

С. І. КОВАЛЕНКО, О. Ю. ВОСКОВОЙНИК

*Запорізький державний медичний університет*

## СПРЯМОВАНИЙ ПОШУК ПРОТИРАКОВИХ АГЕНТІВ СЕРЕД ПОХІДНИХ [1,2,4]ТРИАЗИНО[2,3-С]ХІНАЗОЛІНУ ЯК ОДИН З НАПРЯМКІВ РЕАЛІЗАЦІЇ СТРАТЕГІЇ ПО ІМПОРТОЗАМІЩЕННЮ ХІМІОТЕРАПЕВТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

Імпортозаміщення лікарських препаратів, зокрема протипухлинної дії є важливою складовою стратегії розвитку медичної галузі, що серед іншого передбачає активізацію наукових розробок, метою яких є створення інноваційних лікарських препаратів.

**Мета.** Представлена робота є узагальненням власного досвіду з планування та реалізації проектів по створенню синтетичних сполук з вираженою протираковою дією на основі похідних [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназоліну та продуктів їх структурної модифікації.

**Результати.** Нами було проведено планування роботи, яке дозволило визначити наступні етапи досліджень: вибір напряму досліджень, вибір класу органічних сполук як об'єктів фармакологічних досліджень, вибір підходів до конструювання потенційних біоактивних молекул, синтез потенційних біоактивних молекул, прескринінг протиракової активності, первинний скринінг на наявність протиракової дії синтезованих сполук, аналіз одержаних результатів первинного скринінгу, спрямована хімічна модифікація одержаних сполук, поглиблені дослідження протиракової дії. В результаті реалізації проекту були одержані сполуки-лідери та додаткова інформація для подальших досліджень.

**Висновки.** В рамках роботи розроблений один з можливих варіантів стратегії впровадження окремих етапів досліджень, що мають на меті створення інноваційних протиракових лікарських препаратів. Представлена стратегія може бути використана малими групами дослідників в умовах вітчизняних університетів, науково-дослідних установ та комерційних фармацевтичних підприємств.

*Ключові слова:* протипухлинні лікарські препарати; імпортозаміщення; планування; дослідження

S. I. KOVALENKO, O. YU. VOSKOBOYNIK

### PURPOSEFUL SEARCH OF ANTICANCER AGENTS AMONG [1,2,4]TRIAZINO[2,3-C]QUINAZOLINES DERIVATIVES AS ONE OF THE DIRECTIONS IN REALIZATION THE IMPORT SUBSTITUTION STRATEGY OF CHEMOTHERAPY MEDICINES

Import-substitution of medicines, in particular antitumor activity, is an important component of the strategy for medical industry development, and among other, provides for the scientific research activation aimed at the creation of innovative medicines.

**Aim.** The presented work is a generalization of own experience in planning and realization of projects on creation of synthetic compounds with significant anticancer activity based on [1,2,4]triazino[2,3-c]quinazoline derivatives and products of their structural modification.

**Results.** We conducted work planning, which allowed us to identify the following stages of the study: the choice of the research direction, the choice of the class of compounds as objects of pharmacological research, the choice of approaches to the design of potential bioactive molecules, the biological activity pre-screening, the primary screening for anticancer activity of synthesized compounds, analysis of obtained data, profound study of the anticancer activity. The search of novel anticancer agents was conducted among the series of [1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolines and related compounds, that may be obtained by modification of substituted 3-(2-aminophenyl)-6-R-1,2,4-triazino-5(2H)-ones. Considering to the structure similarity of studied compounds to the well-known anticancer drugs – 4-anilinoquinazolines, they may reveal tyrosine-kinase inhibiting effects and as result anticancer activity. The biological activity pre-screening using molecular docking study and bioluminescence inhibition model, *in vitro* study of FGFR<sub>1</sub>-inhibiting activity and *in vitro* study of anticancer activity were conducted for synthesized compounds. As a result of the project, lead-compounds were obtained, as well, as additional information for further studies.

**Conclusions.** One of the possible variants for the research conduction aimed at creating of innovative anticancer drugs has been developed. The presented strategy can be used by small groups of researchers in universities, research institutions and commercial pharmaceutical enterprises.

*Key words:* antineoplastic drugs; import substitution; planning; research

С. И. Коваленко, А. Ю. Восковойник

**ЦЕЛЕНАПРАВЛЕННЫЙ ПОИСК ПРОТИВОРАКОВЫХ АГЕНТОВ СРЕДИ ПРОИЗВОДНЫХ [1,2,4]ТРИАЗИНО[2,3-с]ХИНАЗОЛИНА КАК ОДНО ИЗ НАПРАВЛЕНИЙ РЕАЛИЗАЦИИ СТРАТЕГИИ ПО ИМПОРТОЗАМЕЩЕНИЮ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ**

Импортозамещение лекарственных препаратов, в частности противоопухолевого действия, является важной составляющей стратегии развития медицинской отрасли и среди прочего предусматривает активизацию научных разработок, целью которых является создание инновационных лекарственных препаратов.

**Цель.** Представленная работа является обобщением собственного опыта по планированию и реализации проектов по созданию синтетических соединений с выраженным противораковым действием на основе производных [1,2,4]триазино[2,3-с]хиназолина и продуктов их структурной модификации.

**Результаты.** Нами было проведено планирование работы, которое позволило обозначить следующие этапы исследования: выбор направления исследования, выбор класса соединений как объектов фармакологических исследований, выбор подходов к конструированию потенциальных биоактивных молекул, прескрининг биологической активности, первичный скрининг на наличие противораковой активности синтезированных соединений, анализ полученных данных, углубленные исследования противоракового действия. В результате реализации проекта были получены соединения-лидеры и дополнительная информация для дальнейших этапов исследования.

**Выводы.** В рамках работы разработан один из возможных вариантов проведения отдельных этапов исследований, которые направлены на создание инновационных противораковых лекарственных препаратов. Представленная стратегия может быть использована малыми группами исследователей в условиях отечественных университетов, научно-исследовательских учреждений и коммерческих фармацевтических предприятий.

*Ключевые слова:* противоопухолевые лекарственные препараты; импортозамещение; планирование; исследования

**ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ**

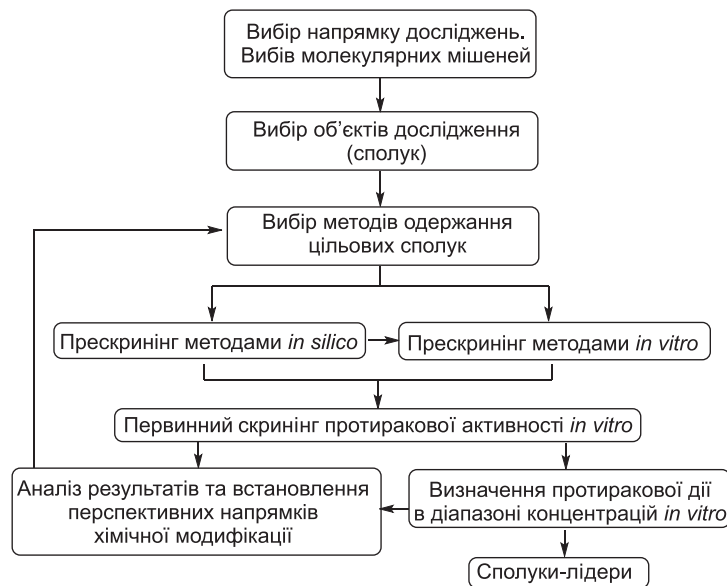
Забезпечення населення ефективними та безпечними лікарськими препаратами є невід'ємною складовою частиною системи національної безпеки будь-якої країни. Особливо це стосується категорій лікарських засобів, які є есенціальними, до якої безумовно відносяться протираківі лікарські препарати, адже їх нестача може вартувати життя тисячам пацієнтів.

Так, за даними А. А. Котвицької та В. Г. Костюк [1] доля лікарських препаратів для лікування пухлинних захворювань вітчизняного виробництва на фармацевтичному ринку України становить від 20 до 30 % в залежності від виду нозології. Необхідно зауважити, що основою існуючих протипухлинних препаратів вітчизняного виробництва в більшості випадків є імпортовані активні фармацевтичні інгредієнти, що робить стан забезпечення населення фармакотерапевтичними засобами даної групи вкрай загрозливим. Таким чином, можна з впевненістю сказати, що імпортозаміщення протипухлинних лікарських препаратів є вкрай актуальною проблемою, яка потребує особливої уваги.

**АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ**

Важливо, що імпортозаміщення має стосуватись не лише лікарських форм, адже в цьому

випадку проблема буде залишатись вирішеною тільки за умови безперервного постачання активних фармацевтичних інгредієнтів. Реальне імпортозаміщення можливе тільки у випадку активізації розробок, спрямованих на опрацювання методів одержання вже відомих субстанцій, які не перебувають під патентним захистом, та створення власних інноваційних протираківих лікарських препаратів. У публікації Демченко Н. В. [2] детально обговорюються перспективи реалізації стратегії імпортозаміщення у фармації, зокрема вказано на необхідність інтенсифікації робіт зі створення вітчизняних активних фармацевтичних інгредієнтів. У зазначеній статті також зауважується, що створення інноваційних лікарських препаратів є вкрай високовартісним, довготривалим та ризикованим. Зокрема зазначається, що розробка одного активного фармацевтичного інгредієнта може сягати 1 млрд євро. Враховуючи таку високу вартість розробок, перспектива створення інноваційних лікарських препаратів в Україні або за участю України виглядає сумнівною. Але чи дійсно це так? Так, І. В. Campbell зі співавторами у своїй оглядовій роботі [3], присвяченій аналізу сучасного стану та перспективам розвитку медичної хімії, зауважив, що в майбутньому дослідження зі створення інноваційних лікарських препаратів зазвичай будуть проводитися



**Рис. 1** Стратегія проведення досліджень, спрямованих на пошук нових протиракових препаратів

не однією компанією, а конгломератом організацій, серед яких будуть як суто комерційні установи, так і університети. Як зазначають автори огляду, це дозволить як підвищити результативність досліджень, так і розподілити пов'язані з розробкою інноваційних препаратів ризики. Також автори зазначають, що можливе значне зміцнення ролі проектів так званого open-source data drug discovery, які передбачають вільний доступ до поточної інформації про розробку нових біоактивних молекул. Також у даній роботі вказується на передачу значного обсягу наукових розробок контрактним дослідницьким компаніям, що дозволить значно зменшити витрати. Враховуючи зазначене, вітчизняні фармацевтичні компанії, науково-дослідні організації та університети з успіхом можуть бути задіяними на тих чи інших ролях у розробці інноваційних лікарських препаратів. У довгостроковій перспективі така співпраця в будь-якому випадку буде сприяти покращенню стану з забезпеченням країни вітчизняними розробками у галузі фармації.

Необхідно зазначити, що плідна робота вітчизняних організацій у спільних проектах зі створення інноваційних біологічно активних сполук можлива лише у випадках ретельного планування досліджень, що зокрема дозволить мінімізувати витрати. Наразі опублікована серія робіт, присвячених плануванню, в тому числі економічному, та науково-дослідних робіт у галузі фармації, однак більшість з них присвячена створенню нових лікарських форм [4], але не активних фармацевтичних інгредієнтів. Публікації, в яких описується вітчизняний досвід з планування та реалізації навіть окремих етапів

створення біологічно активних агентів вкрай мало, що ймовірно пов'язано з незначною кількістю подібних проектів в Україні.

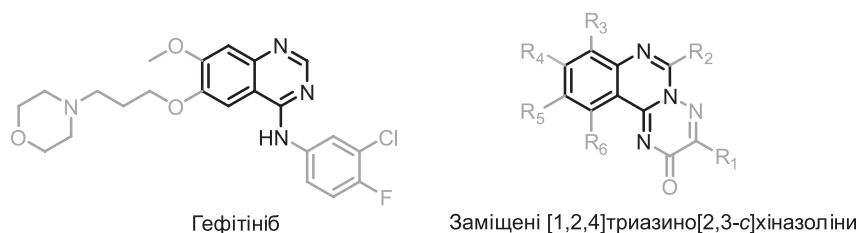
#### ФОРМУЛЮВАННЯ ЦІЛЕЙ СТАТТІ

Отже метою представленої роботи є узагальнення власного досвіду з планування та реалізації проектів зі створення синтетичних сполук з вираженою протираковою дією на основі похідних [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназоліну та продуктів їх структурної модифікації. Зазначені дослідження здійснювались у співпраці з Національним інститутом раку (США).

#### ВИКЛАДЕННЯ ОСНОВНОГО МАТЕРІАЛУ ДОСЛІДЖЕННЯ

Нами було проведено планування роботи, яке дозволило визначити наступні етапи досліджень: вибір напрямку досліджень, вибір класу органічних сполук як об'єктів фармакологічних досліджень, вибір підходів до конструювання потенційних біоактивних молекул протиракової активності, первинний скринінг на наявність протиракової дії синтезованих сполук, аналіз одержаних результатів первинного скринінгу, спрямована хімічна модифікація одержаних сполук, поглиблені дослідження протиракової дії (рис. 1).

Планування етапу *напрямок досліджень* є вкрай важливим, адже по-перше, це є визначальним для всіх подальших етапів, а по-друге, має узгоджуватись з технічними та фінансовими можливостями наукової групи. Так, є два основні шляхи, якими може піти дослідження: пошук агентів, що впливають на вже відомі молекулярні мішені або опрацювання принципово



**Рис. 2** Заміщені [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназоліни як перспективні протиракові агенти

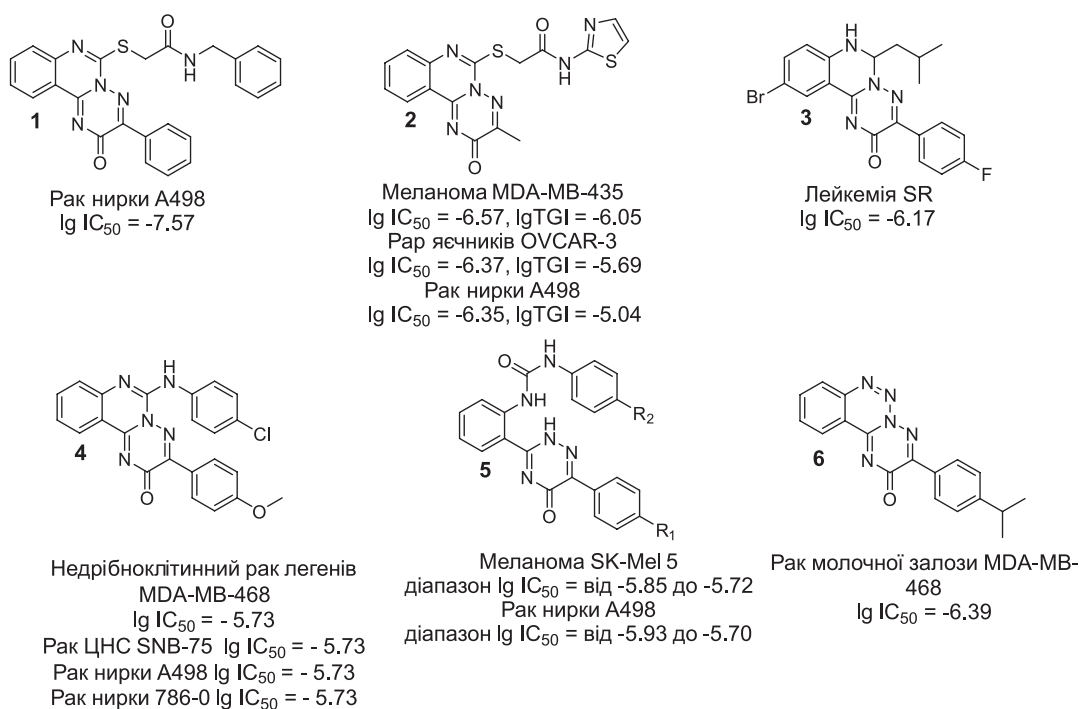
нового підходу до впливу на патологічний процес. Необхідно зазначити, що останній напрямок передбачає значний обсяг фінансування, наявність специфічного обладнання, кадрового забезпечення тощо та є малодоступним для більшості наукових груп в Україні. Враховуючи зазначене, нами був обраний напрямок досліджень, який передбачав пошук сполук, здатних впливати на відомі молекулярні мішені, а саме – сімейство рецепторних тирозинкіназ (EGFR, VEGFR, FGFR).

Такий вибір був обумовлений повідомленнями, що зазначені протеїни є перспективними молекулярними мішенями для потенційних протиракових агентів [5, 6]. Важливо, що високу спорідненість до названих вище кіназ виявляють 4-анілінохіназоліни та їх структурні аналоги, окремі представники яких вже знайшли застосування у медичній практиці [7, 8].

Враховуючи те, що наша наукова група історично займається розробкою методів синтезу та хімічної модифікації замінених хіназолінів та їх синтетичних аналогів, вибір такого напрямку є виправданим.

Об'єкти дослідження на нашу думку мають відповідати наступним вимогам: спорідненість до існуючих прототипів, новизна як передумова можливості патентного захисту, синтетична доступність. В якості об'єктів дослідження нами обрано [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназоліни та продукти їх модифікації (рис. 2), які є вкрай малодослідженим класом сполук, споріднені до існуючих 4-анілінохіназолінів інгібіторів рецепторних тирозинкіназ та порівняно доступні з огляду на розроблені нами синтетичні підходи [9-11].

Для синтезу цільових сполук в якості вихідної речовини були обрані заміщені 3-(2-аміно-



**Рис. 3** Перспективні протиракові агенти, одержані в рамках реалізації проекту (IC<sub>50</sub> – концентрація сполуки, при якій відбувається 50 % інгібування росту онкоклітин, TGI – концентрація сполуки, при якій відбувається повне інгібування росту онкоклітин)



феніл)-6-R-1,2,4-триазин-5(2H)-они, які описані як ефективні «скаффолди» з широкими можливостями структурної модифікації [12]. Подальшим етапом роботи нами визначені прескринінгові дослідження, проведення яких дозволить значно зменшити вартість проекту. Прескринінг проводився за двома напрямками, перший реалізувався у вигляді докінгових досліджень, які дозволяли визначити об'єкти, що мають згідно з розрахунками високу спорідненість до молекулярних мішеней. У випадку, коли сполука згідно з розрахунками мала високу спорідненість по відношенню до FGFR<sub>1</sub>, додатково були проведені дослідження *in vitro* на наявність FGFR-інгібуючої дії [13]. Також були проведені прескринінгові дослідження на моделі інгібування біоломінісценції бактерії, які дозволили ідентифікувати цитотоксичні сполуки [14]. Перспективні згідно з прескринінговими дослідженнями сполуки були представлені для досліджень протиракової активності до Національного інституту раку США [15]. Так, для 232 сполук, що є заміщеними [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолінами, їх конденсованими похідними та синтетичними аналогами було проведено первинний скринінг протиракової активності на 60 ліній раку людини в концентрації 10 μM. Одержані результати дозволили виявити сполуки для подальших досліджень, а проведений аналіз взаємозв'язку «будова-дія» дозволив встановити перспективні напрямки хімічної модифікації синтезованих сполук. Так, за даними первинного скринінгу для визначення протиракової активності в діа-

пазоні концентрацій було відібрано 20 сполук. Здобуті в рамках даного етапу результати дозволили одержати сполуки-лідери (рис. 3), а також додаткову інформацію для подальших досліджень.

Одержані протиракові агенти відносились як до заміщених [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолінів (сполуки 1, 2, 3, 4), так і до продуктів їх модифікації (сполуки 5, 6). Так, наприклад, сполука 6 є біозостерним аналогом [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолінів. Також необхідно зазначити, що 4 з 6 представлених речовин виявляють здатність інгібувати ріст раку нирки лінії A498, причому дія сполуки 1 була вкрай вираженою. Таким чином, цей напрямок може вважатись перспективним.

На нашу думку, наступні етапи робіт зі створення нового протиракового препарату можливі тільки після залучення до співпраці комерційних установ.

#### ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Таким чином, нами розроблений один з можливих варіантів стратегії провадження окремих етапів досліджень, що мають на меті створення інноваційних протиракових лікарських препаратів. Представлена стратегія може бути використана малими групами дослідників в умовах вітчизняних університетів, науково-дослідних установ та комерційних фармацевтичних підприємств.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

#### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Котвіцька, А. А. Дослідження нормативно-правового регулювання імпортозамінного виробництва лікарських засобів в Україні / А. А. Котвіцька, В. Г. Костюк // *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. – 2016. – № 1 (45). – С. 44–48. <https://doi.org/10.24959/uekj.16.6>
2. Демченко, Н. В. Стратегія імпортозаміщення у фармацевтичній галузі: особливості та перспективи реалізації / Н. В. Демченко // *Вісник ОНУ ім. І. І. Мечникова*. – 2014. – № 19 (2/2). – С. 56–60.
3. Campbell, I. B. Medicinalchemistryindrugdiscoveryinbigpharma: past, presentandfuture // I. B. Campbell, S. J. F. Macdonald, P. A. Procopiou // *Drug Discovery Today*. – 2018. – Vol. 23 (2). – P. 216–234. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.10.007>
4. Слободянюк, М. М. Науково-методичний підхід до прогнозування економічних показників при розробці нових лікарських засобів / М. М. Слободянюк, О. С. Самборський, Т. Германовські // *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. – 2017. – № 4 (52). – С. 50–58. <https://doi.org/10.24959/uekj.17.32>
5. Cohen P. Protein kinases – thema or drug targets of the twenty-first century / P. Cohen // *Nature Rev. Drug Discovery*. – 2002. – Vol. 1. – P. 309–315.
6. Levitzki, A. Tyrosine Kinase Inhibition : An Approach to Drug Development / A. Levitzki, A. Gazit // *Sci*. – 1995. – Vol. 267 (5205). – P. 1782–1788.
7. Tyrosine Kinase Inhibitors. 18. 6-Substituted 4-Anilinoquinazolines and 4-Anilino pyrido[3,4-d]pyrimidines Soluble, Irreversible Inhibitors of the Epidermal Growth Factor Receptor / J. B. Smaill, H. D. H. Showalter, H. Zhou, et al. // *Med. Chem.* – 2001. – Vol. 44 (3). – P. 429–440. <https://doi.org/10.1021/jm000372i>
8. 66-Substituted-4-(3-bromophenylamino)quinazolines as Putative Irreversible Inhibitors of the Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) and Human Epidermal Growth Factor Receptor (HER-2) Tyrosine Kinases with Enhanced Antitumor Activity / H.-R. Tsou, N. Mamuya, B. D. Johnson, et al. // *Med. Chem.* – 2001. – Vol. 44 (17). – P. 2719–2734. <https://doi.org/10.1021/jm0005555>

9. Interaction of 3-(2-Aminophenyl)-6-R1-1,2,4-triazin-5-ones with Acylating Reagents: An Efficient Method for Preparation of 6-Substituted 3-R1-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-2-ones / A. Yu. Voskoboynik, D. Yu. Scorina, T. Yu. Sergeieva, et al. // *J. Het. Chem.* – 2015. – Vol. 53 (3). – P. 776–783. <https://doi.org/10.1002/jhet.2120>
10. Dimethyl Acetylenedicarboxylate in Reactions with Substituted 3-(2-aminophenyl)-6-R1-1,2,4-triazin-5-(2H)-ones: Structure and Properties of the Products / O. Yu. Voskoboynik, S. I. Kovalenko, S. I. Okovytyy, S. V. Shishkina // *J. Het. Chem.* – 2017. – Vol. 54 (3). – P. 2038–2042. <https://doi.org/10.1002/jhet.2801>
11. Synthesis and biological activity of novel N-cycloalkyl-(cycloalkylaryl)-2-[(3-R-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazoline-6-yl)thio]acetamides / G. G. Berest, O. Yu. Voskoboynik, S. I. Kovalenko, et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 46 (12). – P. 6066–6074. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.10.022>
12. Hydrazinolysis of 3-R-[1,2,4] Triazino[2,3-c]quinazolin-2-ones. Synthetic and Theoretical Aspects / T. Yu. Sergeieva, O. Yu. Voskoboynik, S. I. Okovytyy, et al. // *The J. of Physical Chemistry A.* – 2014. – Vol. 118 (10). – P. 1895–1905. <https://doi.org/10.1021/jp4052616>
13. Hastie, C. J. Assay of protein kinases using radiolabeled ATP: a protocol / C. J. Hastie, H. J. McLauchlan, P. Cohen // *Nature Protocols.* – 2006. – Vol. 1, № 2. – P. 968–971. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.149>
14. Katsev, A. M. Utilities of Lumino us Bacteria from the Black Sea / A. M. Katsev // *Applied Biochemistry and Microbiol.* – 2002. – Vol. 38 (2). – P. 189.
15. Holbeck, S. L. Update on NCI in vitro drug screen utilities / S. L. Holbeck // *European J. of Cancer.* – 2004. – Vol. 40 (6). – P. 785–793. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2003.11.022>

## REFERENCES

1. Kotvitska, A. A., &Kostiuk, V. H. (2016). Research of normative legal regulation of import substitution production of medicines in Ukraine. *Upravlinnâ, ekonomika ta zabezpečennâ âkosti v farmacii*, 1(45), 44–48. <https://doi.org/10.24959/uekj.16.6>
2. Demchenko, N. V. (2014). *Visnyk ONU im. I. I. Mechnykova*, 19 (2/2), 56–60.
3. Campbell, I. B., Macdonald, S. J. F., Procopiou, P. A. (2018). Medicinal chemistry in drug discovery in big pharma: past, present and future. *Drug Discovery Today*, 23(2), 216. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2017.10.007>
4. Slobodyanyuk, M., Samborskyi, O., &Hermanowski, T. (2017). Methodical approach to economic indicators forecasting in new medicines development. *Upravlinnâ, ekonomika ta zabezpečennâ âkosti v farmacii*, 4(52), 50–58. <https://doi.org/10.24959/uekj.17.32>
5. Cohen, P. (2002). Protein kinases — themaj or drug targets of the twenty-first century. *Nature Reviews Drug Discovery*, 1, 309.
6. Levitzki, A., Gazit, A. (1995). Tyrosine Kinase Inhibition: An Approach to Drug Development. *Science*, 267(5205), 1782.
7. Smaill, J. B., Showalter, H. D. H., Zhou, H., Bridges, A. J., McNamara, D. J., Fry, D. W., ... Denny, W. A. (2001). Tyrosine Kinase Inhibitors. 18. 6-Substituted 4-Anilinoquinazolines and 4-Anilinopyrido[3,4-d]pyrimidines as Soluble, Irreversible Inhibitors of the Epidermal Growth Factor Receptor. *Journal of Medicinal Chemistry*, 44(3), 429–440. <https://doi.org/10.1021/jm000372i>
8. Tsou, H.-R., Mamuya, N., Johnson, B. D., Reich, M. F., Gruber, B. C., Ye, F., ... Wissner, A. (2001). 6-Substituted-4-(3-bromophenylamino)quinazolines as Putative Irreversible Inhibitors of the Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) and Human Epidermal Growth Factor Receptor (HER-2) Tyrosine Kinases with Enhanced Antitumor Activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 44(17), 2719–2734. <https://doi.org/10.1021/jm0005555>
9. Voskoboynik, A. Y., Scorina, D. Y., Sergeieva, T. Y., Kovalenko, S. I., Okovytyy, S. I., Omelchenko, I. V., &Shishkin, O. V. (2015). Interaction of 3-(2-Aminophenyl)-6-R1-1,2,4-triazin-5-ones with Acylating Reagents: An Efficient Method for Preparation of 6-Substituted 3-R1-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-2-ones. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 53(3), 776–783. <https://doi.org/10.1002/jhet.2120>
10. Voskoboynik, O. Y., Kovalenko, S. I., Okovytyy, S. I., &Shishkina, S. V. (2017). Dimethyl Acetylenedicarboxylate in Reactions with Substituted 3-(2-aminophenyl)-6-R1-1,2,4-triazin-5-(2H)-ones: Structure and Properties of the Products. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 54(3), 2038–2042. <https://doi.org/10.1002/jhet.2801>
11. Berest, G. G., Voskoboynik, O. Y., Kovalenko, S. I., Antypenko, O. M., Nosulenko, I. S., Katsev, A. M., &Shandrovskaya, O. S. (2011). Synthesis and biological activity of novel N-cycloalkyl-(cycloalkylaryl)-2-[(3-R-2-oxo-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazoline-6-yl)thio]acetamides. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(12), 6066–6074. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.10.022>

12. Sergeieva, T. Y., Voskoboynik, O. Y., Okovytyy, S. I., Kovalenko, S. I., Shishkina, S. V., Shishkin, O. V., & Leszczynski, J. (2014). Hydrazinolysis of 3-R-[1,2,4]Triazino[2,3-c]quinazolin-2-ones. Synthetic and Theoretical Aspects. *The Journal of Physical Chemistry A*, 118(10), 1895–1905. <https://doi.org/10.1021/jp4052616>
13. Hastie, C. J., McLauchlan, H. J., & Cohen, P. (2006). Assay of protein kinases using radiolabeled ATP: a protocol. *Nature Protocols*, 1(2), 968–971. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.149>
14. Katsev, A. M. (2002). Utilities of Lumino us Bacteria from the Black Sea. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 38 (2), 189.
15. Holbeck, S. (2004). Update on NCI in vitro drug screen utilities. *European Journal of Cancer*, 40(6), 785–793. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2003.11.022>

Адреса для листування:

69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26.

E-mail: [kovalenkoserhiy@gmail.com](mailto:kovalenkoserhiy@gmail.com).

Запорізький державний медичний університет

Воскобойнік О. Ю. (ORCID – <http://orcid.org/0000-0002-5790-3564>)

Коваленко С. І. (ORCID – <http://orcid.org/0000-0001-8017-9108>)

Надійшла до редакції 04.06.2018 р.