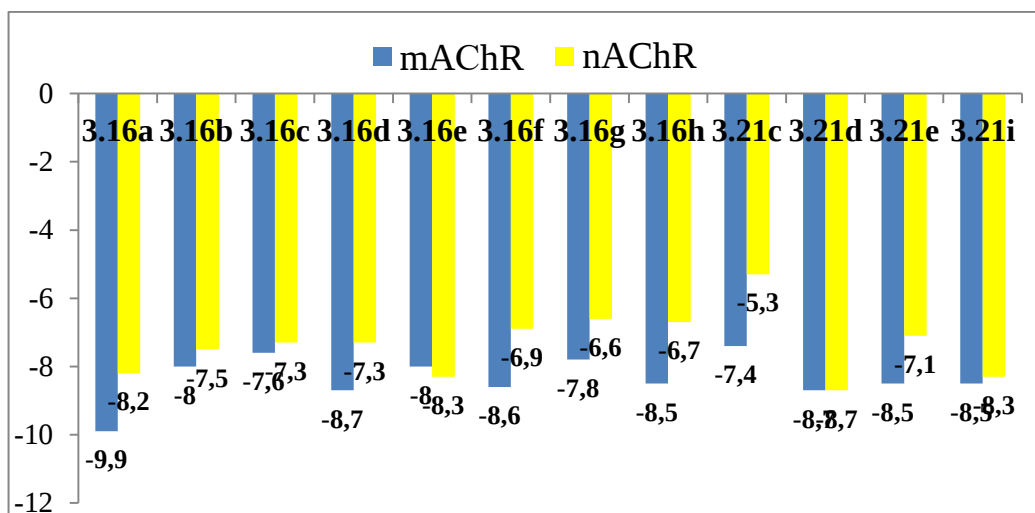


Рис. 4.25 Значення скорингової функції (Affinity DG) перспективних сполук відносно ацетилхолінових рецепторів: *mAChR* (синій) і *nAChR* (жовтий)

Таблиця 4.8

Оціночні значення докінгу перспективних сполук відносно ацетилхолінових рецепторів

Молекула	EDoc ккал/моль	Ki μM	Молекула	EDoc ккал/моль	Ki μM
1	2	3	4	5	6
nAChR			mAChR		
3.16a	-5.96	42.55	3.16a	-7.67	2.38
3.16b	-6.45	18.69	3.16b	-6.58	14.96

1	2	3	4	5	6
3.16c	-5.58	81.36	3.16c	-6.14	31.52
3.16d	-4.87	270.11	3.16d	-7.04	6.96
3.16e	-5.82	54.32	3.16e	-5.73	63.16
3.16f	-5.53	88.70	3.16f	-6.41	20.00
3.16g	-5.24	143.49	3.16g	-5.69	67.70
3.16h	-4.85	279.18	3.16h	-7.59	2.73
3.21c	-4.06	1060	3.21c	-5.75	60.59
3.21d	-6.49	17.48	3.21d	-6.04	37.50
3.21e	-4.30	707.69	3.21e	-6.08	34.79
3.21i	-5.52	89.47	3.21i	-6.66	13.20

4.3 *In silico* дослідження токсичності синтезованих сполук в ряду похідних 4-R-1-бензилпіролідін-2-ону

На етапі впровадження лікарських засобів на фармацевтичний ринок одним із важливих критеріїв є встановлення порогу токсичності та канцерогенності. Лікарські засоби повинні не тільки проявляти високу терапевтичну активність, вони повинні також не мати токсичної побічної дії. Токсичність і канцерогенність є одними з причин невдалого впровадження ліків, тому їх оцінка вже на ранніх етапах впровадження ліків є дуже важливою. Стратегія розвитку експериментальних досліджень токсичності націлена на поступове зменшення кількості дослідів на тваринах та на їх заміну альтернативними методами. Такі методи інтенсивно розробляються та пропонуються вченими та представниками науково-дослідницьких лабораторій фармацевтичної промисловості та біотехнологічними підприємствами [135]. Враховуючи етичні міркування поводження з тваринами, а також вартість експериментальних досліджень токсичності наразі широко використовуються *in silico* методи прогнозування токсичності. Доекспериментальне *in silico* дослідження токсичності нових субстанцій не виключає актуальності досліджень *in vivo*, але має таку суттєву перевагу як економічність. Використання комп'ютерного прогнозування дає змогу заощадити лабораторних тварин, зменшити витрати на

розробку нових препаратів та запропонувати для експериментальних досліджень найменш токсичні сполуки.

Гостру токсичність, перспективних за результатами докінгових досліджень, сполук визначали *in silico* за допомогою онлайн-інструменту pkCSM. Результати прогнозування показали, що доза, яка характеризує гостру токсичність при пероральному прийомі (LD50) для перспективних сполук знаходиться в діапазоні 2.436-3.076 ммоль/кг або 824-1284 мг/кг. Найнижчий рівень побічних ефектів (LOAEL), що спостерігався для більшості сполук становить 1.494-2.518 log мг/кг на добу. Таким чином, ці досліджувані сполуки мають проявляти антиамнестичну дію в дозах, які становлять приблизно 1/10 розрахованого значення LD50, що є прийнятним (табл. 4.9).

Таблиця 4.9

**Значення токсичності (LD50 і LOAEL) для перспективної групи
сполук**

Молекула	Експериментальна доза	LD50	LOAEL
3.16a	94 мг/кг	2.698 ммоль/кг 1081 мг/кг	2.139 log мг/кг
3.16b	87 мг/кг	2.616 ммоль/кг 969 мг/кг	2.436 log мг/кг
3.16c	96 мг/кг	2.436 ммоль/кг 1000 мг/кг	2.075 log мг/кг
3.16d	94 мг/кг	2.705 ммоль/кг 1079 мг/кг	2.277 log мг/кг
3.16e	84 мг/кг	2.805 ммоль/кг 1005 мг/кг	2.026 log мг/кг
3.16f	82 мг/кг	2.47 ммоль/кг 865 мг/кг	2.45 log мг/кг
3.16g	71 мг/кг	2.726 ммоль/кг 824 мг/кг	2.452 log мг/кг
3.16h	74 мг/кг	2.687 ммоль/кг 845 мг/кг	2.518 log мг/кг
3.21c	87 мг/кг	2.732 ммоль/кг 1009 мг/кг	1.676 log мг/кг
3.21d	94 мг/кг	3.076 ммоль/кг 1223 мг/кг	1.494 log мг/кг
3.21e	100 мг/кг	2.935 ммоль/кг 1249 мг/кг	2.011 log мг/кг
3.21i	98 мг/кг	3.075 ммоль/кг 1284 мг/кг	1.497 log мг/кг

Більш детальна токсикологічна характеристика з визначенням LD 50 *in vivo* є завданням наступного етапу досліджень.

4.4 Вивчення ноотропної активності перспективної групи сполук

Експериментальний скринінг на ноотропну активність проводили на базі Навчально-наукового інституту прикладної фармації Національного фармацевтичного університету. Для фармакологічного скринінгу обрана базовою модель скополамін-індукованої амнезії для вивчення впливу речовин на формування та відтворення пам'ятного сліду у тесті умовного рефлексу пасивного уникнення (УРПУ). Тест умовної реакції пасивного уникнення є основною фармакологічною моделлю для вивчення впливу речовин на консолідацію та відновлення пам'яті як одного із проявів ноотропної активності. Тест полягає у реєстрації вихідного латентного часу входу з освітленого майданчика в затемнену камеру, де тварини зазнають електробільового подразнення (процедура навчання), і латентного часу через 24 години після навчання. Що більше латентний час входу після навчання, то краще тварина пам'ятає про небезпеку. Якщо тварина не входить у затемнену камеру протягом 3 хвилин, її вважають такою, що досягла критерію навченості.

Оцінку ноотропної активності визначали кількістю тварин, які досягли критерію навчання та за значеннями антиамнестичної активності.

Для визначення впливу досліджуваної речовини та пірацетаму на I фазу пам'яті (процес отримання та первинної обробки інформації) у мишей моделювали амнезію скополаміном у дозі 1,5 мг/кг внутрішньочеревинно (в/о). Скополамін вводили за 20 хвилин до тренування (електроподразнення стопи після переходу в темний відсік). На другий день, через 24 години після тренування, перевіряли збереження пам'ятного сліду. Реєстрували латентний час входу в темний відсік і визначали кількість (відсоток) тварин, які досягли критерію навченості.

Антиамнестичну активність (АА) розраховували за модифікованою формулою Баттлера (див розділ 2, формула 2.1).

Результати дослідження впливу перспективних 1-бензил-4-(4-(R)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідин-2-онів та амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідин-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1*H*-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти на поведінку мишей у тесті пасивного уникнення наведені в таблиці 4.10 [87, 134].

Таблиця 4.10

Ноотропна активність перспективної групи сполук

Група, n	Затримка передачі, сек			% тварин, які досягли критерію навченності		АА, %
	вихідний (1-й день)	тест на збереження (через 24 години)	різниця	абсолютна	%	
1	2	3	4	5	6	7
контроль навчання (n=6)	38.50±6.25	180.00±0.00	141.50±6.25	6/6	100	—
контроль амнезії (скополамін, 1,5 мг/кг) (n=6)	68.83±15.54	153.00±14.59*	84.16±15.23*	2/6	33.33** &	—
Пірацетам, 300 мг/кг (n=6)	47.17±13.08	159.66±20.33	112.50±20.10	5/6	83.33#	49.39
3.16e, 84 мг/кг (n=6)	70.33±10.63	173.33±6.67	103.00±8.74*	5/6	83.33#	32.84
3.16f, 82 мг/кг (n=6)	48.67±7.083	151.83±28.17	103.17±26.26	5/6	83.33#	33.12
3.16c, 96 мг/кг (n=6)	61.50±11.33	138.33±29.46	76.83±27.18	4/6	66.67*	-12.80
3.16 a, 94 мг/кг (n=6)	52.00±12.59	148.50±25.96	96.50±21.38*	4/6	66.67*	21.51
3.16g, 71 мг/кг (n=6)	52.83±17.43	107.17±33.43	54.33±44.68	3/6	50.00**	-52.03
3.16 b, 87 мг/кг (n=6)	30.00±3.71	98.83±36.38	68.83±37.77	3/6	50.00**	-26.76
3.16d, 94 мг/кг (n=6)	56.33±10.14	135.67±25.64	79.33±26.99	3/6	50.00**	-8.42
3.16h, 74 мг/кг (n=6)	54.33±10.12	101.33±29.69*	47.00±34.92	2/6	33.33** &	-64.84

1	2	3	4	5	6	7
3.21с, 87 мг/кг (n=6)	41.67±8,16	152.50±27,50	110.83±28,17	5/6	83.33#	46.50
3.21d, 94 мг/кг (n=6)	34.83±3.60	180,00±0.00#	145.17±3.60 ##	6/6	100##	106.40
3.21e, 100 мг/кг (n=6)	47.33±9.59	135.33±29.58	88.00±23.91*	4/6	66.67*	6.68
3.21, 98 мг/кг (n=6)	41.17±8.36	98.33±34.80*	57,17±28.91*	2/6	33.33** &	-47.11

Примітки:

1. n – кількість тварин;
2. AA – антиамнестична активність;
3. * – $p < 0,05$;
4. ** – $p < 0,01$ у порівнянні з контролем;
5. # – $p < 0,05$;
6. ## – $p < 0,01$ у порівнянні з контролем амнезії;
7. & – $p < 0,05$ порівняно з пірацетамом.

Як і очікувалося, здатність до навчання була порушена при амнезії, викликаній скополамином: на 66,6% менше мишей порівняно з контролем ($p < 0,01$) досягли критерію навчання, тоді як цей показник був успішно досягнутий усіма тваринами контрольної групи. У групі препарату порівняння пірацетам критерію навченості досягли 83,33% мишей, що на 50% більше, ніж у групі контролю амнезії ($p < 0,05$), а антиамнестична активність (AA) становила 49,4 %.

Речовини 3.16b, 3.16d, 3.16g, 3.16h не показали позитивного впливу на пам'ять. Речовини, такі як 3.16a, 3.16с, показали помірну здатність покращувати пам'ять, яка не досягла статистичної значущості для різниці між затримкою передачі на 1 і 2 дні та кількістю навчених тварин відносно групи контролю амнезії. Статистично достовірно 50 % тварин більше, ніж у групи контролю амнезії, досягли критерію навчання для речовин 3.16e, 3.16f ($p < 0,05$), цей

критерій знаходиться на рівні для речовин і пірацетаму, але критерій АА менший порівняно з референтним ноотропом на 2.9% і 16.5% відповідно. Примітно, що АА сполуки 3.16а має позитивне значення, яке менше АА абсолютного попадання лише на 11.6%.

Речовини 3.21e, 3.21i не показали позитивного впливу на пам'ять. Статистично достовірно 50 % тварин більше, ніж у групи контролю амнезії, досягли критерію навчання для речовини 3.21с ($p < 0,05$), цей критерій та критерій АА знаходиться на рівні для речовини і пірацетаму. За критеріями навчання та АА речовина 3.21d перевищувала показники референс препарату Пірацетаму більше ніж у 2 рази. Досліджувана сполука повністю усунула амнезувальний ефект скополаміну: критерію навченості досягли 100% тварин, АА становила 106.4%.

Зіставлення отриманих даних дає підставу для висновку, що синтезована речовина 1-бензил-4-{4-[2-оксо-2-(піперидин-1-іл)етил]-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл}піролідин-2-он 3.21d (рис. 4.26) за критеріями навчання та антиамнестичній активності перевищувала показники референс препарату Пірацетаму більше ніж у 2 рази і є перспективною для подальших досліджень [134].

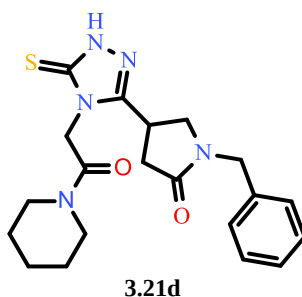


Рис. 4.26 Структура сполуки-хіта 3.21d (1-бензил-4-{4-[2-оксо-2-(піперидин-1-іл)етил]-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл}піролідин-2-он)

Аналіз та співставлення отриманих значень докінг-досліджень та експериментальних результатів свідчать про наявність позитивної кореляції. Але деякі сполуки показали помірну спорідненість до досліджуваних мішеней, яка не мала прямої кореляції з результатами фармакологічного скринінгу. Це

можна пояснити відсутністю чітких молекулярних механізмів дії ноотропного ефекту, оскільки багато ноотропів цього ряду, крім рецепторних і синаптичних процесів, впливають на інші ланки і здійснюють неспецифічні ефекти. Тому важко співвіднести результати експериментального скринінгу з результатами обчислень на обраних цілях. Це можна пояснити тим, що молекули-мішені об'єднуються в структурі фармакофорних груп різної електронної природи у відповідних позиціях піролідинового каркасу, таке поєднання безпосередньо впливає на можливість виникнення міжмолекулярних зв'язків в активних центрах за рахунок енергетичної позиції, яка призведе до спорідненості з точки зору комп'ютерного моделювання.

4.5 Прогнозування фармакокінетичного профілю перспективної сполуки 3.21d

Загально відомо, що метою цілеспрямованого синтезу є не тільки одержання сполук з високою біологічною активністю, не менш важливою проблемою є пошук сполук з оптимальними фармакокінетичними параметрами їх біотрансформації в організмі людини. Використання комп'ютерного прогнозування може допомогти мінімізувати ризики, пов'язані з вірогідним поганим фармакокінетичним профілем нових сполук. Обчислювальні підходи *in silico* пропонують ефективний з точки зору витрат і затрат часу підхід для швидкого скринінгу та оптимізації фармакокінетичних і токсичних властивостей потенційних кандидатів в ліки [136].

Фармакокінетичні характеристики або «ADMET» параметри (абсорбція-розподіл-метаболізм-виведення-токсичність) потрібно брати до уваги саме на ранніх етапах впровадження препарату, враховуючи, що його успіх на фармацевтичному ринку, в певній мірі, визначають саме його фармакокінетичні властивості. Наразі прогнозування «ADMET» параметрів на ранній стадії розробки ліків значно скоротило кількість сполук, які в подальшому відбраковувались у клінічних випробуваннях через поганий фармакокінетичний профіль [137].

In silico прогнозування ADME полягає в тому, щоб точно спрогнозувати *in vivo* фармакокінетичні характеристики нової сполуки у людей, використовуючи лише віртуальну структуру. Фармацевтичний прогрес постійно підвищує потребу в точних методологіях для прогнозування фармакокінетичних характеристик перспективних субстанцій. Існує багато онлайн сервісів, які можуть всебічно характеризувати фармакокінетичний профіль нової сполуки. Одним із них є програмний пакет pkCSM, який використовує підхід для прогнозування фармакокінетичних властивостей, заснований на сигнатурах на основі графів [138]. Як свідчать дані літератури, за допомогою регресійного аналізу встановлено, що кожна модель pkCSM має досить велику кореляцію предикторів ADME з експериментальними даними. У програмному пакеті pkCSM існує 20 предикторів, які розділені за групами: 7 предикторів оральної біодоступності, абсорбції, здатності до всмоктування через шлунково-кишковий тракт, 4 предиктори об'єму розподілу, 7 предикторів здатності метаболізуватися печінковими ферментами CYP450 та 2 предиктори екскреції.

Програмний пакет admetSAR розраховує велику кількість предикторів і його також можна використовувати з аналогічною метою розрахування фармакокінетичних параметрів. Для достовірної оцінки потенційного фармакокінетичного профілю перспективної субстанції нами використані дані розрахунків фармакокінетичних параметрів, одержані з використанням двох програм. Результати розрахунків обох програм порівняні між собою.

Параметри абсорбції молекул мають особливо велике значення для хімічних сполук, які повинні впливати на центральну нервову систему, оскільки в основі дії нейротропних засобів лежить здатність до проникнення крізь гемато-енцефалічний бар'єр, а також можливість взаємодії з медіаторами та рецепторами. В основі цієї взаємодії лежать хімічні процеси, які залежать від фізичних та хімічних властивостей сполук [139]. Одержані значення предикторів абсорбції, за результатами двох програм, представлені в таблиці 4.11. Розчинність у воді є суттєвим фізико-хімічним фактором, який впливає на

всмоктування препарату після його перорального введення. Розчинність у воді при 25°C ($\log(S_w)$) повинна мати оптимальне значення від 0 до -8. Значення для досліджуваної сполуки 3.21d входить в допустимий інтервал і свідчить про перспективність сполуки (табл. 4.11).

Проникність і розчинність є двома основними детермінантами шлунково-кишкового всмоктування ліків. Низька розчинність обмежує абсорбцію і спричиняє низьку біодоступність. Результати розрахунків показали, що сполука 3.21d буде добре абсорбуватися при пероральному введенні (близько 99 %). Згідно з даними сервісу pkCSM, оптимальним вважається прогнозований показник кишкової абсорбції людини $> 60\%$. Він важливий для вибору потенційних кандидатів в лікарські засоби та прогнозування його доз (табл. 4.11).

Таблиця 4.11

Предиктори абсорбції синтезованої сполуки 3.21d

Назва показника (одиниця виміру)	Прогнозоване значення за результатами програми Категорія (Так/Ні)	
	pkCSM	admetSAR
Розчинність у воді $\log$ mol/L	-3.54	-3.12
Сасо2 проникність $\log$ P_{app} 10^{-6} см/с	0.64	0.64
Всмоктування в кишечнику (людина) %	99.5	99.0
Константа проникності шкіри $\log K_p$	-2.78	-
Р-глікопротеїн субстрат	Так	Так
Р- глікопротеїн I інгібітор	Ні	Ні
Р- глікопротеїн II інгібітор	Ні	Ні

Кишковик є основним місцем всмоктування пероральних ліків. Клітини Сасо-2 є різновидом клітинної лінії колоректального раку. У доклінічних

дослідженнях модель Сасо-2 вимірюється показником $\log P_{app}$ і використовується для прогнозування проникності субстанції крізь шлунково-кишковий тракт [140]. Базуючись на властивостях тонкої кишки людини, ця модель експресує ентероцити, транспортери, ферменти цитохрому P450 і мікроворсинки [141]. Проникність Сасо-2 сполуки є високою, якщо її $\log P_{app}$ більше ніж 8×10^{-6} см/с. Для нашої сполуки значення цього показника повністю співпадає за розрахунками обох програм і не є високим (0.64×10^{-6} см/с) (табл. 4.11).

Шкіра служить бар'єром між внутрішнім і зовнішнім середовищем тіла. Якості та ознаки шкіри можуть змінюватись і впливати на розподіл ліків. Константа проникності шкіри $\log K_p$ (см/год) виражає ймовірність сполуки бути проникною для шкіри [142]. Відповідно до отриманих результатів, особливостями абсорбції досліджуваної сполуки 3.21d є те, що:

- речовина придатна для перорального введення і буде мати добру здатність абсорбуватися і всмоктуватися через кишечник людини;
- речовина непридатна для трансдермального введення, оскільки незначно проникає у шкіру.

P-Глікопротеїн (P-gr) є важливим структурним компонентом клітинних мембран, транспортним білком. Він здійснює переважно транспортну функцію, в основному, транспорт гідрофобних речовин та іонів металів. Хімічні речовини, які здатні блокувати транспортування P- глікопротеїнів gr I і gr II називають інгібіторами P-глікопротеїнів gr I/II. Інгібування P-gr I або P-gr II може забезпечити терапевтичні переваги або призвести до протипоказань. За даними прогнозування сполука 3.21d може бути P-глікопротеїн субстратом і вірогідно не буде інгібітором P-Глікопротеїну.

Порівняння результатів розрахунків предикторів абсорбції двома програмами, свідчить, що одержані результати повністю збігаються між собою. Виняток складає тільки константа проникності шкіри ($\log K_p$). Цей предиктор не розраховується програмою admetSAR, тому немає можливості порівняти значення.

Друга група важливих предикторів – це предиктори розподілу лікарського засобу в організмі людини. Один із показників розподілу лікарського засобу в організмі – об'єм розподілу VD_{ss} – розраховується шляхом ділення загальної концентрації ліків на концентрацію препарату в плазмі в стабільному стані. Порівняння результатів розрахунків розподілу двома програмами, свідчить, що ті показники, які є загальними за результатами двох програм, а саме проникність крізь ЦНС та крізь ГЕБ, майже повністю збігаються між собою. Предиктор об'єму розподілу не розраховується програмою admetSAR, тому немає можливості порівняти значення.

За допомогою веб-сервера pkCSM ми прогнозували ступінь зв'язування з білками плазми («Фракція не зв'язана з білками», Fraction unbound human) тестованої молекули. Ступінь зв'язування з білками плазми впливає на ефективність ліків шляхом впливу на об'єм розподілу лікарської речовини, що в клініці виражається швидкістю настання терапевтичного ефекту. Незв'язана з білком фракція сполуки обумовлює її здатність проходити через клітинну мембрану, і тим самим забезпечує ефективність ліків [143]. Згідно даних прогнозу, для сполуки прогнозується оптимальна ступінь зв'язування з білками плазми 0.565 (вища ніж 50%). Програмою admetSAR, навпаки, розраховується предиктор «Фракція зв'язана з білками». Показники відрізняються.

Одержані результати розрахунків предикторів розподілу, що видані двома програмами, представлені в таблиці 4.12.

Таблиця 4.12

Предиктори розподілу синтезованої сполуки 3.21d

Назва показника (одиниця виміру)	Прогнозоване значення за результатами програми	
	pkCSM	admetSAR
VD_{ss} об'єм розподілу log L/kg	0.275	-
Фракція не зв'язана з білками Фракція зв'язана з білками	0.565	0.89
BBB (ГЕБ) проникність log BB	0.29	0.28
CNS (ЦНС) проникність log PS	-2.83	-

Згідно представлених в таблиці 4.12 результатів, сполука 3.21d буде помірно розподілятися в організмі, викликаючи повільне настання ефекту; не буде швидко елімінувати і ефект буде зберігатися тривалий час.

Мозок захищений від екзогенних сполук гематоенцефалічним бар'єром. Проникність гематоенцефалічного бар'єру – важливий фактор, що визначає здатність лікарських сполук проникати в тканини головного мозку і впливати на центральну нервову систему. Лікарські засоби, які надають терапевтичну дію на центральну нервову систему, повинні легко долати гематоенцефалічний бар'єр, в той час як препарати, від яких не очікують центральної дії, не повинні проходити через гематоенцефалічний бар'єр, щоб уникнути розвитку побічних ефектів. Тому оцінка здатності нових сполук проходити через гематоенцефалічний бар'єр обов'язково необхідна на ранніх стадіях розробки ліків. Проникність гематоенцефалічного бар'єру $\log BB$ (логарифмічне співвідношення концентрації лікарської речовини в мозку і плазмі) зазвичай вимірюється на моделях *in vivo*. Згідно даних прогнозу програм PkCSM та admetSAR, розрахований показник $\log BB$ для тестованої сполуки дорівнює 0,29 та 0, 28, відповідно. Прогнозоване значення свідчить, що сполука буде мати помірну проникність (показник $\text{LogBB} > -1$) та здатна проходити через гематоенцефалічний бар'єр шляхом пасивної дифузії, що дуже важливо для сполук нейротропної дії [144].

Наступною групою предикторів, які ми розраховували, були предиктори метаболізму. Критично важливим фармакокінетичним параметром є здатність сполуки інгібувати цитохром P450 (ізоформи CYP1A2/CYP2C19/CYP2C9/CYP2D6/CYP). Поява в молекулах субстратів полярних груп в результаті мікросомального окиснення підвищує гідрофільність речовин і забезпечує можливість їх вступу в реакції кон'югації. Тому важливою є оцінка здатності перспективних сполук кандидатів в ліки бути субстратами цитохрому P450. Важливо також своєчасно визначити, чи є надана молекула субстратом CYP2D6/CYP3A4. Велика кількість лікарських препаратів деактивуються цитохромом P450, а деякі, навпаки, можуть бути їм активовані.

Серед близько 30 ізоферментів, що зустрічаються у людини, найбільший внесок в метаболізм ксенобіотиків вносять дві основні ізоформи цитохрому P2D6 (CYP2D6) і цитохром P3A4 (CYP3A4). З одержаних результатів видно, що сполука здатна пригнічувати ферменти CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9 та CYP3A, тому можна прогнозувати, що в організмі вона має тенденцію метаболізуватися ферментом цитохрому P450. Порівняння результатів розрахунків предикторів метаболізму свідчить, що одержані результати повністю збігаються між собою. Виняток складає предиктор CYP3A4 інгібітор. За результатами програми pkCSM нова молекула не може бути CYP3A4 інгібітором, а за результатами сервіса admetSAR, навпаки. Одержані результати розрахунків предикторів метаболізму, що видані двома програмами, представлені в таблиці 4.13.

Таблиця 4.13

Предиктори метаболізму синтезованої сполуки

Назва показника (одиниця виміру)	Прогнозоване значення за результатами програми Категорія (Так/Ні)	
	pkCSM	admetSAR
CYP2D6 субстрат	Так	Так
CYP3A4 субстрат	Так	Так
CYP1A2 інгібітор	Ні	Ні
CYP2C19 інгібітор	Ні	Ні
CYP2C9 інгібітор	Ні	Ні
CYP2D6 інгібітор	Ні	Ні
CYP3A4 інгібітор	Ні	Так

Знання про екскрецію (виведення) речовини з організму важливе для визначення схеми дозування з метою досягнення терапевтичних концентрацій і характеризується загальним кліренсом. Для визначення шляхів виведення тестованої сполуки кандидата в ліки нами кількісно прогнозований загальний кліренс. Загальний кліренс визначається сумою ниркового і непечінкового кліренсу і показує швидкість очищення організму від лікарського препарату. Чим вище значення $\log CL_{TOT}$ (загального кліренсу), тим швидше процес

виведення субстанції. Негативне значення цього показника свідчить про можливість утримання даної речовини в плазмі крові. З таблиці 4.14 видно, що значення загального кліренсу ($\log CL_{TOT}$) для тестованої сполуки має позитивне значення, тому можна прогнозувати швидке виведення її з організму людини. Речовина може бути нирковим субстратом OCT2, а отже, ймовірним шляхом її виведення буде нирковий. Виділяють нирковий і позанирковий кліренси, які відображають виведення лікарської речовини відповідно з сечею та з жовчу. Нирковий транспортер поглинання органічних катіонів 2 (OCT2) має вирішальне значення для розподілу ліків і ниркового кліренсу. При одночасному застосуванні з інгібіторами OCT2 субстрати OCT2 можуть мати негативні побічні ефекти. Одержані результати розрахунків предикторів виведення, що видані двома програмами, представлені в таблиці 4.14

Таблиця 4.14

Предиктори виведення синтезованої сполуки

Назва показника (одиниця виміру)	Прогнозоване значення за результатами програми	
	Категорія (Так/Ні)	
	pkCSM	admetSAR
Загальний кліренс $\log CL_{TOT}$, $\log \text{ ml/min/kg}$	0.102	
Нирковий субстрат OCT2	Ні	Ні
Нирковий OCT2 інгібітор	Так	Так

Дослідження генетичної токсичності та мутагенності обов'язково необхідні при оцінці небезпеки потенційних фармакологічних засобів. Тест Еймса, який використовується в комп'ютерному прогнозуванні, слугує швидким та зручним аналізом для оцінки канцерогенного потенціалу нових сполук. Позитивний тест Еймса вказує на те, що дана хімічна речовина є мутагенною і, відповідно, може діяти як канцероген.

Отримані нами дані розрахунків канцерогенності синтезованої сполуки 3.21d за допомогою двох програм свідчать про негативний результат в тесті Еймса і підтверджують доцільність продовження експериментальних

досліджень.

Порівняння результатів розрахунків «ADMET» параметрів (абсорбція-розподіл-метаболізм-виведення-токсичність) двома програмами свідчить, що одержані результати повністю збігаються між собою. Виняток складають лише декілька значень предикторів, які відрізняються одне від одного.

Підсумовуючи в комплексі отримані результати комп'ютерного прогнозування параметрів «ADMET» для сполуки кандидата в ліки, можна зробити висновок що вона має сприятливі фармакокінетичні властивості та показник токсичності.

Висновки до розділу 4

1. Створений органайзер кристалографічних моделей рецептора N-метил-D-аспартату та ацетилхолінових рецепторів. Проаналізовані та узагальнені всі ланки, які впливають на нейротрансмісію з метою доцільності вибору відповідних доменів рецепторів для зв'язування їх сайтів з синтезованими речовинами.
2. Здійснено докінгові дослідження всіх синтезованих речовин до ноотропних мішеней.
3. Опрацьований масив обчислених цифрових значень стиковки та проведений детальний аналіз геометричного розташування синтезованих сполук в алостеричних сайтах ацетилхолінових рецепторів свідчить, що всі тестовані молекули в різній мірі сприятимуть прояву ноотропної активності через механізми холінергічної нейротрансмісії і не сприятимуть активації/інгібуванню рецептора N-метил-D-аспартату через вже відомі алостеричні центри.
4. За результатами молекулярного докінгу та експериментального фармакологічного скринінгу на моделі скополамін-індукованої амнезії доведена перспективність модифікації 1-бензил-піролідін-2-ону шляхом поєднання з 3-тіо-1,2,4-тріазольним каркасом. Сполуки

одержані шляхом цієї модифікації кислоти показали помірну і високу здатність покращувати пам'ять у тесті умовного рефлексу пасивного уникнення.

5. Проведена оцінка потенційної токсичності перспективних сполук показала, що ці сполуки мають проявляти антиамнестичну дію в дозах, які становлять приблизно 1/10 розрахованого значення LD50, що є прийнятним.
6. Встановлено певні структурно-біологічні закономірності одержаних похідних 1-бензил-піролідін-2-ону, що дає змогу запропонувати ряд рекомендацій щодо цілеспрямованого синтезу потенційних ноотропних засобів.
7. Для подальших поглиблених досліджень рекомендовано 1-бензил-4-{4-[2-оксо-2-(піперидин-1-іл)етил]-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл}піролідін-2-он 3.21d, що має виразну ноотропну (антиамнестичну) активність, яка перевищує показники референс препарату Пірацетаму більше ніж у 2 рази і має сприятливі розраховані *in silico* ADMET- властивості.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Semenets A., Suleiman M., Georgiyants V., Kovalenko S., Kobzar N., Grinevich L., Pokrovskii M., Korokin M., Soldatov V., Bunyatyan V., Perekhoda L. Theoretical justification of a purposeful search of potential neurotropic drugs. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2020. №4 (26). С. 4-17. doi.org/10.15587/2519-4852.2020.210042. (Scopus, quartile 4). (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, обробка й узагальнення результатів, участь у написанні статті).
2. Semenets A. P., Suleiman M. M., Fedosov A. I., Shtrygol S. Yu., Havrylov Ih. O., Mishchenko M. V., Kovalenko S. M., Georgiyants V. A., Perekhoda L. O.

Synthesis, docking, and biological evaluation of novel 1-benzyl-4-(4-(R)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl)pyrrolidin-2-ones as potential nootropic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2022. 244. P. 114823. doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114823 (Scopus, quartile 1). (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, обробка й узагальнення результатів, участь у написанні статті).

3. Перехода Л. О., Семенець А. П., Сулейман М. М., Георгіянц В. А., Коваленко С. М., Штриголь С. Ю., Федосов А. І., Яременко В. Д. 1-Бензил-4-{4-[2-оксо-2-(піперидин-1-іл)етил]-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл}піролідин-2-он, що виявляє ноотропну активність: пат. на корисну модель № 153961 України: МПК C07D 207/26, C07D 249/08, C07D 281/10, C07D 291/04, C07D 295/00, A61P 25/28. № у 2022 04591; заявл. 05.12.2022; опубл. 28.09.2023, Бюл. № 39. (Особистий внесок – патентний пошук, одержання лікарської субстанції та оформлення патенту)
4. Семенець А.П., Маріуца І.О., Сулейман М.М., Георгіянц В.А., Коваленко С.М., Перехода Л.О. Цілеспрямований пошук нових ноотропних агентів в ряду похідних піролідин-2-ону. «Ліки – людині»: сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: Матеріали IV міжнар. наук.-практ. конф., 12-13 березня 2020 р., м. Харків., Т. 2. 2020. С. 499-501.
5. Vedenyev S. V., Semenets A. P., Suleiman M. M., Perekhoda L. O. The use of molecular docking for the rational design of new "drug-like" molecules. *Topical issues of new medicines development*: Матеріали XXVII міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, 8-10 квітня 2020 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2020. С. 22-23.
6. Семенець А. П., Ковальчук В. В., Сулейман М. М., Гриневич Л. А., Кобзарь Н.П., Георгіянц В. А., Коваленко С.Н., Перехода Л. А. *In silico* исследование фармакокинетического профиля производных 1-бензил-4-[4-(г-2-ил)-5-сульфанилиден-4,5-дигидро-1H-1,2,4-триазол-3-

ил]пирролидин-2-она. *Fundamental and applied research in the modern word*: Матеріали V міжнар. наук.-практ. конф., 16-18 грудня 2020 р., м. Бостон, 2020. С. 615-620.

7. Semenets A., Suleiman M., Kobzar N., Grinevich L., Georgiyants V., Kovalenko S., Perekhoda L. Search for new neurotropic agents in a series of alkyl derivatives 1-benzyl-4-[5-(R-sulphanyl)-4-R1- 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl]-2-one. *Results of modern scientific research and development*: Матеріали II міжнар. наук.-практ. конф., 2-4 травня 2021 р., м. Мадрид, 2021. С. 109-112.
8. Semenets A., Suleiman M., Grinevich L., Kobzar N., Kovalenko S., Georgiyants V., Perekhoda L. Synthesis and prediction of nootropic activity of substituted 4-(aminomethyl)-1-benzylpyrrolidin-2-ones. «100 years of success and quality», dedicated to the 100th anniversary of Pharmaceutical Chemistry Department of the National University of Pharmacy: Матеріали міжнар. наук.-практ. симп., 18 жовтня 2021 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2021. С. 35-36.
9. Semenets A., Suleiman M., Perekhoda L. Synthesis and docking studies of new 1-benzyl-4-(4-(R)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl)pyrrolidin-2- ones as potential nootropic agents. *Competition work of «100 years of success and quality», dedicated to the 100th anniversary of Pharmaceutical Chemistry Department of the National University of Pharmacy*: Матеріали міжнар. наук.-практ. симп., 18 жовтня 2021 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2021. С. 12-15.
10. Dedik B., Semenets A., Suleiman M., Grinevich L., Kobzar N., Perekhoda L. The use of docking studies to predict the nootropic effect among 4-(aminomethyl)-1-benzylpyrrolidin-2-one derivatives. *Science innovations and education problems and prospects*: Матеріали II міжнар. наук.-практ. конф., 13-15 січня 2021 р., м. Токіо, 2021. С. 150-154.
11. Maizou E., Semenets A. P., Kobzar N. P. Suleiman M. M. Docking studies of the nootropic effect of new racetams. *Актуальні питання створення нових*

лікарських засобів: Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, 19-21 квітня 2023 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2023. С. 25-27.

12. Семенець А. П., Сулейман М. М., Коваленко С. М., Георгіянц В. А., Перехода Л.О. Синтез та докінгові дослідження ноотропної дії похідних амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-пірролідін-3-іл)-5-тіоксо-1H-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти. *Modern chemistry of medicines*: Матеріали міжнар. internet-конф., 18 травня 2023 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2023. С. 220-221.
13. Перехода Л.О., Сулейман М. М., Семенець А. П. Пошук нових біологічно активних речовин ноотропної дії в ряду бензилзаміщених похідних пірролідін-2-ону. Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2023», 23-24 листопада 2023 року, м. Запоріжжя. З.:ЗДМФУ, 2023. С. 109.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та вирішення наукової задачі щодо молекулярного моделювання та синтезу біологічно активних речовин в ряду похідних 4-R-1-бензилпіролідін-2-ону, визначені оптимальні напрямки структурної модифікації та розроблені препаративні методи їх синтезу. Методами *in silico* прогнозування та експериментального скринінгу підтверджено перспективність пошуку ноотропних речовин в досліджуваному ряду сполук.

1. Теоретично обґрунтовано вибір перспективного об'єкта синтетичних досліджень 1-бензил-4-R-піролідін-2-ону, визначені оптимальні напрямки його хімічної модифікації;
2. Проаналізовані та систематизовані синтетичні підходи одержання заміщених 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідін-2-онів, розроблено декілька альтернативних шляхів одержання та здійснено синтез заміщених 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідін-2-онів;
3. Запропонована препаративна методика одержання заміщених 4-(амінометил)-1-R-бензилпіролідін-2-онів, яка відрізняється екологічністю, підвищеною ефективністю та простотою практичного виконання;
4. Досліджено умови, запропоновано препаративні методики та здійснено синтез похідних 1-бензил-4-(4-R-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл)піролідін-2-ону;
5. Досліджено умови одержання 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідін-3-іл)-5-сульфоніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти та розроблено препаративні методики її амідування;
6. Досліджено спектральні характеристики синтезованих речовин, внаслідок чого за характером ^1H , ^{13}C ЯМР спектрів та даних хромато-мас-спектрометрії доведено будову 45 неописаних в літературі синтезованих речовин, підтверджено повноту перебігу реакції та відсутність домішок вихідних речовин;

7. Запропоновано і опрацьовано *in silico* стратегію раціональних підходів до пошуку нових БАР ноотропної дії, створений органайзер кристалографічних моделей, обрані відповідні домени рецепторів N-метил-D-аспартату та ацетилхолінових рецепторів для проведення докінгових досліджень;
8. На основі результатів проведеного молекулярного докінгу відібрані 12 перспективних сполук, визначені потенційні механізми ноотропної дії для різних груп речовин, запропонована скополамін-індукована амнезія як модель для проведення експериментального фармакологічного скринінгу;
9. Сплановано та проведено фармакологічний скринінг синтезованих речовин, проаналізовано закономірності зв'язку «структура - ноотропна активність» в ряду одержаних сполук;
10. Встановлено певні структурно-біологічні закономірності та обґрунтована перспективність модифікації 1-бензил-піролідін-2-ону шляхом поєднання його з 1,2,4-тріазольним каркасом, запропонований ряд рекомендацій щодо цілеспрямованого синтезу потенційних ноотропних засобів;
11. Для подальших поглиблених досліджень рекомендовано 1-бензил-4-{4-[2-оксо-2-(піперидин-1-іл)етил]-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл}піролідін-2-он 3.21d, що має виразну ноотропну (антиамнестичну) активність, яка перевищує показники референс препарату Пірацетаму більше ніж у 2 рази, має сприятливі, розраховані *in silico* ADMET властивості та не є токсичною.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Pyrrolidine in Drug Discovery: A Versatile Scaffold for Novel Biologically Active Compounds / G. Li Petri et al. *Topics in Current Chemistry*. 2021. Vol. 379, № 5. P. 34. DOI:10.1007/s41061-021-00347-5.
2. Targeting redox-altered plasticity to reactivate synaptic function: A novel therapeutic strategy for cognitive disorder / P. Wang et al. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2021. Vol. 11, № 3. P. 599-608. DOI:10.1016/j.apsb.2020.11.012.
3. Choubey P., Tripathi A., Sharma P., Shrivastava S. Design, synthesis, and multitargeted profiling of N-benzylpyrrolidine derivatives for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2020. Vol. 28, № 22. P. 115721. DOI: 10.1016/j.bmc.2020.115721.
4. Malík M., Tlustoš P. Nootropics as Cognitive Enhancers: Types, Dosage and Side Effects of Smart Drugs. *Nutrients*. 2022. Vol. 14, № 16. P. 3367. DOI: 10.3390/nu14163367.
5. Design, synthesis and biological evaluation of novel 5-(4-chlorophenyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-thiols as an anticancer agent / K. Patel et al. *J Mol Struct*. 2021. Vol. 1231. P. 130000. DOI: 10.1016/j.molstruc.2021.130000.
6. Slivka M., Korol N., Fizer M. Fused bicyclic 1,2,4-triazoles with one extra sulfur atom: Synthesis, properties, and biological activity. *J Heterocycl Chem*. 2020. Vol. 57, № 9. P. 3236-3254. DOI: 10.1002/jhet.4044.
7. Synthesis and antibacterial activity of chalcone derivatives containing thioether triazole / Y.Chen et al. *J Heterocycl Chem*. 2020. Vol. 57, № 3. P. 983-990. DOI: 10.1002/jhet.3755.
8. Giurgea C. Pharmacology of integrative activity of the brain. Attempt at nootropic concept in psychopharmacology. *Actualites Pharmacologiques*. 1972. Vol. 25. P. 115–156. PMID 4541214.
9. Ilieva I., Hook C. J., Farah M. J. Prescription Stimulants' Effects on Healthy Inhibitory Control, Working Memory, and Episodic Memory: A Meta-

analysis. *Journal of Cognitive Neuroscience*. 2015. Vol. 27, № 6. P. 1069–89. DOI:10.1162/jocn_a_00776.

10. Державний формуляр лікарських засобів. Вип. 10 / Ред. кол.: М. Л. Аряєв та ін. Київ, 2018. 1222 с.

11. Фармацевтична енциклопедія / гол. ред. ради та автор передмови В. П. Черних. 3-тє вид., переробл. і доповн. Київ : МОРІОН, 2016. 1190 с.

12. Компендиум 2012 – лекарственные препараты / В. Н. Коваленко и др. ; под ред. В.Н. Коваленко. Киев : Морион, 2012. 2320 с.

13. Ноотропні препарати: чи допоможуть стати розумнішими? URL: <https://mypharmacy.com.ua/ua/blog/Lekarstva-v-nashej-aptechke/Nootropnye-preparaty-pomogut-li-stat-umnee/>.

14. Вереїтинова В. П. Ноотропні препарати. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1271/nootropni-preparati>.

15. Котвіцька А. А., Лобова І. О. Оцінка епідеміологічного стану судинно–мозкових захворювань серед населення України та шляхи його покращення. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2013. № 2. С. 74–80.

16. Swati V. S., Kothari L., Kachhwaha S. Nootropic medicinal plants: Therapeutic alternatives for Alzheimer's disease. *Journal of Herbal Medicine*. 2019. Vol. 17, № 18. P. 1-17. DOI:10.1016/j.hermed.2019.100291.

17. Савельєва, О. В., Шумова Г. С., Владимірова І. М. Аналіз фармацевтичного ринку ноотропних засобів в Україні. *ScienceRise*. 2015. Vol. 11, № 4 (16). P. 30–36. DOI:10.15587/2313-8416.2015.54873.

18. Nootropics: Emergents drugs associated with new clinical challenges / L. Saiz Garcia et al. *European Psychiatry*. 2017. Vol. 41. P. S877-S878. DOI: 10.1016/j.eurpsy.2017.01.1769.

19. Клінічна фармація : підруч. для студентів вищ. навч. закл. / за ред. В. П. Черних, І. А. Зупанець, І. В. Купновицької. Харків : НФаУ, 2013. 912 с.

20. Bagot K. S., Kaminer Y. Efficacy of stimulants for cognitive enhancement in non-attention deficit hyperactivity disorder youth: a systematic review. *Addiction*. Vol. 109, № 4. P. 547-57. DOI: 10.1111/add.12460.
21. Фармакологія: підруч. для студентів мед. ф-тів / І. С. Чекман та ін. ; за ред. проф. І. С. Чекмана. Вид. 4-те. Вінниця : Нова Книга, 2017. 784 с.
22. Nootropics Market Size Global Report, 2022-2030. URL: <https://www.polarismarketresearch.com/industry-analysis/nootropics-market>.
23. Яковлева І. Ю. Експериментальне обґрунтування ефективності метаболічних препаратів за умов дії екстремальних факторів : автореф. дис. здобуття наук. ступеня канд. мед. наук. : спец. : 14.03.05 «Фармакологія». Київ, 2014. 20 с.
24. Racetams: A Class Of Nootropics For Behavior And Cognition. URL: <https://conductscience.com/maze/nootropic-racetam-effects-on-behavior-and-cognition/>.
25. Ноотропні препарати: кому вони показані, чи безпечно їх приймати дітям і чому ноотропи заборонені в США. URL: <https://www.apteka24.ua/uk/blog/zdorove-semi/nootropnye-preparaty-komu-oni-pokazany-bezopasno-li-ikh-prinimat-detyam-i-pochemu-nootropy-zapreshcheny-v-ssha/>.
26. Piracetam. URL: <https://go.drugbank.com/drugs/DB09210>.
27. Presence of Piracetam in Cognitive Enhancement Dietary Supplements / P. A. Cohen et al. *JAMA Internal Medicine*. 2020. Vol. 180, № 3. P. 458–459. DOI:10.1001/jamainternmed.2019.5507.
28. Nootropil Tablets 1200 mg. URL: <https://www.medicines.org.uk/emc/product/2991/smpc#gref>.
29. Role of membrane biophysics in Alzheimer's-related cell pathways / D. Zhu et al. *Frontiers in Neuroscience*. 2015. Vol. 9. P. 186. DOI:10.3389/fnins.2015.00186.
30. Effects of Piracetam as an Adjuvant Therapy on Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled

Trial / A. Kaveh et al. *Iranian Journal of Psychiatry and Behavioral Sciences*. 2021. Vol. 15, № 2. P. e59421. DOI: <https://doi.org/10.5812/ijpbs.59421>.

31. Al Hajeri A., Fedorowicz Z. Piracetam for reducing the incidence of painful sickle cell disease crises. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2016. Vol. 2, № 4. P. CD006111. DOI:10.1002/14651858.

32. Yeo S. H., Lim Z. I., Mao J., Yau W. P. Effects of Central Nervous System Drugs on Recovery After Stroke: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Clinical Drug Investigation*. 2017. Vol. 37, № 10. P. 901–928. DOI:10.1007/s40261-017-0558-4.

33. Effect of piracetam on the cognitive performance of patients undergoing coronary bypass surgery: a meta-analysis / Y. Fang et al. *Exp Ther Med*. 2014. Vol. 7, № 2. P. 429–34.

34. Бурчинський С. Г. Тривога та когнітивні порушення: можливості й критерії вибору фармакотерапії. *Здоров'я України*. 2020. № 1. С. 3-5.

35. Hu S. Oxiracetam or fastigial nucleus stimulation reduces cognitive injury at high altitude. *Brain and Behavior*. 2017. Vol. 7, № 10. P. e00762. DOI:10.1002/brb3.762.

36. Benefits and Harms of ‘Smart Drugs’ (Nootropics) in Healthy Individuals / F. Schifano et al. *Drugs*. 2022. Vol. 82. P. 633–647. DOI:10.1007/s40265-022-01701-7.

37. Benninghoff J., Perneczky R. Anti-Dementia Medications and Anti-Alzheimer's Disease Drugs: Side Effects, Contraindications, and Interactions. *NeuroPsychopharmacotherapy*. 2022. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-56015-1_195-1.

38. Correll W. A Jr. Peak Nootropics LLC aka Advanced Nootropics. 2019. URL: <https://www.fda.gov/inspections-compliance-enforcement-and-criminal-investigations/warning-letters/peak-nootropics-llc-aka-advanced-nootropics>.

39. Shipilova E. M., Nesterovsky Yu. E. The influence of nooclerin on the structure of sleep disturbances in children with tension headaches. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2019. Vol. 119, № 11. P. 41-46.

40. Cohen P. A., Avula B., Khan I. The unapproved drug centrophenoxine, (meclofenoxate) in cognitive enhancement dietary supplements. *Clinical Toxicology*. 2022. Vol. 60, № 10. P. 1156–1158. DOI:10.1080/15563650.2022.2109485.
41. From Molecules to Networks An Introduction to Cellular and Molecular Neuroscience / Ed. by: J. H. Byrne, R. Heidelberger, M. Neal. London : Academic Press, 2014. 675 p.
42. Neurotransmitters as food supplements: the effects of GABA on brain and behavior / E. Boonstra et al. *Front Psychol*. 2015. Vol. 6. DOI:10.3389/fpsyg.2015.01520.
43. Компендиум 2015 – лекарственные препараты / В. Н. Коваленко и др. ; под ред. В.Н. Коваленко. Киев : Морион, 2015. 2448 с..
44. Peterkin Alyssa F., Rohit A., Harris, Miriam T H. A Case of Phenibut Directed Detoxification Leading to Toxicity During the COVID-19 Pandemic. *J Addict Med*. 2022. Vol. 16, № 5. P. 602-605.
45. Nootropics: Emergents drugs associated with new clinical challenges / L. Saiz Garcia et al. *European Psychiatry*. 2017. Vol. 41. P. S877-S878. DOI:10.1016/j.eurpsy.2017.01.1769
46. Інструкція до медичного застосування препарату Гліцин : наказ Міністерства охорони здоров'я України від 13.10.2009. № 739. Реєстраційне посвідчення № UA/2003/01/01. Дата останнього оновлення інструкції: 04.02.2021
47. Influence of The Fixed Combination of Glycine with Thiotriazoline on Energy Metabolism Parameters in Brain in Conditions of Experimental Cerebral Ischemia / L. Kucherenko et al. *J. Fac.Pharm.Ankara*. 2018. Vol. 42, № 1. P. 14–21.
48. Theoretical study of the possibility of glycine with thiotriazoline complexes formation / L. I. Kucherenko et al. *Запорожский медицинский журнал*. 2017. Т. 19, № 5 (104). С. 675–679. DOI:10.14739/2310-1210.2017.5.110232.
49. Cognitive Enhancer Noopept Activates Transcription Factor HIF-1 / L. F. Zainullina et al. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2020. Vol. 494, № 1. P. 256–260. DOI:10.1134/S1607672920050129.

50. Molecular biology of the cell / By John Wilson, Tim Hunt ; 6-th ed. New York : Science Taylor and Francis Group, 2015. 984 p.
51. Principles of neural science / E. R. Kandle et al. 6-th ed. New York : Health Professions Division, 2019. 709 p.
52. The peptide semax affects the expression of genes related to the immune and vascular systems in rat brain focal ischemia: genome-wide transcriptional analysis / E. V. Medvedeva et al. *BMC Genomics*. 2014. Vol. 15. P. 228. DOI:10.1186/1471-2164-15-228.
53. Anele U. A., Morrison B. F., Burnett A. L. Molecular pathophysiology of priapism: Emerging targets. *Current Drug Targets*. 2015. Vol. 16, № 5. P. 474–483.
54. Alok S. Vinay P. Critical review of pyritinol. *Drugs & Therapy Perspectives*. 2019. 35. P. 7439. DOI:10.1007/s40267-019-00623-x.
55. Студенцов Є. П. Адаптогени та споріднені групи лікарських препаратів. 2013 року. URL: <https://belok.ua/blog/ua/adaptogeny-cho-tse-take/>.
56. Фармакологія : навч.-метод. посіб. з позааудиторної та аудиторної роботи здобувачів вищої освіти / С. Ю. Штриголь та ін. ; за ред. проф. С. Ю. Штриголя. Харків : Вид-во НФаУ, 2023. 277 с.
57. Smulevich A. B., Volel B. A., Ternovaya E. S., Nikitina Y. M. Pantogam active (D-, L-hopantenic acid) in the treatment of cognitive and anxiety disorders in patients with arterial hypertension. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S. S. Korsakova*. 2015. Vol. 115, № 12. P. 40-49. DOI:10.17116/jnevro201511511240-49.
58. Медична хімія : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл. / І. С. Гриценко та ін. ; за заг. ред. І. С. Гриценка. Харків : НФаУ : Золоті сторінки, 2017. 552 с.
59. Gok S., Kuzmenko O., Babinskyi A., Severcan F. Vitamin E Derivative with Modified Side Chain Induced Apoptosis by Modulating the Cellular Lipids and Membrane Dynamics in MCF7 Cells. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2021. Vol. 79, № 2. P. 271–87. DOI:10.1007/s12013-020-00961-y.

60. Neuroprotective potential of choline alfoscerate against β -amyloid injury: Involvement of neurotrophic signals / Mariano Catanesi et al. *Cell Biology International*. 2020. Vol. 44, № 8. P. 1734–1744.
61. Aronson J.K. Choline and choline alfoscerate. *Meyler's Side Effects of Drugs (Sixteenth Edition)*. Elsevier. 2016, P. 281. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53717-1.00489-3>.
62. Identification and quantification of vinpocetine and picamilon in dietary supplements sold in the United States / A. Bharathi et al. *Drug Testing and Analysis*. 2016. Vol. 8, № 3–4. P. 334–343. DOI:10.1002/dta.1853.
63. Cohen P. A. Vinpocetine: An Unapproved Drug Sold as a Dietary Supplement. *Mayo Clinic Proceedings*. 2015. Vol. 90, № 10. P. 1455. DOI:10.1016/j.mayocp.2015.07.008.
64. Kirtane M. V., Bhandari A., Narang P., Santani R. Cinnarizine: A Contemporary Review. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*. 2019. Vol. 71, № 2. P. 1060-1068. DOI:10.1007/s12070-017-1120-7.
65. Pharmaceutical Benefits of Ginkgo Biloba (Tree Of Life) / G. Singh¹ et al. *J. of Biomedical and Pharmaceutical Research*. 2013. № 2. P. 15–21.
66. Herbal drugs and natural bioactive products as potential therapeutics: A review on pro-cognitives and brain boosters perspectives / S. Halder et al.. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2021. Vol. 29, № 8. P. 879-907. DOI:10.1016/j.jsps.2021.07.003.
67. Search for angiotensin II receptor antagonists among 4-aryl-n-(aryl)-3-(prop-2-en-1-yl)-2,3-dihydro-1,3-thiazol-2-imine derivatives / I. Drapak et al. *Pharmacia*. 2019. Vol. 66, № 4. P. 181-186. DOI:10.3897/pharmacia.66.e36808.
68. Pires D. E., Blundell T. L., Ascher D. B. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *J Med Chem*. 2015. Vol. 58, № 9. P. 4066-72. DOI:10.1021/acs.jmedchem.5b00104.
69. Sex and Time-of-Day Impact on Anxiety and Passive Avoidance Memory Strategies in Mice / A. B.Meseguer Henarejos et al. *Front Behav Neurosci*. 2020. Vol. 14. P. 68. DOI:10.3389/fnbeh.2020.00068.

70. Radionova K., Belnik A., Ostrovskaya R. The original nootropic drug "Noopept" eliminates memory deficit caused by blockade of M- and N-cholinergic receptors in rats. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2008. Vol. 146, № 1. P. 65–68.
71. Podolsky I., Shtrygol' S. The memory and learning enhancing effects of Atristamine. *Pharmacia*. 2019. Vol. 66, № 1. P. 13-18. DOI:10.3897/pharmacia.66.e35048.
72. He Z., Liao Y., Zheng M., Zeng F. D., Guo L. J. Piracetam improves cognitive deficits caused by chronic cerebral hypoperfusion in rats. *Cellular and molecular neurobiology*. 2008. Vol. 28, № 4. P. 613–627. DOI:10.1007/s10571-007-9165-x.
73. Quertenmont M., Toussaint F., Defrance T., Lam K. Continuous Flow Electrochemical Oxidative Cyclization and Successive Functionalization of 2-Pyrrolidinones. *Organic Process Research & Development*. 2021. Vol. 25, № 12. P. 2631-2638. DOI:10.1021/acs.oprd.1c00188.
74. 2-Pyrrolidinone moiety is not critical for the cognition-enhancing activity of piracetam-like drugs / S. Scapecchia et al. *Farmaco*. 2003. Vol. 58, № 9. P. 715-722. DOI:10.1016/S0014-827X(03)00111-3.
75. Talih F., Ajaltouni J. Probable Nootropicinduced Psychiatric Adverse Effects: A Series of Four Cases. *Innov Clin Neurosci*. 2015. Vol. 12, № 11-12. P. 21-25. PMID: 27222762; PMCID: PMC4756795.
76. Nootropics: Emergents drugs associated with new clinical challenges / L. Saiz Garcia et al. *European Psychiatry*. 2017. Vol. 41. P. S877-S878. DOI:10.1016/j.eurpsy.2017.01.1769.
77. Nootropics use in the workplace: psychiatric and ethical aftermath towards the new frontier of bioengineering / S. Zaami et al. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020. Vol. 24, № 4. P. 2129-2139. DOI:10.26355/eurrev_202002_20393.
78. Alkhzem A., Woodman T., Blagbrough I. Design and synthesis of hybrid compounds as novel drugs and medicines. *RSC Adv*. 2022. Vol. 12, № 30. P. 19470-19484. DOI:10.1039/d2ra03281.

79. Synthesis and antibacterial activity of chalcone derivatives containing thioether triazole / Y. Chen et al. *J Heterocycl Chem.* 2020. Vol. 57, № 3. P. 983-990. DOI:10.1002/jhet.3755.

80. Cascade reactions for constructing heterocycles containing a pyrimidino-pyrazino-pyrimidine core using 1,2,4-triazole scaffolds / M. D. Khomenko et al. *Tetrahedron Letters.* 2019. Vol. 60, № 3926. P. 151089. DOI:10.1016/j.tetlet.2019.151089.

81. Syntheses, in vitro α -amylase and α -glucosidase dual inhibitory activities of 4-amino-1,2,4-triazole derivatives their molecular docking and kinetic studies / E. Oloruntoba Yeye et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* 2020. Vol. 28, № 11. P. 115467. DOI:10.1016/j.bmc.2020.115467.

82. Katsunori Iwasaki, Yoshiaki Matsumoto, Michihiro Fujiwara. Effect of Nebracetam on the Disruption of Spatial Cognition in Rats, Japanese. *Journal of Pharmacology.* 1992. Vol. 58, № 2. P. 117-126. DOI:10.1016/S0021-5198(19)39754-9.

83. A convenient route to 1-benzyl 3-aminopyrrolidine and 3-aminopiperidine / Ludovic Jean et al. *Tetrahedron Letters.* 2001. Vol. 42, № 33. P. 5645-5649. DOI:10.1016/S0040-4039(01)00985-6.

84. Stanetty P., Turner M., Mihovilovic M. Synthesis of Pyrrolo[2,3-d][1,2,3]thiadiazole-6-carboxylates via the Hurd-Mori Reaction. Investigating the Effect of the N-Protecting Group on the Cyclization. *Molecules.* 2005. 10(2). P. 367-375. <https://doi.org/10.3390/10020367>.

85. Synthesis of new β -trifluoromethyl containing GABA and β -fluoromethyl containing N-benzylpyrrolidinones / I. I. Gerus et al. *Journal of Fluorine Chemistry.* 2010. 131. P. 224-228. doi:10.1016/j.jfluchem.2009.11.014.

86. Synthesis and prediction of nootropic activity of substituted 4-(aminomethyl)-1-benzylpyrrolidin-2-ones / A. P. Semenets et al. *100 років успіху та якості : матеріали Міжнар. наук.-практ. симп., присвяч. 100-річчю каф. фармацевт. хім. Нац. фармацевт. ун-ту, м. Харків, 18 жовт. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 35-36.*

87. Synthesis, docking, and biological evaluation of novel 1-benzyl-4-(4-(R)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl)pyrrolidin-2-ones as potential nootropic agents / A. P. Semenets et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2022. Vol. 244. P. 114823. DOI:10.1016/j.ejmech.2022.114823.

88. Цілеспрямований пошук нових ноотропних агентів в ряду похідних піролідін-2-ону / А. П. Семенець та ін. *Ліки - людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали IV Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 12-13 берез. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. Т. 2. С. 499-501.

89. Синтез, будови та фізико-хімічні властивості похідних 4-R-1-бензилпіролідін-2-ону / А. П. Семенець та ін. *Управління якістю в фармації* : матеріали XIV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 22 трав. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 165.

90. Synthesis of new 2,5-disubstituted derivatives of 1,3,4-thiadiazole, containing 1,2,4-triazole fragment / M. Yu Zaari et al. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVII Міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 8-10 квіт. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 26-27.

91. Search for new neurotropic agents in a series of alkyl derivatives 1-benzyl-4 [5-(R-sulphanyl)-4-R1-4,5-dihydro-1H1,2,4-triazol-3-yl]-2-one / A. P. Semenets et al. *Results of modern scientific research and development* : Proceedings of II International Scientific and Practical Conference, Madrid, Spain, 2-4 May 2021. Madrid, 2021. P. 109-112.

92. Semenets A. P., Suleiman M. M., Perekhoda L. O. Synthesis and docking studies of new 1-benzyl-4-(4-(R)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl)pyrrolidin-2-ones as potential nootropic agents. *100 років успіху та якості* : матеріали Міжнар. наук.-практ. симп., присвяч. 100-річчю каф. фармацевт. хім. Нац. фармацевт. ун-ту, м. Харків, 18 жовт. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 12-15.

93. Синтез та докінгові дослідження ноотропної дії похідних амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-піролідін-3-іл)-5-тіоксо-1H-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової

кислоти / А. П. Семенець та ін. *Modern chemistry of medicines* : матеріали міжнар. internet-конф., м. Харків, 18 трав. 2023 р. Харків : НФаУ, 2023. С. 220-221.

94. Winblad B. Piracetam: a review of pharmacological properties and clinical uses. *CNS Drug Rev.* 2005. Vol. 11, № 2. P. 169–182. DOI: 10.1111/j.1527-3458.2005.tb00268.x.

95. Aniracetam reversed learning and memory deficits following prenatal ethanol exposure by modulating functions of synaptic AMPA receptors / J. Vaglenova et al. *Neuropsychopharmacology.* 2008. Vol. 33. P. 1071–1083. DOI: 10.1038/sj.npp.1301496.

96. Ahmed A. H., Oswald R. E. Piracetam Defines a New Binding Site for Allosteric Modulators of alpha-Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic Acid (AMPA) Receptors. *J Med Chem.* 2010. Vol. 53. P. 2197-2203. DOI: 10.1021/jm901905j.

97. Li F., Tsien J. Z. Memory and the NMDA receptors. *The New England Journal of Medicine.* 2009. Vol. 361, № 3. P. 302–303. DOI:10.1056/NEJMcibr0902052. PMC 3703758. PMID 19605837.

98. Positive N-Methyl-D-Aspartate Receptor Modulation by Rapastinel Promotes Rapid and Sustained Antidepressant-Like Effects / J. E. Donello et al. *International Journal of Neuropsychopharmacology.* Vol. 22, № 3. P. 247–259. DOI:10.1093/ijnp/pyy101.

99. Karakas E., Simorowski N., Furukawa H. Subunit arrangement and phenylethanolamine binding in GluN1/GluN2B NMDA receptors. *Nature.* 2011. Vol. 475, № 7355. P. 249–253. DOI:10.1038/nature10180.

100. Evolutionary mode and functional divergence of vertebrate NMDA receptor subunit 2 genes / H. Teng et al. *PLOS ONE.* Vol. 5, № 10. P. e13342. Bibcode:2010PLoSO...513342T. DOI:10.1371/journal.pone.0013342.

101. Bunk E. C., König H. G., Prehn J. H., Kirby B. P. Effect of the N-methyl-D-aspartate NR2B subunit antagonist ifenprodil on precursor cell

proliferation in the hippocampus. *Journal of Neuroscience Research*. 2014. Vol. 92, № 6. P. 679–691. DOI:10.1002/jnr.23347.

102. Mechanism of NMDA Receptor Inhibition and Activation / S. Zhu et al. *Cell*. 2016. Vol. 165, № 3. P. 704-714. DOI:10.1016/j.cell.2016.03.028.

103. Хижняк А.А., Курсов С.В. Участие возбуждающих аминокислотных транмиттеров в механизмах нейро деструкции и перспективные методы патогенетической коррекции. *Біль, знеболювання, інтенсивна терапія*. 2003. №1. С. 43-46.

104. Wu Q., Tymianski M. Targeting NMDA receptors in stroke: new hope in neuroprotection. *Mol Brain*. 2018. 11(1). Doi: 10.1186/s13041-018-0357-8.

105. Paoletti P., Bellone C., and Zhou Q. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat. Rev. Neurosci*. 2013. 14. P. 383-400.

106. Popescu G. K., Murthy S., Borschel W.F. Allosteric Inhibitors of NMDA Receptor Functions. *Pharmaceuticals*. 2010. 3. P. 3240-3257.

107. Shujia Zhu, Pierre Paoletti. Allosteric modulators of NMDA receptors: multiple sites and mechanisms. *Current Opinion in Pharmacology*. 2015. 20. P. 14-23. Doi:10.1016/j.coph.2014.10.009.

108. No association between Cholinergic Muscarinic Receptor 2, № CHRM2) genetic variation and cognitive abilities in three independent samples / P. A. Lind et al. *Behavior Genetics*. 2009. Vol. 39, № 5. P. 513–523. DOI:10.1007/s10519-009-9274-z.

109. $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor signaling inhibits inflammasome activation by preventing mitochondrial DNA release / B. Lu et al. *Molecular Medicine*. 2014. Vol. 20, № 1. P. 350–8. DOI:10.2119/molmed.2013.00117.

110. Are nicotinic acetylcholine receptors coupled to G proteins? / N. Kabbani et al. *BioEssays*. 2013. Vol. 35, № 12. P. 1025–34. DOI:10.1002/bies.201300082.

111. Jones C., Byun N. & Bubser M. Muscarinic and Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonists and Allosteric Modulators for the Treatment of

Schizophrenia. *Neuropsychopharmacol.* 2012. 37. P. 16-42.
DOI:10.1038/npp.2011.199.

112. Structure-Function of Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor Inhibitors Derived From Natural Toxins. *Front. Neurosci* / N. T. Thao et al. *Sec. Neuropharmacology*. 2020. 14. P. 1-23 DOI: 10.3389/fnins.2020.609005

113. Rodent habenulo-interpeduncular pathway expresses a large variety of uncommon nAChR subtypes, but only the $\alpha 3\beta 4^*$ and $\alpha 3\beta 3\beta 4^*$ subtypes mediate acetylcholine release / S.R. Grady et al. *J. Neurosci.* 2009. 29. P. 2272-2282.

114. $\alpha 3\beta 4$ Nicotinic acetylcholine receptors in the medial habenula modulate the mesolimbic dopaminergic response to acute nicotine in vivo / S.E. McCallum et al. *Neuropharmacology*. 2012. 63. P. 434-440.

115. Agonist Selectivity and Ion Permeation in the $\alpha 3\beta 4$ Ganglionic Nicotinic Receptor / A. Gharpure et al. *Neuron*. 2019. Vol. 104, № 3. P. 501. DOI:10.1016/j.neuron.2019.07.030

116. Hurst R., Rollema H., and Bertrand D. Nicotinic acetylcholine receptors: From basic science to therapeutics. *Pharmacol. Ther.* 2013. 137. P. 22-54. DOI:10.1016/j.pharmthera.2012.08.012

117. Mammalian Nicotinic Acetylcholine Receptors: From Structure to Function / E. X. Albuquerque et al. *Physiol Rev.* 2009. 89(1). P. 73-120. DOI: 10.1152/physrev.00015.2008

118. Changeux J.P. The nicotinic acetylcholine receptor: a typical ‘allosteric machine’. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 2018. 373. 20170174. DOI: 10.1098/rstb.2017.0174

119. Differential Muscarinic Modulation in the Olfactory / R. S. Smith et al. *Journal of Neuroscience*. 2015. Vol. 35, № 30. P. 10773–10785. DOI:10.1523/JNEUROSCI.0099-15.2015.

120. Comparison of recovery profiles in patients with Parkinson's disease for 2 types of neuromuscular blockade reversal agent following deep brain stimulator implantation / Y.S. Park et al. *Medicine (Baltimore)*. 2019. 98(52). P. e18406.

121. Crystal structures of the M1 and M4 muscarinic acetylcholine receptors / D. M. Thal et al. *Christopoulos, A.* 2016. Vol. 531. P. 335-340. DOI: 10.1038/nature17188.
122. Kobilka, B., Gautam, D. та ін. Muscarinic acetylcholine receptors: novel opportunities for drug development / A. Kruse et al. *Nat Rev Drug Discov.* 2014. 13. P. 549-560. DOI:10.1038/nrd4295
123. Changeux J.P. The concept of allosteric modulation: an overview. *Drug Discov. Today Technol.* 2013. 10. P. e223- e228. Doi:10.1016/j.ddtec.2012. 07.007
124. Pinzi L., Rastelli G. Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery. *International Journal of Molecular Sciences.* 2019. Vol. 20, № 18. P. 4331. DOI:10.3390/ijms2018433.
125. Tripathi A., Bankaitis V.A. Molecular docking: From lock and key to combination lock. *Journal of Molecular Medicine and Clinical Applications.* 2017. Vol. 2, № 1. P. 10. DOI:10.16966/2575-0305.106.
126. Molecular docking and structure-based drug design strategies / L. Ferreira et al. *Molecules.* 2015. Vol. 20, № 7. P. 13384–13421. DOI:10.3390/molecules200713384.
127. Lensink M. F., Mendez R., Wodak S. J. Docking and scoring protein complexes: CAPRI 3rd ed. *Proteins.* 2007. Vol. 69, № 4. P. 704-718. DOI:10.1002/prot.21804.
128. Cournia Z., Allen B. K., Beuming T. Rigorous free energy simulations in virtual screening. *Journal of Chemical Information and Modeling.* 2020. Vol. 60, № 9. P. 4153-4169. DOI:10.1021/acs.jcim.0c00116.
129. Theoretical justification of a purposeful search of potential neurotropic drugs / A. Semenets et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2020. № 4, № 26. С. 4-17. DOI:10.15587/2519-4852.2020.210042.
130. Vedenyev S. V., Semenets A. P., Suleiman M. M., Perekhoda L. O. The use of molecular docing for the rational design of new "drug-like" molecules. *Topical issues of new medicines development* : матеріали XXVII міжнар. наук.-практ.

конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 8-10 квіт. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 22-23.

131. The use of docking studies to predict the nootropic effect among 4-(aminomethyl)-1-benzylpyrrolidin-2-one derivatives / B. Dedik et al. *Science, innovations and education: problems and prospects* : Proceedings of VI International Scientific and Practical Conference, Tokyo, Japan, 13-15 January 2022. Tokyo, 2022. P. 150-154.

132. Maizou E., Semenets A. P., Kobzar N. P. Suleiman M. M. Docking studies of the nootropic effect of new racetams. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, м. Харків, 19-21 квіт. 2023 р. Харків : НФаУ, 2023. С. 25-27.

133. In silico исследование фармакокинетического профиля производных 1-бензил-4-[4-(г-2-ил)-5-сульфанилиден-4,5-дигидро-1Н-1,2,4-триазол-3-ил]пирролидин-2-она / А. П. Семенец та ін. *Fundamental and applied research in the modern world* : Abstracts of V International Scientific and Practical Conference, Boston, USA, 16-18 December 2020. Boston, 2020. P. 615-620.

134. Перехода Л. О., Семенець А. П., Сулейман М. М., Георгіянц В. А., Коваленко С. М., Штриголь С. Ю., Федосов А. І., Яременко В. Д. 1-Бензил-4-{4-[2-оксо-2-(піперидин-1-іл)етил]-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1Н-1,2,4-триазол-3-іл}піролідін-2-он, що виявляє ноотропну активність: пат. на корисну модель № 153961 України: МПК С07D 207/26, С07D 249/08, С07D 281/10, С07D 291/04, С07D 295/00, А61Р 25/28. № у 2022 04591; заявл. 05.12.2022; опубл. 28.09.2023, Бюл. № 39.

135. In silico ADMET properties of quinine derivatives using SwissADME and pkCSM Webservers / J.G.M. Mvondo et al. *Int. J. Trop. Dis. Health*. 2021. 42 (11). P. 1-12.

136. In silico methods and tools for drug discovery / B. Shaker et al. *Comput. Biol. Med.* 2021. 137. P. 104851.

137. In silico strategies to support fragment-to-lead optimization in drug discovery / L.R. Souza Neto et al. *Front. Chem.* 2020. 8. P. 93.

138. Фармакокінетичні властивості. URL: <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsim/prediction> для прогнозування ADME та токсичності сполук.

139. Solid dispersion: A technology for improving aqueous solubility of drug / D. Tripathy et al. *J. Pharm. Adv. Res.* 2019. 2(7). P. 577-586.

140. Awortwe C., Fasinu P.S., Rosenkranz B. Application of Caco-2 cell line in herb-drug interaction studies: Current approaches and challenges. *J. Pharm. Pharm. Sci.* 2014. 17(1). P. 1-19.

141. Phenolic compounds from *Actinidia deliciosa* leaves: Caco-2 permeability, enzyme inhibitory activity and cell protein profile studies / J. Henriques et al. *J. King Saud Univ., Sci.* 2018. 30(4). P. 513-518.

142. Predicting skin permeability by means of computational approaches: Reliability and caveats in pharmaceutical studies / B. Pecoraro et al. *J. Chem. Inf. Model.* 2019. 59 (5). P. 1759-1771.

143. 1, 25-D3 protects from cerebral ischemia by maintaining BBB permeability via PPAR- γ activation / T. Guo et al. *Front. Cell. Neurosci.* 2018. 12. P. 480.

144. Increased BBB permeability enhances activation of microglia and exacerbates loss of dendritic spines after transient global cerebral ischemia / F. Ju et al. *Front. Cell. Neurosci.* 2018. 12. P. 236.

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

Список публікацій здобувача

1. Semenets A., Suleiman M., Georgiyants V., Kovalenko S., Kobzar N., Grinevich L., Pokrovskii M., Korokin M., Soldatov V., Bunyatyan V., Perekhoda L. Theoretical justification of a purposeful search of potential neurotropic drugs. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2020. №4 (26). С. 4-17. doi.org/10.15587/2519-4852.2020.210042. (Scopus, quartile 4). (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, обробка й узагальнення результатів, участь у написанні статті).
2. Semenets A. P., Suleiman M. M., Fedosov A. I., Shtrygol S. Yu., Havrylov Ih. O., Mishchenko M. V., Kovalenko S. M., Georgiyants V. A., Perekhoda L. O. Synthesis, docking, and biological evaluation of novel 1-benzyl-4-(4-(R)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl)pyrrolidin-2-ones as potential nootropic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2022. 244. P. 114823. doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114823 (Scopus, quartile 1). (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, обробка й узагальнення результатів, участь у написанні статті).
3. Перехода Л. О., Семенець А. П., Сулейман М. М., Георгіянц В. А., Коваленко С. М., Штриголь С. Ю., Федосов А. І., Яременко В. Д. 1-Бензил-4-{4-[2-оксо-2-(піперидин-1-іл)етил]-5-сульфаніліден-4,5-дигідро-1H-1,2,4-тріазол-3-іл}піролідін-2-он, що виявляє ноотропну активність: пат. на корисну модель № 153961 України: МПК C07D 207/26, C07D 249/08, C07D 281/10, C07D 291/04, C07D 295/00, A61P 25/28. № u 2022 04591; заявл. 05.12.2022; опубл. 28.09.2023, Бюл. № 39. (Особистий внесок – патентний пошук, одержання лікарської субстанції та оформлення патенту)
4. Семенець А.П., Маріуца І.О., Сулейман М.М., Георгіянц В.А., Коваленко С.М., Перехода Л.О. Цілеспрямований пошук нових ноотропних агентів в ряду похідних піролідін-2-ону. *«Ліки – людині»: сучасні проблеми*

фармакотерапії і призначення лікарських засобів: Матеріали IV міжнар. наук.-практ. конф., 12-13 березня 2020 р., м. Харків., Т. 2. 2020. С. 499-501.

5. Семенець А. П., Сулейман М. М., Маріуца І. О., Ющенко А. М., Коваленко С. М., Перехода Л. О. Синтез, будови та фізико-хімічні властивості похідних 4-R-1- бензилпіролідін-2-ону. *Управління якістю в фармації: Матеріали XIV міжнар. наук.-практ. конф., 22 травня 2020 р., м. Харків., 2020. С. 165.*
6. Vedenyev S. V., Semenets A. P., Suleiman M. M., Perekhoda L. O. The use of molecular docking for the rational design of new "drug-like" molecules. *Topical issues of new medicines development: Матеріали XXVII міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, 8-10 квітня 2020 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2020. С. 22-23.*
7. Zaari M. Yu, Sych I. V., Semenets A. P., Suleiman M. M., Perekhoda L. O. Synthesis of new 2,5-disubstituted 1,3,4-thiadiazole derivatives which contain 1,2,4-triazole fragment. *Topical issues of new medicines development: Матеріали XXVII міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, 8-10 квітня 2020 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2020. С. 26-27.*
8. Семенец А. П., Ковальчук В. В., Сулейман М. М., Гриневич Л. А., Кобзарь Н.П.,Георгиянц В. А., Коваленко С.Н., Перехода Л. А. *In silico* исследование фармакокинетического профиля производных 1-бензил-4-[4-(г-2-ил)-5-сульфанилиден-4,5-дигидро-1H-1,2,4-триазол-3-ил]пирролидин-2-она. *Fundamental and applied research in the modern word: Матеріали V міжнар. наук.-практ. конф., 16-18 грудня 2020 р., м. Бостон, 2020. С. 615-620.*
9. Semenets A., Suleiman M., Kobzar N., Grinevich L., Georgiyants V., Kovalenko S., Perekhoda L. Search for new neurotropic agents in a series of alkyl derivatives 1-benzyl-4-[5-(R-sulphanyl)-4-R1- 4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl]-2-one. *Results of modern scientific research and development:*

Матеріали II міжнар. наук.-практ. конф., 2-4 травня 2021 р., м. Мадрид, 2021. С. 109-112.

10. Semenets A., Suleiman M., Grinevich L., Kobzar N., Kovalenko S., Georgiyants V., Perekhoda L. Synthesis and prediction of nootropic activity of substituted 4-(aminomethyl)-1-benzylpyrrolidin-2-ones. *«100 years of success and quality», dedicated to the 100th anniversary of Pharmaceutical Chemistry Department of the National University of Pharmacy*: Матеріали міжнар. наук.-практ. симп., 18 жовтня 2021 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2021. С. 35-36.
11. Semenets A., Suleiman M., Perekhoda L. Synthesis and docking studies of new 1-benzyl-4-(4-(R)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl)pyrrolidin-2-ones as potential nootropic agents. *Competition work of «100 years of success and quality», dedicated to the 100th anniversary of Pharmaceutical Chemistry Department of the National University of Pharmacy*: Матеріали міжнар. наук.-практ. симп., 18 жовтня 2021 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2021. С. 12-15.
12. Dedik B., Semenets A., Suleiman M., Grinevich L., Kobzar N., Perekhoda L. The use of docking studies to predict the nootropic effect among 4-(aminomethyl)-1-benzylpyrrolidin-2-one derivatives. *Science innovations and education problems and prospects*: Матеріали II міжнар. наук.-практ. конф., 13-15 січня 2021 р., м. Токіо, 2021. С. 150-154.
13. Maizou E., Semenets A. P., Kobzar N. P., Suleiman M. M. Docking studies of the nootropic effect of new racetams. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів*: Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. молодих учених та студентів, 19-21 квітня 2023 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2023. С. 25-27.
14. Семенець А. П., Сулейман М. М., Коваленко С. М., Георгіянець В. А., Перехода Л.О. Синтез та докінгові дослідження ноотропної дії похідних амідів 2-[3-(1-бензил-5-оксо-пірролідін-3-іл)-5-тіоксо-1H-1,2,4-тріазол-4-іл]оцтової кислоти. *Modern chemistry of medicines*: Матеріали міжнар. internet-конф., 18 травня 2023 р., м. Харків. Х.: НФаУ, 2023. С. 220-221.

Продовж. дод. А*Апробація результатів дисертації*

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. IV міжнародна науково-практична конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 12-13 березня 2020 р., форма участі – публікація тез);
2. XIV науково-практична конференція «Управління якістю в фармації» (Харків, 22 травня 2020 р., форма участі – публікація тез);
3. XXVII міжнародна науково-практична конференція молодих учених та студентів «Topical issues of new medicines development» (Харків, 8-10 квітня 2020 р., форма участі – публікація тез);
4. V міжнародна науково-практична конференція «Fundamental and applied research in the modern word» (Бостон, 16-18 грудня 2020 р., форма участі – публікація тез);
5. II міжнародна науково-практична конференція «Results of modern scientific research and development» (Мадрид, 2-4 травня 2021 р., форма участі – публікація тез);
6. Міжнародний науково-практичний симпозиум «100 years of success and quality», dedicated to the 100th anniversary of Pharmaceutical Chemistry Department of the National University of Pharmacy (Харків, 18 жовтня 2021 р., форма участі – публікація тез);
7. VI міжнародна науково-практична конференція «Science innovations and education problems and prospects» (Токіо, 13-15 січня 2022 р., форма участі – публікація тез);
8. XXIX Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 19-21 квітня 2023 р., форма участі – публікація тез);
9. Міжнародна internet-конференція «Modern chemistry of medicines» (Харків, 18 травня 2023 р., форма участі – публікація тез, усна доповідь);

10. Всеукраїнська науково –практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум -2023» (Запоріжжя, 23-24 листопада 2023 р., форма участі – публікація тез, усна доповідь);
11. Науково-практичний семінар «Тандем хімічної та фармацевтичної науки як базова платформа та запорука розроблення інноваційних лікарських засобів», присвячений 105-річчю НАН України та 105-й річниці з Дня народження академіка Бориса Євгеновича Патона (Харків, 27 листопада 2023 р., форма участі – усна доповідь);
12. IV Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Youth pharmacy science» (Харків, 6 грудня 2023 р., форма участі – усна доповідь).