



В. В. Якубовська¹, Н. М. Серединська², О. Ю. Воскобойнік³, Г. І. Степанюк¹, С. І. Коваленко³

Спрямований пошук і характеристика протизапальної активності натрій (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл) алкілкарбоксилатів та їх галогеновмісних аналогів

¹Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова,

²ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ,

³Запорізький державний медичний університет

Ключові слова:

натрій (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4] триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл) алкілкарбоксилати, галогеновмісні аналоги, молекулярного докіну аналіз, протизапальні ліки.

У роботі розроблені підходи щодо створення нових протизапальних засобів серед натрій (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбоксилатів та їхніх галогеновмісних аналогів, що засновані на комбінації методів скринінгу «*in silico*» та експериментальних досліджень. Показана афінність відзначених сполук до активного центру ферментів ЦОГ-1 та ЦОГ-2, а проведена візуалізація комплексу активного сайту ферментів дала змогу припустити наявність протизапальної активності. Встановили, що натрій (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбоксилати та їхні галогеновмісні аналоги є носіями протизапальної (антиексудативної) активності, котра значною мірою притаманна сполуці DSK-38 (ЕД₅₀ – 4 мг/кг проти 8 мг/кг у диклофенаку натрію). Обговорена закономірність взаємозв'язку «будова – біологічна дія» серед відзначеного класу сполук.

Целенаправленный поиск и характеристика противовоспалительной активности натрий (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хинозолин-6-ил)алкилкарбоксилатов и их галогенсодержащих аналогов

В. В. Якубовская, Н. М. Серединская, А. Ю. Воскобойник, Г. И. Степанюк, С. И. Коваленко

В работе разработаны подходы к созданию новых противовоспалительных лекарственных средств среди натрий (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хинозолин-6-ил)алкилкарбоксилатов и их галогенсодержащих производных, которые основаны на комбинации методов скрининга «*in silico*» и экспериментальных исследований. Показана аффинность данных соединений к активному центру ферментов ЦОГ-1 и ЦОГ-2, а проведённая визуализация комплекса активного сайта фермента позволила предположить наличие противовоспалительной активности. Установлено, что натрий (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хинозолин-6-ил)алкилкарбоксилаты и их галогенсодержащие аналоги являются носителями противовоспалительной (антиексудативной активности), которая наиболее свойственна соединению DSK-38 (ЕД₅₀ – 4 мг/кг против 8 мг/кг у диклофенака натрия). Обсуждена закономерность взаимосвязи «структура – биологическая активность» среди данного класса.

Ключевые слова: натрий (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хинозолин-6-ил)алкилкарбоксилаты, галогенсодержащие аналоги, молекулярного докинга анализ, противовоспалительные лекарства.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2016. – № 1 (20). – С. 60–66

Purposeful search and characteristic of anti-inflammatory activity of sodium (3-*R*-2-oxo-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)alkylcarboxylates and their halogen containing analogues

V. V. Yakubovska, N. M. Seredinska, O. Yu. Voskoboinik, G. I. Stepanyuk, S. I. Kovalenko

Aim. The approaches for creating novel agents with anti-inflammatory activity among sodium (3-*R*-2-oxo-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)alkylcarboxylates and their halogen containing analogues were described in presented article.

Methods and results. Mentioned methods have been based on combination of «*in silico*» screening with experimental studies. Affinity of studied compounds to the active center of COX-1 and COX-2 enzymes has been shown. Conducted visualization of compound – active site complex allowed to suppose the presence of anti-inflammatory activity of studied compounds.

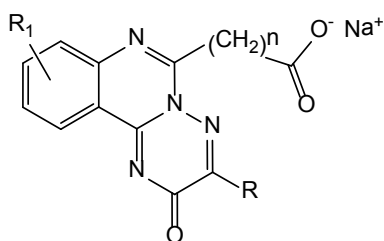
Conclusions. It was established, that sodium (3-*R*-2-oxo-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)alkylcarboxylates and their halogen-containing analogues reveal anti-inflammatory activity, the most active was compound DSK-38 (ED₅₀ – 4 mg/kg as against 8 mg/kg of diclofenac sodium). «Structure–activity» relationships features among studied compounds have been discussed.

Key words: Sodium (3-*R*-2-oxo-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)carboxylates, Halogenation, Molecular Docking Analysis, Anti-Inflammatory Agents.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2016; № 1 (20): 60–66

Наявність у сучасних нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) низки серйозних побічних реакцій (гастро-, нефро- та гепатотоксичність та ін.) спонукає до пошуку нових молекул із протизапальною дією, що придатні для створення на їхній основі більш ефективних і безпечних лікарських засобів із вказаною дією [1]. У зв'язку з цим привертають увагу маловідомі натрій (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино-[2,3-*c*]хіназолін-

6-іл)карбоксилати та їхні галогеновмісні аналоги, яким притаманний широкий спектр фармакологічних властивостей, зокрема анагетична [2], церебропротекторна, протишлемуїчна, протигіпоксична, антиоксидантна [3], спроможність підсилювати фізичну витривалість організму [4] тощо. Кожна з цих властивостей не тільки не перечить, а навпаки доповнює інші, а поряд із цим добре зіставляється із патогенезом запальних і больових



DSK-73 R=-CH ₂ Ph, R ₁ =H, n=2;	DSK-72 R=3,4-(Me) ₂ C ₆ H ₃ , R ₁ =H, n=2;
DSK-127 R=4- <i>i</i> -PrC ₆ H ₄ , R ₁ =H, n=2;	AV-216 R= <i>t</i> -BuC ₆ H ₄ , R ₁ =H, n=2;
DSK-128 R=4-FC ₆ H ₄ , R ₁ =H, n=2;	DSK-71 R=4-MeOC ₆ H ₄ , R ₁ =H, n=2;
AV-229 R=Ph, R ₁ =8-Me, n=2;	AV-218 R=Ph, R ₁ =9-F, n=2;
AV-217 R=Ph, R ₁ =9-F, n=2;	AV-223 R=4-MeOC ₆ H ₄ , R ₁ =9-F, n=2;
AV-232 R=Ph, R ₁ =10-Cl, n=2;	AV-230 R=4-MeC ₆ H ₄ , R ₁ =10-Cl, n=2;
AV-231 R=4-F-C ₆ H ₄ , R ₁ =10-Cl, n=2;	AV-227 R=4-MeOC ₆ H ₄ , R ₁ =10-Cl, n=2;
AV-228 R=Ph, R ₁ =10-Br, n=2;	AV-225 R=4-MeC ₆ H ₄ , R ₁ =Br, n=2;
AV-226 R=4-FC ₆ H ₄ , R ₁ =10-Br, n=2;	AV-224 R=4-MeOC ₆ H ₄ , R ₁ =10-Br, n=2;
DSK-38 R=Me, R ₁ =H, n=3;	DSK-74 R=-CH ₂ Ph, R ₁ =H, n=3;
DSK-39 R=Ph, R ₁ =H, n=3;	DSK-70 R=4-MeC ₆ H ₄ , R ₁ =H, n=3;
DSK-75 R=3,4-(Me) ₂ C ₆ H ₃ , R ₁ =H, n=3;	DSK-69 R=4-MeOC ₆ H ₄ , R ₁ =H, n=3;
DSK-77 R=thienyl, R ₁ =H, n=3	

Рис. 1. Принципова будова натрій (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбоксилатів та їхніх галогеновмісних аналогів.

синдромів, що дає підставу сподіватись на наявність у речовин цього класу протизапальної (антиексудативної) дії.

Мета роботи

За допомогою *in silico* (молекулярний докінг) і фармакологічних досліджень виявити наявність і схарактеризувати ступінь протизапальної (антиексудативної) дії в натрій (3-*R*-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбоксилатів та їхніх галогеновмісних аналогів, виявити «сполуку-лідера», що придатна для поглибленого вивчення її фармакологічних властивостей.

Матеріали і методи дослідження

Для дослідження взяли 25 сполук вказаного класу хімічних речовин [5,6], які синтезовані на кафедрі органічної та біоорганічної хімії Запорізького державного медичного університету під керівництвом професора С. І. Коваленко. Принципова будова відзначених похідних наведена на *рисунок 1*.

Молекулярний докінг. Дослідження здійснили методом молекулярного докінгу як підходу до пошуку молекул з афінитетом до визначеної біологічної мішені. Як біологічні мішені використали такі макромолекули з *Protein Data Bank (PDB)*: фермент ЦОГ-1 у комплексі з Диклофенаком (PDB ID - 3N8Y) та ЦОГ-2 у комплексі з Целекоксибом (PDB ID - 3LN1) [7]. Вибір біологічних мішеней зумовлений літературними даними щодо механізму дії протизапальних засобів [1].

Методологія досліджень полягала у проведенні таких етапів:

1) *підготовка ліганду*: побудова структурних формул сполук за допомогою програми MarvinSketch 6.3.0 та їхнє збереження у *mol*-форматі [8]; генерування 3D-структури формул сполук – молекулярне моделювання (програма *Hyper Chem 8* з використанням методу молекулярної механіки MM+ та напівемпіричного квантово-механічного методу PM3; із максимальною кількістю циклів і Polak-Ribiere алгоритму й збереження молекул у *PDB*-файлах); використання AutoDockTools-1.5.6 для конвертування *PDB*- у *PDBQT*-файли [9].

2) *підготовка ферментів*: видалення молекул води та ліганду з файлу з використанням програмного пакета Discovery Studio 4.0 і збереження ферменту в *PDB*-форматі [10]; використання AutoDockTools-1.5.6 для

конвертування ферменту *PDB*- у *PDBQT*-файли [9];

3) *власне молекулярний докінг*: здійснення докінгу за допомогою програми «Vina» з наступними просторовими параметрами активного центру ферменту: center_x=18.37, center_y = -52.296, center_z=53.949, size_x=18, size_y=16, size_z=16 для ЦОГ-2 (3LN1); center_x=32.978, center_y = -44.488, center_z = -3.76, size_x=16, size_y=16, size_z=16 для ЦОГ-1 (3N8Y) для докінгу [11]; візуалізація даних із використанням програми Discovery Studio 4.0 [10].

Антиексудативна активність. Дослідження на антиексудативну активність здійснили на 259 нелінійних щурах обох статей, масою тіла 165–220 г, яких отримали з розплідника ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» (м. Київ). Тривалість карантину тварин становила 14 днів. Протягом цього періоду тварин щодобово спостерігали (поведінка та загальний стан), двічі на день тварин спостерігали у клітках (захворюваність і смертність). Клітки з тваринами розміщені в окремих кімнатах, світовий режим – 12 годин. Температура повітря підтримувалась в інтервалі 19–25°C, відносна вологість – 50–70%. Температуру та вологість повітря реєстрували щоденно. Режим вентиляції – 15 об'ємів повітря приміщення за годину. Тварини знаходились у стандартних клітках, по 6 у кожній. Раціон харчування – фуражне зерно, хліб, коренеплоди (буряк, морква) [12,13]. Перед початком дослідження тварин, які відповідали критеріям включення в експеримент, поділили на групи методом рандомізації [14]. Щурів, котрі не відповідали критеріям, виключили з експерименту протягом карантину. Маніпуляції здійснені згідно з вимогами про використання тварин у біомедичних дослідах [15].

Проводячи первинний скринінг, сполуки, що досліджували, вводили в дозі 10 мг/кг, як референтний препарат використали диклофенак натрій у дозі 10 мг/кг. Оцінювання протизапальної (протинабрякової) дії виконали на моделі гострого ексудативного запалення, яке викликали у правій задній лапці щурів шляхом субплантарного введення 0,1 мл 1% розчину карагеніну (Sigma, США). Величину набряку кінцівки кожної тварини визначали за показником (мм) різниці між товщиною ушкодженої та здорової лапки, котру вимірювали за допомогою

механічного приладу згідно з описаними підходами [16]. Антиексудативну активність досліджуваних речовин, що введені в/оч одноразово за 30 хв до флогогену, оцінювали на третій годині (пік запальної реакції) за ступенем зменшення величини середнього показника набряку в ушкоджених кінцівках стосовно контролю та показували у відсотках [16,17]. Для найбільш активних сполук на підставі дослідження «доза – ефект» розраховано ED_{50} за графічним методом Литчфілда-Уілкоксона.

Результати дослідження опрацювали згідно з загальноприйнятими підходами за допомогою статистичного пакета програм «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc, № AXXR712D833214FAN5). Нормальність розподілу оцінювали за критерієм Kolmogorov-Smirnov (D) та Lilliefors, Shapiro-Wilk (W). У випадку розподілення відмінного від нормального чи аналізу порядкових змінних використовували Mann-Whitney U. Для двох непов'язаних вибірок і для більшого числа вибірок – критерій Kruskal-Wallis H із наступним порівнянням за Games-Howell. Для всіх видів аналізу статистично

значущими вважали відмінності при рівні значущості не менше ніж 0,05 [18].

Результати та їх обговорення

На підставі даних молекулярного докінгу встановили, що із сполук, котрі досліджували, тільки сполука DSK-38 характеризується високим рівнем афінності щодо ферменту ЦОГ-1 (табл. 1), тоді як високий рівень афінності щодо ферменту ЦОГ-2 характерний для більш широкого кола сполук, а саме: DSK-38, 70, 72, 75, 127, 128, AV-218 і 226. Для найактивнішої сполуки (високий рівень спорідненості) візуалізовано комплекс активного сайту ферменту ЦОГ-1 і встановлено, що DSK-38 характеризується утворенням водневих зв'язків атома Оксигену *as*-триазино[с]хіназолінового циклу із залишком амінокислоти SER530 (довжина 2.65Å) та атома Оксигену карбоксильної групи із GLY526 (3.11Å) (рис. 2b). Диклофенак з ЦОГ-1 має подібний водневий зв'язок – атома Оксигену карбоксильної групи із SER530 (2.53Å), а також ОН-фрагмента цієї самої групи із TYR385 (2.68Å) (рис. 2a).

Таблиця 1

Спорідненість (ккал/моль) сполук, що досліджували, щодо циклооксигеназ та їхня антиексудативна активність на 3 годину карагенінового набряку задньої лапки щурів ($M \pm m$, $n=7$)

№№ n/n	Сполука	Спорідненість, (ккал/моль) до ЦОГ-1 (13NY8)	Спорідненість, (ккал/ моль) до ЦОГ-2 (3LN1)	Доза, мг/кг	Середня різниця між товщиною набряклої та здорової лапки ($M \pm m$)	АА, %*
1	Контроль	–	–	–	2,44±0,17	–
2	Целекоксиб	–	-12,1	–	–	–
3	Диклофенак	-8,6	–	10,0	0,73±0,07*	70,1
4	DSK-127	-1,7	-9,4	10,0	1,41±0,09*	42,2
5	AV-216	4,8	-3,7	10,0	1,86±0,21	23,8
6	DSK-128	-1,7	-9,4	10,0	1,44±0,12*	41,0
7	DSK-71	-2,9	-5,1	10,0	1,40±0,12*	43,0
8	AV-218	-2,5	-9,1	10,0	1,61±0,18*	34,0
9	AV-217	-1,5	-8,6	10,0	1,73±0,21*	29,0
10	AV-223	3,6	-3,9	10,0	0,78±0,12*	68,0
11	AV-230	-0,8	-5,3	10,0	1,68±0,24*	31,0
12	DSK-38	-7,1	-9,9	10,0	0,49±0,06*#	80,0
13	DSK-74	1,5	-5,2	10,0	1,80±0,21*	26,2
14	DSK-39	-1,6	-5,4	10,0	1,12±0,09*	54,0
15	Контроль	–	–	–	2,27±0,17	–
16	DSK-72	0,9	-9,2	10,0	1,95±0,18	14,1
17	AV-231	-1,6	-5,4	10,0	1,63±0,21*	28,2
18	AV-227	2,1	-1,8	10,0	1,90±0,21	16,3
19	AV-224	-4,4	0,8	10,0	1,72±0,18*	24,2
20	AV-226	-5,4	-9,5	10,0	1,84±0,27	19,0
21	AV-225	0,5	-4,1	10,0	2,01±0,27	11,4
22	DSK-70	-6,0	-9,2	10,0	1,91±0,21	15,8
23	DSK-75	-6,0	-9,8	10,0	1,91±0,33	15,8
24	DSK-77	-0,5	-5,7	10,0	1,91±0,15	15,0
25	DSK-69	5,2	-1,4	10,0	1,93±0,27	15,0
26	Контроль	–	–	–	2,36±0,14	–
27	DSK-73	2,1	-7,4	10,0	2,20±0,30	6,8
28	AV-229	-2,6	-9,0	10,0	1,67±0,2*	29,2
29	AV-232	-2,2	-6,0	10,0	2,19±0,27	7,2
30	AV-228	1,6	-4,5	10,0	2,21±0,33	6,4

Примітки: * – $p \leq 0,05$ щодо контролю; # – $p \leq 0,05$ щодо диклофенаку; * – антиексудативна активність (АА).

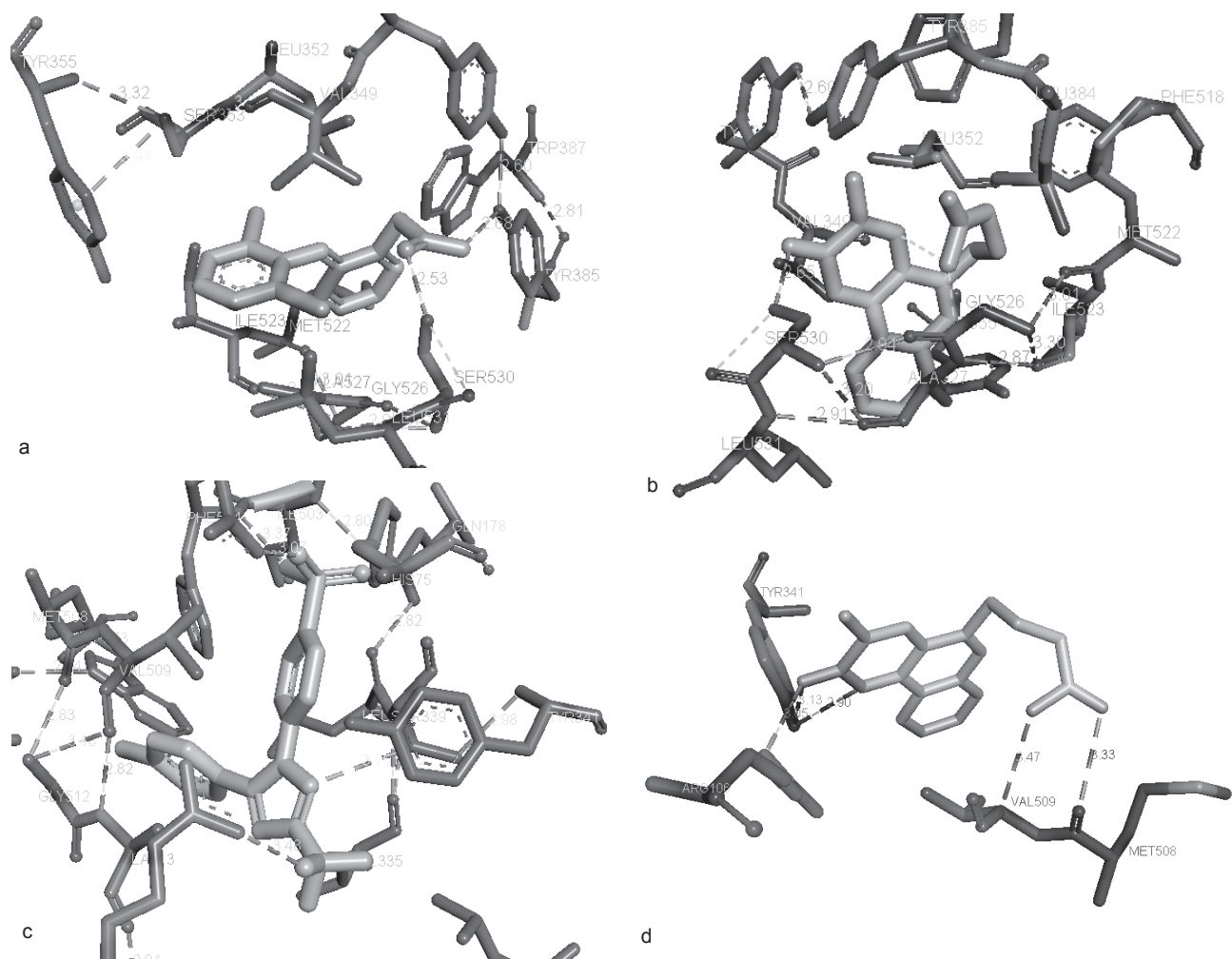


Рис. 2. Візуалізація докінгу сполук, що досліджували, з активними центрами ЦОГ-1, ЦОГ-2: а – диклофенак – ЦОГ-1, б – DSK-38 – ЦОГ-1, с – целекоксиб – ЦОГ-2, д – DSK-38 – ЦОГ-2.

Що стосується візуалізації комплексу активного сайту ферменту ЦОГ-2 з DSK-38, то встановили: відзначена сполука характеризується утворенням водневих зв'язків атома Оксигену *as*-триазино[*c*]хіназолінового циклу з ARG106 і TYR341 (довжина зв'язків – 3.05 Å і 3.13 Å відповідно), -COOH-групи із – MET508 і VAL509 (3.33 Å та 3.47 Å відповідно) та зв'язком, котрий утворений поміж N₁-атомом гетероциклу із – TYR341 (2.90 Å) (рис. 2d). Целекоксиб із ЦОГ-2 має також декілька водневих зв'язків, а саме: зв'язки атома Флуору з ARG106 (3.48 Å), N₂-атома піразолу із SER339 (3.75 Å), атома Оксигену та NH₂-групи сульфамідного залишку з ARG499 (3.07 Å) та з PHE504 (3.37 Å) (рис. 2c). Отже, значення спорідненості сполук до активного центру ферментів ЦОГ-1 і ЦОГ-2, візуалізація комплексу активного сайту ферментів та деяка подібність водневих зв'язків у лігандах дає можливість зробити припущення: відзначені сполуки можуть проявляти протизапальну активність і мати подібний механізм дії.

Так, дані, що наведені в таблиці 1, вказують на наявність протизапальної активності в натрій (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл) алкілкарбоксилатів та їхніх галогеновмісних аналогів. Важливо, що на тлі дії досліджуваних сполук, як і під

впливом диклофенаку, відбувалось зменшення величини набряку в ушкодженій кінцівці. Таку дію вказаних речовин (як і еталонного НПЗЗ) можна розцінити, як наявність у них протизапального (проти набрякового) ефекту.

Необхідно відзначити, що натрій 3-(3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)пропаноати (DSK-71-73, 127, 128, AV-216, 229) та їхні галогеновмісні аналоги (AV-217, 218, 223-228, 230-232) проявляють активність у межах 6,4–68,0% (табл. 1). Окрім довжини вуглеводневого радикала, визначальним у прояві активності відзначених сполук є замісник положення 3, а також природа та положення галогену в гетероциклічній системі. Так, найбільш виражену антиексудативну активність проявляють сполуки, котрі в положенні 3 містять 4-*i*-пропіл-(DSK-127; AA=42,2%), 4-флуоро- (DSK-128, AA=41,0%) і 4-метокси-(DSK-71, AA=43,0%) фенільні замісники. Важливо, що тільки додаткове введення до сполуки DSK-71 Флуору в 9 положенні (AV-223) призводить до посилення антиексудативної активності до 68,0%, тоді як наявність бром (AV-224, 226) та хлору (AV-227, 231), навпаки – до втрати активності на 20–40%.

Антиексудативна дія різних доз найбільш ефективних сполук при карагеніновому набряку задньої лапки щурів на 3 годині спостереження (M±m, n=7)

№ п/п	Сполука	Доза, мг/кг	Середня різниця між товщиною набряклої та здорової лапки, M±m	AA, %	ED ₅₀ та її довірчий інтервал, мг/кг
1	Контроль	-	2,44±0,17	-	
2	Диклофенак	10,0	0,73±0,07*	70,1	8,0 (7,2–9,2)
		7,5	1,32±0,18*	45,9	
		5,0	1,83±0,15*	25,0	
3	DSK-38	10,0	0,49±0,06*#	80,0	4,0 (3,4–5,1)
		5,0	1,05±0,12*#	57,0	
		2,5	1,41±0,15*	42,2	
4	AV-223	10,0	0,78±0,12*	68,0	5,8 (5,1–6,7)
		5,0	1,27±0,21*	48,0	
		2,5	1,71±0,18*	30,0	
5	DSK-39	10,0	1,12±0,09*#	54,0	7,8 (6,9–9,2)
		5,0	1,41±0,21*	42,2	
		2,5	2,0±0,18	18,0	
6	DSK-71	20,0	1,02±0,15*	58,0	14,4 (13,2–15,9)
		10,0	1,40±0,12*#	43,0	
		5,0	1,66±0,21*	32,0	
7	DSK-127	20,0	0,93±0,12*	61,9	14,2 (13,3–15,4)
		10,0	1,41±0,09*#	42,2	
		5,0	1,76±0,27	27,9	
8	DSK-128	20,0	0,88±0,15*	63,9	11,9 (10,9–13,4)
		10,0	1,44±0,12*#	41,0	
		5,0	1,71±0,27	30,0	

Примітки: * – $p \leq 0,05$ щодо контролю; # – $p \leq 0,05$ щодо диклофенаку; * – антиексудативна активність (AA).

Надалі структурна модифікація натрій 3-(3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)пропаноатів (DSK-71-73, 127, 128, AV-216, 229) шляхом подовження вуглеводневого радикала ще на одну гомологічну одиницю призвела до значного посилення активності для деяких сполук (табл. 1). Так, найбільша за величиною антиексудативна активність у дозі 10 мг/кг серед натрій 3-(3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)бутаноатів (DSK-38, 39, 69, 70, 74, 75, 77) відмічена у сполук DSK-38 (AA=80,0%) та DSK-39 (AA=54,0%), які містять у положенні 3 метильний і фенільний замісники відповідно. При цьому сполука DSK-38 за спроможністю зменшувати ступінь набряку в ушкодженій кінцівці вірогідно переважала класичний антифлогістик. Для інших сполук відзначеного класу характерна незначна активність (AA=15,0–26,21%), а заміна фенільного замісника (DSK-39) положення 3 на бензильний (DSK-74), толільний (DSK-70), 4-метоксифенільний (DSK-69) або тінільний (DSK-77) призводить до зменшення антиексудативної активності.

У другій серії експериментів встановили, що протизапальна (протинабрякова) дія в найбільш ефективних НТХК, як і у диклофенаку, є дозозалежною (табл. 2). На підставі даних розраховували показники ED₅₀ за антифлогістичною активністю. За величиною цього показника речовини, що досліджували, розташувались у такий ряд: DSK-38 > AV-223 > DSK-39 ≥ диклофенак > DSK-71 > DSK-127 > DSK-128. При цьому сполука DSK-38, ED₅₀ якої становить 4 мг/кг, удвічі перевершує

в антиексудативній активності диклофенак, ED₅₀ якого дорівнює 8 мг/кг.

Отже, результати дослідження свідчать, що натрій (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл) алкілкарбоксилати та їхні галогеновмісні аналоги є носіями протизапальної (антиексудативної) активності, яка щонайбільше притаманна сполуці DSK-38 («сполука-лідер»). Враховуючи, що протизапальна (протинабрякова) дія в досліджуваних НТХК та їхніх галогеновмісних аналогів (як і у диклофенаку) поєднується з достатньо виразним анальгетичним ефектом [4], а це дає підставу віднести вказаний клас хімічних речовин до НПЗЗ або ненаркотичних анальгетиків. Доволі важливо, що у «сполуки-лідера» DSK-38 протизапальний і знеболювальний ефекти поєднуються зі спроможністю стимулювати кровопостачання головного мозку та усувати ознаки церебральної ішемії [3]. Такі властивості DSK-38 значно підвищують перспективи її клінічного застосування. Підставою для такого твердження можуть бути дані фахової літератури [16] про спроможність НПЗЗ, зокрема диклофенаку, погіршувати кровопостачання головного мозку, серця та нирок, що зумовлено антипростагландинною дією препаратів цієї групи. Дослідження у цьому напрямі тривають.

Висновки

1. За допомогою молекулярного докінгу вивчена спорідненість натрій (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)алкілкарбоксилатів та їхніх галогеновмісних аналогів до активного центру

ферментів ЦОГ-1 та ЦОГ-2, здійснена візуалізація комплексу активного сайту ферментів, встановлена деяка подібність водневих зв'язків лігандів і сполук, що дали змогу зробити припущення про протизапальну активність і механізм дії.

2. Встановили, що натрій (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбоксилати та їхні галогеновмісні аналоги є носіями протизапальної

(антиексудативної) активності, котра щонайбільше притаманна сполуці DSK-38, а її показник ED_{50} дорівнює 4 мг/кг проти 8 мг/кг у диклофенаку натрію.

3. Ступінь антиексудативного ефекту сполук зумовлений наявністю [1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолінового циклу, визначається довжиною карбоксиалкільного фрагмента положення 6 і суттєво залежить від замісника положення 3 та наявності флуору в молекулі положення 9.

Список літератури

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – 15-е изд. перераб., испр. и доп. / М.Д. Машковский. – М. : РИА Новая волна, 2008. – 1206 с.
2. Степанюк Г.І. Скринінг анальгетичної активності в ряду похідних(3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот / Г.І. Степанюк, Н.Г. Черноиван, С.І. Коваленко та ін. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – №1(20). – С. 52–55.
3. Семененко Н.О. Церебропротекторні властивості похідних (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот (експериментальне дослідження) : автореф. дис. на здобуття наук ступеня к.мед.н. : спец. 14.03.05 – фармакологія / Н.О. Семененко. – Одеса, 2014. – 20 с.
4. Актопротекторна активність солей (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їх галогеновмісних аналогів / Г.І. Степанюк, О.В. Почелова, Н.Г. Степанюк та ін. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – №4-5(40). – С. 90–95.
5. Патент України на корисну модель №81634 МПК (2013.01) А61К 31/00. Солі (3-*R*-8-*R*₁-9-*R*₂-10-*R*₃-11-*R*₄-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбонових кислот, що підвищують фізичну витривалість організму / Г.І. Степанюк, О.В. Почелова, Н.І. Черноиван та ін. – Заявл. 20.12.2012; Опубл. 10.07.2013 // Бюлетень. – №13.
6. Патент України на корисну модель №84257 МПК (2013.01) А61К 31/215. Застосування натрієвої солі 4-(2-оксо-3-метил-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)-бутанової кислоти в якості церебропротекторного засобу / Н.О. Семененко, Г.І. Степанюк, А.І. Семененко та ін. – №U201306088; Заявл. 17.05.2013; Опубл. 10.10.2013 // Бюлетень №19. – 4 с.
7. Protein Data Bank [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.pdb.org>.
8. MarvinSketch version: 6.3.0, 2015; ChemAxon. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.chemaxon.com>.
9. Trott O. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading / O. Trott, A.J. Olson // J. Comput. Chem. – 2010. – Vol. 31. – P. 455–461.
10. Discovery Studio Visualizer v4.0.100.13345. Accelrys Software Inc.
11. Michael F. Sanner. Python: A programming Language for Software Integration and Development / F. Michael // J. Mol. Graphics Mod. – 1999. – Vol. 17. – P. 57–61.
12. Науково-методичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожемякін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко та ін. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.
13. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария и др. – К., 1983. – 383 с.
14. Наказ Міністерства охорони здоров'я України «Порядок проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» от 14.12.2009 р. №944.
15. European convention for the protection of vertebrate animal used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.
16. Степанюк Г.І. Противовоспалительные, анальгетические и вазоактивные свойства производных бензофурана : автореф. дис. на соискание ученой степени д.мед.н. : спец. 14.00.25 – фармакологія / Г.І. Степанюк. – К., 1989. – 40 с.
17. Дроговоз С.М. Експериментальне (доклінічне) вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як нестероїдні протизапальні засоби / С.М. Дроговоз, І.А. Зупанець, М.А. Мохорт та ін. // Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / ред. О.В. Стефанов. – К. : Авіцена, 2001. – С. 292–306.
18. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О.Ю. Реброва. – М. : МедиаСфера, 2006. – 312 с.

References

1. Mashkovskij, M. D. (2008) *Lekarstvennye sredstva [Drugs]*. Moscow: RIA Novaya volna. [in Russian].
2. Stepaniuk, H. I., Chornoivan, N. H., Kovalenko, S. I., et al. (2011) Skryninh analhetichnoi aktyvnosti v riadu pokhidnykh(3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]tryazyno[2,3-*c*]khinazolin-6-il)karbonovykh kyslot [Screening of actoprotective activity among (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)carboxylic acids.]. *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, 1(20), 52–55. [in Ukrainian].
3. Semenenko, N. O. (2014) *Tserebroprotektorni vlastyvoli pokhidnykh (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]tryazyno[2,3-*c*]khinazolin-6-il)karbonovykh kyslot* (Avtoref. dis. . . kand. med. nauk) [Cerebroprotective properties of (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)carboxylic acid]. (Extended abstract of candidate's thesis). Odessa. [in Ukrainian].
4. Stepaniuk, H. I., Pochelova, O. V., Stepaniuk, N. H., Kovalenko, S. I., & Voskoboinik, O. Yu. (2014) Aktoprotektorna aktyvnist solei (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]tryazyno[2,3-*c*]khinazolin-6-il)karbonovykh kyslot ta yikh halohenovmisykh analogiv [Actoprotective activity of (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)carboxylic acids and their halogen-containing analogs]. *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, 4–5(40), 90–95. [in Ukrainian].
5. Chornoivan, N. I., Voskoboinik, O. Yu., Skorina, D. Yu., & Kovalenko, S. I. (patentee) (2013) Patent Ukrainy na korysnu model №81634 MPK (2013.01) А61К 31/00. Soli (3-*R*-8-*R*₁-9-*R*₂-10-*R*₃-11-*R*₄-2-оксо-2*H*-[1,2,4]tryazyno[2,3-*s*]khinazolin-6-il)alkylkarbonovykh kyslot, shcho pidvyshchuiut fizychnu vytryvalist orhanizmu [Patent of Ukraine for useful model №81634 MPK (2013.01) А61К 31/00. Salts of (3-*R*-8-*R*₁-9-*R*₂-10-*R*₃-11-*R*₄-2-оксо-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)alkylcarboxylic acids, which increases the physical endurance of organism]. *Biuletyn*, 13. [in Ukrainian].
6. Semenenko, N. O., Stepaniuk, H. I., Semenenko, A. I., Kovalenko, S. I., Voskoboinik, O. Yu., & Skorina, D. Yu. (patentee) (2013) Patent Ukrainy na korysnu model №84257 MPK (2013.01) А61К 31/215. Zastosuvannia natriievoi soli 4-(2-оксо-3-метил-2*H*-[1,2,4]tryazyno[2,3-*s*]khinazolin-6-il)-butanovoi kysloty v yakosti tserebroprotektornoho zasobu

- [Patent of Ukraine for useful model № 84257 MPK (2013.01) A61K 31/215. Usage of sodium salts of 4-(2-oxo-3-methyl-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-6-yl)butanoic acids as cerebroprotective activity]. *Biuletен*, 19. [in Ukrainian].
- Protein Data Bank, pdb. Retrieved from <http://www.pdb.org>
 - MarvinSketch version: 6.3.0, 2015; ChemAxon. Retrieved from <http://www.chemaxon.com>.
 - Trott, O., & Olson, A. J. (2010) AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J. Comput. Chem.*, 31, 455–461. doi: 10.1002/jcc.21334.
 - Discovery Studio Visualizer v4.0.100.13345. Accelrys Software Inc.
 - Michael, F. (1999) Sanner. Python: A programming Language for Software Integration and Development. *J. Mol. Graphics Mod.*, 17, 57–61.
 - Kozhemiakin, I. M., Khromov, O. S., Filonenko, M. A., et al. (2002) *Naukovo-metodychni rekomendatsii z utrymannia laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy [Guidelines for care and working with laboratory animals]*. Kyiv: Avicena. [in Ukrainian].
 - Zapadnyuk, I. P., Zapadnyuk, V. I., Zakhariya, E. A., et al. (1983) *Laboratornye zhyvotnye. Razvedenie, sodержanie, ispol'zovanie v e'ksperimente [Laboratory animals: breeding, care and usage in experiment]*. Kyiv. [in Ukrainian].
 - (2009) Nakaz Ministerstva okhorony zdorov'ia Ukrainy «Poriadok provedennia doklinichnoho vyvchennia likarskykh zasobiv ta ekspertyzy materialiv doklinichnoho vyvchennia likarskykh zasobiv» ot 14.12.2009 r. №944 [Ministry of public health of Ukraine order «Rules for conduction of preclinical study of drugs and expertise of materials of preclinical study of drugs» 14 December 2009 №944]. [in Ukrainian].
 - (1986). European convention for the protection of vertebrate animal used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg.
 - Stepanyuk, G. I. (1989) *Protivovospalitel'nye, anal'geticheskie i vazoaktivnye svoystva proizvodnykh benzofurana (Avtoref. dis... dokt. med. nauk) [Anti-inflammatory, analgesic and vasoactive properties of benzofurane derivatives]*. Dr. med. sci. diss.]. Kyiv. [in Ukrainian].
 - Drohovoz, S. M., Zupanets, I. A., Mokhort, M. A., Yakovleva, L. V., & Klebanov, B. M. (2001) Eksperymentalne (doklinichne) vyvchennia farmakolohichnykh rehovyn, yaki proponuiutsia yak nesteroidni protyzapalni zasoby [Experimental (preclinical) study of potential non-steroid anti-inflammatory drugs]. *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv*, O.V. Stefanov (Ed). (S. 292–306). Kyiv: Avicenna. [in Ukrainian].
 - Rebrova, O. Yu. (2006) *Statisticheskij analiz medicinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh program Statistica [Statistical analysis of medicinal data using Statistica software]*. Moscow: MediaSfera. [in Russian].

Відомості про авторів:

Якубовська В. В., заочний аспірант каф. фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова. Серединська Н. М., д. мед. н., зав. відділу фармакології протизапальних та анальгезуючих засобів, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України».

Воскобойнік О. Ю., к. фарм. н., доцент каф. органічної та біоорганічної хімії, Запорізький державний медичний університет.

Степанюк Г. І., д. мед. н., професор каф. фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, E-mail: pharmacology@vnm.edu.ua.

Коваленко С. І., д. фарм. н., професор, зав. каф. органічної та біоорганічної хімії, Запорізький державний медичний університет, E-mail: kovalenkosergiy@gmail.com.

Сведения об авторах:

Якубовская В. В., заочный аспирант каф. фармакологии, Винницкий национальный медицинский университет имени М. И. Пирогова. Серединская Н. М., д. мед. н., зав. отделом фармакологии противовоспалительных и анальгезирующих средств, ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины».

Воскобойник А. Ю., к. фарм. н., доцент каф. органической и биорганической химии, Запорожский государственный медицинский университет.

Степанюк Г. И., д. мед. н., профессор каф. фармакологии, Винницкий национальный медицинский университет имени М. И. Пирогова, E-mail: pharmacology@vnm.edu.ua.

Коваленко С. И., д. фарм. н., профессор, зав. каф. органической и биорганической химии, Запорожский государственный медицинский университет, E-mail: kovalenkosergiy@gmail.com.

Information about authors:

Yakubovska V. V., PhD Student, Department of Pharmacology, Vinnytsya National Pirogov memorial Medical University,

Seredinska N. M., MD, PhD, DSci, Head of Department of Pharmacology Anti-inflammatory and Analgetic Drugs GI «Instute Pharmacology and Toxicology NAMS Ukraine».

Voskoboynik O. Yu., MD, PhD, Associate Professor, Department of Organic and Bioorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University.

Stepanyuk G. I., MD, PhD, DSci, Professor, Department of Pharmacology Vinnytsya National Pirogov memorial Medical University, E-mail: pharmacology@vnm.edu.ua

Kovalenko S. I., MD, PhD, DSci, Professor, Head of Department of Organic and Bioorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, E-mail: kovalenkosergiy@gmail.com.

Надійшла в редакцію 11.02.2016 р.