



Дослідження фармакологічного потенціалу 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій броміду

О. І. Панасенко¹A,C,E,F, Т. С. Британова²B,C,D,E, А. С. Гоцуля³*E

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Гетероциклічна система 1,2,4-тріазолу та його похідних є одним із лідерів на шляху до створення перспективних біологічно активних сполук. Особливості хімічної будови похідних цього гетероциклу зумовлюють широкий спектр можливостей для хімічних перетворень, що дають змогу одержати насправді дієві лікарські засоби. Залучення до хімічних перетворень одночасно кількох замісників, що мають властивості високореакційних центрів, також сприяє формуванню раціональних шляхів створення біологічно активної сполуки. Роль таких груп у хімії часто виконують аміно-, меркапто- або гідроксогрупи. Залучення цих груп як замісників 1,2,4-тріазолового синтону дає змогу здійснити спрямовану хімічну трансформацію. Здатність подібних структурних фрагментів до формування хімічних взаємодій і зв'язків із біологічними мішенями має додатковий позитивний ефект – залучення до хімічних перетворень на шляху до спрямованого одержання біологічно активної субстанції.

Отже, поєднання гетероциклічної структури з високореакційним хімічним центром має теоретично обґрунтований і практично значущий зміст.

Мета роботи – предиктивне визначення потенціалу створення біологічно активної субстанції з протигрибковою дією на основі 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій броміду.

Матеріали і методи. Прогнозування токсичності ряду сполук здійснили, використавши програму TEST (Toxicity Estimation Software Tool), за допомогою якої визначили предиктивний рівень гострої токсичності, екотоксичності та мутагенності. Прогнозування фізико-хімічних, фармакокінетичних параметрів, а також оцінювання лікоподібності та доступності речовин здійснили, застосувавши онлайн ресурс SwissADME. Найсприятливішу просторову конфігурацію ліганду щодо активної ділянки білка визначили, використавши метод обчислювальний метод молекулярного докінгу, крім того, оцінили силу їхньої взаємодії. Підготовка лігандів відбувалась із застосуванням програмного функціоналу MarvinSketch 6.3.0, HyperChem 8 та AutoDock Tools-1.5.6. Підготовка модельного ензиму передбачала використання програмних продуктів Discovery Studio 4.0 та AutoDock Tools-1.5.6. Практичну реалізацію гнучкого молекулярного докінгу здійснили, залучивши програмні інструменти платформи AutoDock/Vina.

Результати. У процесі поетапного прескринінгу сформованих структур ряду 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій броміду отримали низку якісних і кількісних показників, що пов'язані з фізико-хімічними характеристиками та фармакокінетичними параметрами речовин, які дослідили. Згідно з результатами першого етапу досліджень, аналізовану групу речовин можна можна предиктивно вважати малотоксичною, але з високим ризиком проявлення мутагенних властивостей. На наступному етапі роботи, який передбачав аналіз фізико-хімічних показників, фармакокінетичних параметрів, загальної лікоподібності та біодоступності, 1-алкілпохідні 3,5-диметил-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій броміду визначені як речовини з досить позитивним фармакологічним профілем.

Завершальний етап – молекулярний докінг структури сполук, що дослідили, до активного сайту ланостерол 14 α -деметилази – дав змогу визначити природу хімічної взаємодії та тип амінокислотних залишків, які можуть бути задіяні під час виявлення протигрибкових властивостей ключових лігандів. Аналіз результатів докінгу дав підстави визначити привілейований характер нонільного замісника при першому атомі Нітрогену 1,2,4-тріазолового синтону в структурі представленого ряду сполук для формування протигрибкових властивостей.

Висновки. Загальні перспективи щодо створення біологічно активної субстанції з протигрибковими властивостями з залученням 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій броміду вважаємо доволі реалістичними. Особливий науковий інтерес викликає 3,5-диметил-1-ноніл-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій бромід як речовина зі значним потенціалом протигрибкових властивостей. Отже, є підстави рекомендувати цю сполуку для наступних більш конструктивних і масштабних досліджень *in vitro* та *in vivo*.

Ключові слова: 4-аміно-1,2,4-тріазол, дизайн, токсичність, ADME-аналіз, молекулярне моделювання.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 3(46). С. 219-225

ARTICLE INFO



UDC 615.015.11:547.792
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.3.311769](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.3.311769)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(3):219-225

Keywords: 4-amino-1,2,4-triazole, design, toxicity, ADME analysis, molecular modeling.

*E-mail: andrey.goculya@gmail.com

Received: 02.09.2024 // Revised: 20.09.2024 // Accepted: 08.10.2024

Research on the pharmacological potential of 1-alkyl derivatives of 3,5-dimethyl-4-((4-nitrobenzylidene)amino)-1,2,4-triazolium bromide

O. I. Panasenko, T. S. Brytanova, A. S. Hotsulia

The heterocyclic system of 1,2,4-triazole and its derivatives is one of the leaders in the development of highly promising biologically active compounds. The peculiarities of the chemical structure of the derivatives of this heterocycle provide a wide range of possibilities for chemical transformations that allow to obtain really effective drugs. The involvement of several substituents in chemical transformations simultaneously, which have the properties of highly reactive centers, additionally creates favorable conditions for the formation of rational ways to create a biologically active compound. Amino-, mercapto- or hydroxogroups often play the role of such groups in chemistry. The use of these groups as substituents of 1,2,4-triazole synthon provides multifaceted opportunities for directed chemical transformation. The ability of such structural fragments to form chemical interactions and bonds with biological targets has an additional positive effect in the sense of their involvement in chemical transformations on the way to the targeted production of a biologically active substance. Thus, the combination of a heterocyclic structure with a highly reactive chemical center is endowed with theoretically sound and practically significant meaning.

The aim of the work is to preliminarily determine the potential for creating a biologically active substance with antifungal action based on 1-alkyl derivatives of 3,5-dimethyl-4-((4-nitrobenzylidene)amino)-1,2,4-triazolium bromide.

Materials and methods. The toxicity of the studied compounds has been predicted using the TEST program (Toxicity Estimation Software Tool), which allowed to determine the predictive level of acute toxicity, ecotoxicity and mutagenicity. The physicochemical and pharmacokinetic parameters have been predicted, and the drug-like properties and availability of the investigated substances have been assessed using the online resource SwissADME. The determination of the most favorable spatial configuration of the ligand relative to the active site of the protein and the assessment of the strength of their interaction have been realized using the computational method of molecular docking. The ligands have been prepared using MarvinSketch 6.3.0, HyperChem 8 and AutoDock Tools-1.5.6 software. The preparation of the model enzyme has been based on the use of Discovery Studio 4.0 and AutoDock Tools-1.5.6. The practical implementation of flexible molecular docking has been carried out using the software tools of the AutoDock/Vina platform.

Results. In the process of step-by-step prescreening of the formed structures of a number of 1-alkyl derivatives of 3,5-dimethyl-4-((4-nitrobenzylidene)amino)-1,2,4-triazolium bromide, a number of qualitative and quantitative indicators related to the physicochemical characteristics and pharmacokinetic parameters of the studied substances have been obtained. According to the results of the first stage of research, the group of substances under consideration can be predictively considered low-toxic, but with a high risk of mutagenic properties. The next stage of the work, which involved the analysis of physicochemical parameters, pharmacokinetic parameters, general drug-like properties and bioavailability, allowed us to identify 1-alkyl derivatives of 3,5-dimethyl-4-((4-nitrobenzylidene)amino)-1,2,4-triazolium bromide as substances with a rather positive pharmacological profile. The final stage in the form of molecular docking of the structure of the studied compounds to the active site of lanosterol 14 α -demethylase allowed us to determine the nature of the chemical interaction and the type of amino acid residues that may be involved in the antifungal properties of the key ligands. The analysis of the docking results allows us to determine the privileged nature of the nonyl substituent at the first Nitrogen atom of the 1,2,4-triazole synthon in the structure of the presented series of compounds for the formation of antifungal properties.

Conclusions. The general prospects for the creation of a biologically active substance with antifungal properties using 1-alkyl derivatives of 3,5-dimethyl-4-((4-nitrobenzylidene)amino)-1,2,4-triazolium bromide look quite realistic. Particular attention should be paid to 3,5-dimethyl-1-nonyl-4-((4-nitrobenzylidene)amino)-1,2,4-triazolium bromide as a substance with significant potential for antifungal properties, which allows us to recommend this compound for further more constructive and extended *in vitro* and *in vivo* studies.

Keywords: 4-amino-1,2,4-triazole, design, toxicity, ADME analysis, molecular modeling.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(3):219-225

Відомо, що гетероциклічні сполуки є зручною основою для створення біологічно активних сполук із широким спектром корисних властивостей [1,2,3,4,5]. Серед чималої кількості представників у цьому ряді сполук особливо вирізняються похідні 1,2,4-тріазолу, які успішно використовують як дієві лікарські засоби. Передусім слід наголосити на їхній протигрибковій активності, оскільки вориконазол, флуконазол, ітраконазол та інші споріднені ліки є ефективними засобами під час лікування навіть тяжких форм мікозів. Відомі також такі ліки, як анастразол, летрозол і ворозол – протиракові засоби; ризатриптан – протимігренозний лікарський препарат; алпразолам і триазолам відомі за транквілізуючою активністю, а рибавірин – противірусною. Зауважимо, що наведений перелік не вичерпний. Останніми роками у науковій літературі публікують результати численних наукових досліджень і вітчизняних, і іноземних науковців, що підтверджують високий потенціал для нових відкриттів у сфері хімії та фармакології похідних

цієї гетероциклічної системи [6,7,8,9,10,11,12,13,14]. Отже, вибір вектора наукової діяльності, що пов'язана із цим класом гетероциклічних сполук, обґрунтований і підтверджений десятиліттями їхнього успішного практичного застосування.

4-Аміно-1,2,4-тріазол-3-тіоні вирізняються серед інших похідних цього гетероциклу завдяки наявності високореакційних центрів, що дають змогу швидко й ефективно трансформувати вихідну молекулу у бажаний продукт із попередньо спланованим спектром фармакологічних властивостей. Безпосереднє введення до структури 1,2,4-тріазолу аміно- та меркаптогруп характеризується відносною хімічною доступністю та дає змогу істотно підвищити біологічний потенціал цільового продукту хімічного перетворення.

Наведені факти обґрунтовують актуальність і практичне значення наукової роботи, що спрямована на створення і дослідження властивостей нових похідних 4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіону [15].

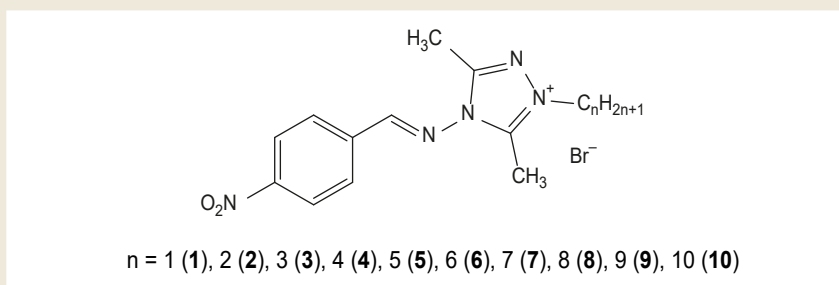


Рис. 1. Загальна будова сконструйованих для досліджень речовин.

Мета роботи

Предиктивне визначення потенціалу створення біологічно активної субстанції з протигрибковою дією на основі 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій броміду.

Матеріали і методи дослідження

Детально вивчили результати наукової роботи багатьох вітчизняних та іноземних колективів, визначили перспективний ряд речовин, що характеризуються високим рівнем практичної значущості. Ухвалили рішення про дослідження 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій броміду (рис. 1).

Комп'ютерне моделювання, що дає змогу визначити попередній рівень токсичності сполук, стало важливим інструментом наукових досліджень. Завдяки такому підходу оптимізують процес вибору сполук для наступних детальніших досліджень *in vitro* та *in vivo*.

Для практичного втілення комп'ютерного моделювання застосували комп'ютерну програму Агентства з охорони навколишнього середовища США TEST (Toxicity Estimation Software Tool), що ґрунтується на використанні кількісних зв'язків структура – активність. Серед доступних методів, що передбачені TEST, обрано консенсусний. З-поміж параметрів обрали гостру токсичність, мутагенність та екотоксичність.

Фармакінетичні показники, пов'язані з процесами адсорбції, транспорту та перерозподілу, а також параметри метаболічних процесів та елімінації розраховані за допомогою онлайн інструменту SwissADME. Ця платформа дає змогу також зробити висновки щодо відповідності загальноприйнятим критеріям лікоподібності.

Фармакодинамічний профіль, що пов'язаний із протигрибковими властивостями дослідженого ряду сполук, визначений методом гнучкого молекулярного докінгу до активного сайту ланостерол 14 α -деметилази (3LD6). Для реалізації методу використали інструменти програмного комплексу AutoDock Tools/Vina. Як джерело структури ланостерол 14 α -деметилази застосували Protein Data Bank (PDB) [16,17,18,19].

Молекулярний докінг передбачав такі кроки:

1. робота з лігандом: а) конструювання досліджуваних структур у mol-форматі (MarvinSketch 6.3.0); б)

формування 3D-моделей сполук із залученням двох методів, зокрема молекулярної механіки MM+ і напівемпіричного квантово-механічного PM3 у взаємодії з Polak-Ribiere-алгоритмом (HyperChem 8); в) PDB-формування структур; г) векторне перетворення файлів форматного спрямування PDB \rightarrow PDBQT (AutoDock Tools-1.5.6);

2. превентивні дії для раціональної роботи з ензимом: а) екстракція води та лігандів як складових модельного комплексу (Discovery Studio 4.0); б) PDB-форматне збереження конфігурації ензиму; в) векторне перетворення файлу ферменту спрямуванням PDB \rightarrow PDBQT (AutoDock Tools-1.5.6);

3. гнучкий докінг: а) практичне втілення процесу («Vina»); б) візуалістично-графічний аналіз та інтерпретація даних (Discovery Studio 4.0).

Результати

Запропонований для досліджень ряд 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій броміду можна охарактеризувати як достатньо прийнятний з погляду доступності реагентів і використання відомих методів синтезу. Втім, звісно, необхідним є обґрунтування доцільності цього процесу. Для цього здійснили *in silico* дослідження параметрів токсичності, а також фармакокінетичного та фармакодинамічного профілів в аспекті протигрибкової активності.

Перший блок результатів дав змогу сформулювати загальне уявлення щодо предиктивного рівня токсичності. Так, з огляду на сформований інтервал значень LD₅₀, який становив 1271,38–1831,65 мг/кг, обрані для досліджень сполуки можна попередньо визначити як речовини, що не мають значного потенціалу до розвитку стану отруєння організму людини (табл. 1). Разом із тим, сполуки 1–8 характеризуються певним потенціалом до ініціації мутагенних властивостей; це викликає особливий науковий інтерес. У разі практичної реалізації масштабування процесів виробництва субстанцій із залученням сполук цього ряду необхідно сконцентрувати увагу на предиктивних значеннях LC₅₀ для *Daphnia magna* та, за необхідності, підтвердити чи спростувати їх за результатами *in vivo* досліджень (табл. 1).

На наступному етапі дослідження одержали вичерпні результати ADME-аналізу. Частка Csp³-гібридних атомів для формування оптимального рівня насиченості має

Таблиця 1. Кількісні показники *in silico* оцінювання токсичності 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій броміду

№	LD ₅₀ (щури, пероральне введення), мг/кг / моль/кг	Мутагенність	LC ₅₀ (<i>Daphnia magna</i>), 48 год, -log ₁₀ моль/л / мг/л
1	1489,88 / 2,36	0,96 / +	5,20 / 1,65
2	1530,96 / 2,34	0,98 / +	5,34 / 1,27
3	1831,65 / 2,20	0,96 / +	5,49 / 0,93
4	1716,08 / 2,25	0,96 / +	5,63 / 0,71
5	1649,74 / 2,28	0,96 / +	5,71 / 0,62
6	1649,11 / 2,30	0,86 / +	5,85 / 0,46
7	1318,69 / 2,42	0,62 / +	5,96 / 0,37
8	1281,80 / 2,45	0,60 / +	6,06 / 0,32
9	1271,38 / 2,47	0,46 / -	6,17 / 0,25
10	1700,08 / 2,36	0,46 / -	6,27 / 0,21

Таблиця 2. Результати ADME-аналізу 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій броміду

Показник	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Csp ³	0,25	0,31	0,36	0,40	0,44	0,47	0,50	0,53	0,55	0,57
ЧОЗ	4	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MP	87,74	87,74	92,55	97,35	102,16	106,97	111,77	116,58	121,39	126,20
ТППП, Å ²	79,88	79,88	79,88	79,88	79,88	79,88	79,88	79,88	79,88	79,88
iLogP	-2,79	-2,79	-3,10	-3,01	-3,06	-3,51	-2,49	-2,35	-2,35	-1,34
XLogP3	3,77	3,77	4,30	4,65	5,19	5,74	6,28	6,82	7,36	7,90
WLogP	-1,40	-1,40	-1,01	-0,62	-0,23	0,16	0,55	0,94	1,33	1,72
MLogP	2,12	2,12	2,37	2,62	2,86	3,09	3,32	3,55	3,77	3,98
SILICOS-IT	0,10	0,10	0,48	0,86	1,25	1,65	2,04	2,45	2,85	3,26
Log P _{ов}	0,36	0,36	0,60	0,90	1,20	1,62	1,94	2,28	2,59	3,11
Lipinski	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ghose	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Veber	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Egan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Muegge	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
ШКА	Прогнозовано висока									
ГЕБ	Прогнозовано малоімовірне подолання									
P-gr	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Log Kp, см/с	-5,78	-5,78	-5,49	-5,33	-5,03	-4,73	-4,43	-4,13	-3,83	-3,5
PAINS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ШКА: шлунково-кишкова адсорбція; ГЕБ: гематоенцефалічний бар'єр.

бути не менше ніж 0,25. Усі досліджені сполуки відповідають цьому рівню. Число хімічних зв'язків, навколо яких можливе вільне обертання (ЧОЗ), є оптимальним для сполук 1–8; це важливий чинник пероральної біодоступності (табл. 2). Значення молярної рефрактерності (MP) менше за 40 можуть свідчити про певні обмеження під час взаємодії з біомішенню, а значення понад 130 можуть вказувати на певні обмеження під час подолання біомембрани (табл. 2).

Сполуки, що дослідили, мають сприятливий профіль за цим показником. Позитивний характер значень зафіксовано і під час аналізу параметрів топологічної площини полярної поверхні (ТППП). Ці дані підтверджують доволі сприятливий прогноз щодо пероральної біодоступності.

Ліпофільність розраховали у координації з коефіцієнтом log P_{ов}. Достатній рівень достовірності оцінювання за цим параметром забезпечується використанням кількох

Таблиця 3. Результати молекулярного докінгу 1-алкіл-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій галогенідів до активного сайту ланостерол 14 α -деметилази

№	Природа та тип взаємодій лігандів з ензимом
1	Leu A: 321 (п- σ), Met A: 79 (п-алкіл), Met A: 433 (міжмолекулярний водневий зв'язок), Tyr A: 76 (п-п-Т-стекінг)
2	Leu A: 321 (п- σ), Met A: 79 (п-алкіл), Met A: 433 (міжмолекулярний водневий зв'язок), Tyr A: 76 (п-п-Т-стекінг)
3	Leu A: 321 (алкіл, п-алкіл), Met A: 79 (п-алкіл), Met A: 433 (міжмолекулярний водневий зв'язок), Phe A: 78 (п-п-Т-стекінг), Tyr A: 76 (п-п-Т-стекінг)
4	Ala A: 256 (алкіл), Cys A: 394 (п-алкіл), Leu A: 321 (алкіл, п- σ), Thr A: 260 (C-H), Tyr A: 76 (алкіл)
5	Ala A: 256 (алкіл), Cys A: 394 (алкіл, п-алкіл), Leu A: 321 (п- σ), Leu A: 324 (алкіл), Pro A: 386 (міжмолекулярний водневий зв'язок), Thr A: 260 (C-H), Tyr A: 76 (алкіл)
6	Ala A: 256 (алкіл), Cys A: 394 (алкіл, п-алкіл), Leu A: 321 (п- σ), Leu A: 324 (алкіл), Pro A: 386 (міжмолекулярний водневий зв'язок), Thr A: 260 (C-H), Tyr A: 76 (алкіл)
7	Ala A: 256 (алкіл), Arg A: 96 (міжмолекулярний водневий зв'язок), Cys A: 394 (п-алкіл), Leu A: 321 (алкіл, п-алкіл), Leu A: 324 (алкіл), Phe A: 63 (п-алкіл), Phe A: 387 (міжмолекулярний водневий зв'язок), Tyr A: 76 (алкіл)
8	Ile A: 323 (міжмолекулярний водневий зв'язок), Leu A: 321 (п-алкіл), Leu A: 324 (алкіл), Met A: 79 (п-алкіл), Phe A: 78 (п-п-Т-стекінг), Tyr A: 76 (п-п-Т-стекінг)
9	Ala A: 256 (п-алкіл), Ala A: 400 (алкіл), Cys A: 394 (алкіл), His A: 392 (алкіл), Leu A: 321 (алкіл), Phe A: 387 (п-алкіл), Pro A: 320 (алкіл), Thr A: 260 (міжмолекулярний водневий зв'язок)
10	Ala A: 256 (алкіл), Ala A: 400 (алкіл), Cys A: 394 (алкіл), Leu A: 315 (алкіл), Leu A: 321 (алкіл, п-алкіл), Met A: 79 (п-алкіл), Met A: 433 (міжмолекулярний водневий зв'язок), Tyr A: 76 (п-п-Т-стекінг), Val A: 434 (C-H)

Таблиця 4. Показники мінімальної енергії взаємодії 1-алкіл-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій галогенідів з активним центром ланостерол 14 α -деметилази

№	E_{min}	№	E_{min}	№	E_{min}	№	E_{min}
1	-8,5	3	-7,1	6	-7,7	9	-9,6
2	-8,3	4	-8,8	7	-8,6	10	-8,1
Флуконазол	-10,1	5	-8,5	8	-7,6	–	–

E_{min} : мінімальна енергія комплексоутворення, ккал/моль.

показників. Так, модель XlogP3 дала підстави визначити сполуки 1–4 як речовини зі сприятливим співвідношенням ліпофільності та гідрофільності; це зумовлює хорошу адсорбцію (табл. 1). Натомість сполуки 5–10 мають досить високий рівень прогнозованої ліпофільності; теоретично це демонструє певні обмеження за біодоступністю. Особливо виразно це виявили під час аналізу сполук 9 і 10. Сполуки, які мають найбільш наближене до 0 значення WLogP, характеризуються найсприятливішим співвідношенням гідрофільно-ліпофільних властивостей для оптимальної реалізації біодоступності. Як такі сполуки визначили речовини 5 і 6 зі значенням WLogP -0,23 і 0,16 відповідно (табл. 1). Аналіз показників, що одержані з використанням моделі iLogP, предиктивно констатує переважання гідрофільних властивостей у досліджуваних сполук. Про це свідчить негативний інтервал значень (табл. 1). Значення MLogP вказують на сприятливий ліпофільно-гідрофільний баланс у сполук із коротшим алкілним замісником. Незважаючи на більш виражені ліпофільні властивості у ноніл- і децилпохідних, вони не повинні мати значних обмежень біодоступності (табл. 1).

Консенсусне значення показника, який характеризує ліпофільність, можна вважати таким, що демонструє доволі сприятливий імовірний характер біодоступності та здатності долати клітинні мембрани (табл. 1). Окремо зауважимо,

що досить виражена прогнозована ліпофільність сполук 9 і 10 свідчить про доволі високі ризики накопичення в жирових тканинах, а отже потенційної токсичності.

Наступний етап *in silico* досліджень дав підстави зробити висновок про відсутність PAINS-попереджень (табл. 1).

У результаті досліджень встановили рівні показника Log K_p, який описує імовірну швидкість подолання шкірного бар'єра: від -3,54 см/с до -5,78 см/с (табл. 1).

Практично значущими є результати предиктивного оцінювання імовірної участі досліджених сполук у роботі P-глікопротеїнового транспортера (P-gp) (табл. 1).

Враховуючи наявність 1,2,4-тріазолового синтону в структурі представлених сполук, який відомий за потенціалом протигрибкової активності, вирішили залучити для заключного етапу досліджень докінговий процес на моделі ланостерол 14 α -деметилази. Гнучкий докінг до активного центру цього ензиму дав змогу визначити природу та кількість амінокислотних залишків, що можуть бути задіяні в процесі контакту з ним (табл. 3).

Кількісні показники, зокрема мінімальна енергія взаємодії досліджених сполук з ланостерол 14 α -деметилазою, дали змогу додатково оцінити можливість виявлення протигрибкової активності 1-алкіл-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій галогенідами (табл. 4).

Обговорення

Серед аналізованого ряду сполук саме 1-пропіл-3,5-диметил-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій бромід виявився потенційно найменш токсичним зі значенням LD₅₀ на рівні 1831,65 мг/кг. Найімовірніше, ризик токсичного ураження органів і систем організму людини має 1-ноніл-3,5-диметил-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій бромід, для якого значення LD₅₀ становить 1271,38 мг/кг.

Встановлено, що для більшості сполук є висока імовірність виявлення мутагенних властивостей. Тільки 1-ноніл- і 1-децилпохідні дослідженого ряду сполук мають більш позитивний профіль і не повинні мати потенціал до виявлення мутагенності. Загальна закономірність щодо виявлення мутагенних властивостей серед досліджених 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій броміду дає підстави стверджувати, що подовження алкільного ланцюга при першому атомі 1,2,4-тріазолового синтону супроводжується зменшенням ризиків ініціації мутагенних процесів. Додатково треба звернути увагу на доволі високі ризики екотоксичності, що продемонстровано на прикладі гідробіонта *Daphnia magna*.

Низка фізико-хімічних параметрів, визначена за допомогою SwissADME аналізу, дає підстави зробити висновок про доволі позитивні перспективи щодо загальної біодоступності. Додатково про це свідчать предиктивно сформовані показники ліпофільно-гідрофільних властивостей. Разом із тим, варто звернути увагу на підвищену імовірність виявлення кумулятивних властивостей щодо тканин, які багаті на ліпіди, у 1-ноніл- та 1-децил-3,5-диметил-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій бромідів. Дещо обмеженим є прогноз біодоступності, як врахувати консенсусний показник коефіцієнта log P_{ов}: кількісні критерії моделі XlogP3 свідать про певні обмеження біодоступності у разі наявності при першому атомі 1,2,4-тріазолового синтону замісників від пентилового до децилового.

Незважаючи на різнорівневий характер прогнозу загального адсорбтивного потенціалу, який так само пов'язаний із ліпофільно-гідрофільними властивостями, саме пасивна шлунково-кишкова адсорбція в прогнозі позиціонується як високорівнева для всіх досліджених сполук. Протилежні висновки зроблені під час оцінювання імовірності подолання гематоенцефалічного бар'єра – вона не притаманна дослідженим речовинам.

В аналізованого ряду сполук визначено негативний профіль PAINS-попереджень, що дає змогу уникнути хибнопозитивних результатів у процесі досліджень.

Значення Log K_p дають підстави зробити висновок про незначні перспективи щодо подолання мембранних бар'єрів. Зауважимо, що перехід від метильного до децильного замісника супроводжується загальним поліпшенням імовірної шкірної проникності та обґрунтовує певну доцільність введення сполук **9** і **10** до складу мазей, лініментів, кремів або трансдермальних пластирів.

Проаналізувавши скалькульовані значення транспортера глікопротеїну-P, зазначимо: лише речовини **3**, **4** і **5** можуть бути залученими до цього процесу. Всі інші сполуки (**1**, **2**, **6–10**) характеризуються можливістю формувати необхідний рівень концентрації в цільових тканинах та органах.

Аналіз результатів здатності подолати фільтр Бренка сполуками дослідженого ряду дав підстави зафіксувати обмеження, пов'язані з наявністю нітро- та азотинової груп; це підвищує імовірність утворення токсичних або високореакційноздатних метаболітів.

Результати, встановлені під час молекулярного докінгу, дали змогу констатувати, що найчастішим типом взаємодії сполук із зазначеним ферментом є π-алкіл, участь у якій притаманна всім без винятку алкілпохідним. Наголосимо, що цей тип взаємодій забезпечується залишками метіоніну (Met A: 79), цистеїну (Cys A: 394), лейцину (Leu A: 321), фенілаланіну (Phe A: 63). Важливу роль відіграють і класичні алкільні взаємодії, що є важливою складовою у контактах з активним сайтом ланостерол 14α-деметилази для сполук із тіоалкановим фрагментом з кількістю атомів Карбону від 3 до 10. Зауважимо і на π-π-Т-стекинговій взаємодії, що реалізується завдяки наявності *para*-нітрофенільного замісника в сполук **1–3**, **8**, **10** та за активної участі залишків тирозину (Tyr A: 76).

Ще один важливий механізм, який дає змогу додатково вплинути на ланостерол 14α-деметилазу, – π-σ-взаємодія. До взаємодії цього типу залучаються залишки лейцину (Leu A: 321) та речовини з кількістю атомів Карбону в тіоалкільному фрагменті до 6. Враховуючи аліфатичну природу лейцину, встановлено, що саме ароматичний фрагмент аналізованих сполук має значення під час формування контактів такого типу із модельним ферментом. Важливий внесок у посилення взаємодії досліджуваних сполук з активним сайтом ланостерол 14α-деметилази робить міжмолекулярний водневий хімічний зв'язок, що може виникнути між залишками аргініну (Arg A: 96), ізолейцину (Ile A: 323), метіоніну (Met A: 433), проліну (Pro A: 386), фенілаланіну (Phe A: 387) або треоніну (Thr A: 260) та атомом Оксигену у складі нітрогрупи *para*-нітрофенільного фрагмента молекул, що вивчали. Сполуки **4–6** і **10** додатково можуть утворювати C-H взаємодію, що виникає з залишками валіну (Val A: 434) та треоніну (Thr A: 260).

Аналіз кількісних показників мінімальної енергії взаємодії з активним сайтом модельного ензиму дав підстави виокремити сполуку **9**, яка за цим параметром подібна до флуконазолу.

Висновки

1. Враховуючи предиктивно визначені параметри токсичності, фармакокінетичні та фармакодинамічні показники, констатовано практично значущий фармакологічний потенціал ряду 1-алкілпохідних 3,5-диметил-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій броміду.

2. Доцільним є продовження дослідження протигрибкових властивостей 3,5-диметил-1-ноніл-4-((4-нітробензиліден)аміно)-1,2,4-тріазолій броміду.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Панасенко О. І., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0002-6102-3455

Британова Т. С., канд. фарм. наук, старший викладач каф. фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-1805-4552

Гоцуля А. С., д-р фарм. наук, доцент каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-9696-221X

Information about authors:

Panasenko O. I., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Toxicological and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Brytanova T. S., PhD, Senior Lecturer of the Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Hotsulia A. S., PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Toxicological and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

1. Abdelli A, Azzouni S, Plais R, Gaucher A, Efrat ML, Prim D. Recent advances in the chemistry of 1,2,4-triazoles: Synthesis, reactivity and biological activities. *Tetrahedron Letters*. 2021;86:153518. doi: [10.1016/j.tetlet.2021.153518](https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2021.153518)
2. Dai J, Tian S, Yang X, Liu Z. Synthesis methods of 1,2,3-/1,2,4-triazoles: A review. *Front Chem*. 2022;10:891484. doi: [10.3389/fchem.2022.891484](https://doi.org/10.3389/fchem.2022.891484)
3. Zarenezhad E, Farjam M, Iraj A. Synthesis and biological activity of pyrimidines-containing hybrids: focusing on pharmacological application. *J Mol Struct*. 2021;1230. doi: [10.1016/j.molstruc.2020.129833](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129833)
4. Slivka MV, Korol NI, Fizer MM. Fused bicyclic 1,2,4-triazoles with one extra sulfur atom: Synthesis, properties, and biological activity. *J Heterocyclic Chem*. 2020;1-19. doi: [10.1002/jhet.4044](https://doi.org/10.1002/jhet.4044)
5. Shcherbyna R, Panasenko O, Polonets O, Nedorezaniuk N, Duchenko M. Synthesis, antimicrobial and antifungal activity of ylidenhydrazides of 2-((4-R-5-R1-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetaldehydes. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*. 2021;45(3):504-14. doi: [10.33483/jfpau.939418](https://doi.org/10.33483/jfpau.939418)
6. Samelyuk YG, Kaplaushenko AG. Synthesis of 3-alkylthio(sulfo)-1,2,4-triazoles, containing methoxyphenyl substituents at C5atoms, their antipyretic activity, propensity to adsorption and acute toxicity. *Journal of chemical and pharmaceutical research*. 2014;6(5):1117-21.
7. Gotsulya A, Zaika Y, Brytanova T. Synthesis, properties and biological potential some condensed derivatives 1,2,4-triazole. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*. 2022;46(2):308-21. doi: [10.33483/jfpau.971602](https://doi.org/10.33483/jfpau.971602)
8. Malani AH, Makwana AH, Makwana HR. A brief review article: Various synthesis and therapeutic importance of 1,2,4-triazole and its derivatives. *Mor. J. Chem*. 2017;5(1):41-58.
9. Ogloblina MV, Bushueva IV, Martynshyn VP, Parchenko VV, Soloviov SO, Gladisheva SA. [Development of industrial production technology with determination of the quality of a soft medicine "Vetmikoderm" for veterinary]. *Farmatsevtichnyi zhurnal*. 2023;(6):83-93. Ukrainian. doi: [10.32352/0367-3057.6.23.06](https://doi.org/10.32352/0367-3057.6.23.06)
10. Šermukšnytė A, Kantminienė K, Jonuškienė I, Tumosiienė I, Petrikaitė V. The effect of 1,2,4-triazole-3-thiol derivatives bearing hydrazone moiety on cancer cell migration and growth of melanoma, breast, and pancreatic cancer spheroids. *Pharmaceuticals*. 2022;15(8):1026. doi: [10.3390/ph15081026](https://doi.org/10.3390/ph15081026)
11. Grytsai O, Valiashko O, Penco-Campillo M, Dufies M, Hagege A, Demange L, et al. Synthesis and biological evaluation of 3-amino-1,2,4-triazole derivatives as potential anticancer compounds. *Bioorg Chem*. 2020;104:104271. doi: [10.1016/j.bioorg.2020.104271](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104271)
12. Safonov AA. Method of synthesis novel N'-substituted-2-((5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetohydrazides. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*. 2020;44(2):242-52. doi: [10.33483/jfpau.580011](https://doi.org/10.33483/jfpau.580011)
13. Karpenko Y, Hunchak Y, Gutij B, Hunchak A, Parchenko M, Parchenko V. Advanced research for physico-chemical properties and parameters of toxicity piperazinium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2022;2(36):18-25. doi: [10.15587/2519-4852.2022.255848](https://doi.org/10.15587/2519-4852.2022.255848)
14. Gotsulya A. Synthesis and antiradical activity of alkyl derivatives of 5-(5-methyl-1H-pyrazol-3-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-thiol. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*. 2020;44(2):211-219. doi: [10.33483/jfpau.616116](https://doi.org/10.33483/jfpau.616116)
15. Fedotov SO, Hotsulia AS. Synthesis and properties of S-derivatives of 4-amino-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2021;14(3):268-274. doi: [10.14739/2409-2932.2021.3.243176](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.243176)
16. Chekman IS, Nebesna TIu, Symonov PV. In silico: novyi napriam v rozrobtsi farmakolohichnykh ta farmatsevtichnykh vlastyvoitei likarskykh zasobiv [In silico: a new direction in the development of pharmacological and pharmaceutical properties of medicinal products]. *Klinichna farmatsiia*. 2012;16(2):4-14. Ukrainian.
17. Biovia. Discovery Studio Visualizer, v 19.1.0.18287 [Software]. 2019. Available from: <http://www.3dsbiovia.com>
18. ChemAxon. MarvinSketch, Version 6.3.0. [Software]. 2015. Available from: <http://www.chemaxon.com>
19. Worldwide Protein Data Bank. (n.d.). Protein Data Bank (PDB) [Database]. Available from: <http://www.pdb.org>