

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Объект авторского права

УДК 615.014:615.281.9:547.581.2:547.856.1(043.3)

СЕЧКО
Ольга Григорьевна

**ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НОВЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ
ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗАМИДА, БЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ
И ПРОПИЛТИАДИАЗОЛОХИНАЗОЛИНА, ОБЛАДАЮЩИХ
АНТИБИОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

по специальности 14.04.01 – Технология получения лекарств.
Фармацевтическая химия, фармакогнозия.
Организация фармацевтического дела

Минск 2023

Научная работа выполнена в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Научный руководитель: **Царенков Валерий Минович**, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической технологии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Жебентяев Александр Ильич**, доктор фармацевтических наук, профессор

Наркевич Игорь Анатольевич, доктор фармацевтических наук, профессор, ректор федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Оппонирующая организация: учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Защита диссертации состоится 14 декабря 2023 года в 14.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.02 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220083, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, e-mail: uchsovet@bsmu.by, тел. (+375 17) 302 16 21.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан 13 ноября 2023 года.

Ученый секретарь совета
по защите диссертации Д 03.18.02,
кандидат медицинских наук, доцент



А.Г. Кадушкин

ВВЕДЕНИЕ

Главный фактор, затрудняющий борьбу с туберкулезом, – это формирование у микобактерий резистентности к противотуберкулезным лекарственным препаратам (ПТЛП). Особенно опасным является быстрое распространение микобактерий с множественной (МЛУ) и широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ), которые вызывают инфекции, плохо или вообще не поддающиеся лечению существующими препаратами [ВОЗ, 2021]. Лекарственная устойчивость (ЛУ) обусловлена двумя механизмами – накоплением генов устойчивости в результате интенсивного отбора при действии антибиотиков и активным горизонтальным переносом генов устойчивости. Микобактерии становятся все более устойчивы к действию ПТЛП I ряда (изониазид, рифампицин, пиразинамид и этамбутол). Устойчивость к ПТЛП увеличивается из-за их неправильного и чрезмерного использования [Землянко О.М., 2018].

За последние 40 лет на рынке появилось только 2 новых препарата, созданных специально для борьбы с ЛУ-штаммами, – бедаквилин и деламанид [Hewison C. et al., 2022].

Согласно данным статистического ежегодника 2021 в 2020 году в Республике Беларусь зарегистрировано 1,2 тыс. пациентов с впервые в жизни установленным активным туберкулезом (что составляет 12,6 на 100 000 человек населения). Успех лечения МЛУ туберкулеза в нашей стране составляет лишь 56 % [Гуревич Г.Л. и др., 2021].

Несмотря на огромные усилия по совершенствованию химиотерапии туберкулеза, проблема лечения туберкулеза далека от окончательного решения. В этой связи проведение исследований, направленных на разработку и исследование новых эффективных противотуберкулезных соединений, представляется актуальным, обоснованным и имеющим высокую социально-экономическую значимость.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами

Диссертационная работа выполнена в рамках следующих проектов: гранта БРФФИ М19МЛДГ-010 «Получение и фармацевтическое исследование пропилтиадиазолохиназолина с оптимизированными биофармацевтическими свойствами» (№ ГР 20192443, 2019-2021 гг.), задания «Получение, оценка антимикробной активности и безопасности некоторых производных бензамида и бензойной кислоты» ГПНИ «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биооргхимия» (№ ГР 20230397, 2023-2025 гг.).

Тема диссертационной работы соответствует приоритетным направлениям научно-технической деятельности в Республике Беларусь на

2016-2020 годы, утвержденным Указом Президента Республики Беларусь от 22.04.2015 № 166 – пункту 4 «Медицина, фармацевтика, медицинская техника: фармацевтические технологии, медицинские биотехнологии, лекарственные средства, диагностические препараты и тест-системы», а также соответствует приоритетным направлениям научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2021-2025 годы согласно Указа Президента Республики Беларусь от 07.05.2020 № 156 – пункту 2 «Биологические, медицинские, фармацевтические и химические технологии и производства: фармацевтические субстанции, диагностические препараты и системы, лекарственные средства и иммуномодуляторы».

Цель исследования: установить противотуберкулезную активность новых синтетических производных бензамида, бензойной кислоты и пропилтиадиазолохиназолина.

Задачи исследования:

1. Провести скрининговые исследования новых синтетических производных бензамида, бензойной кислоты, пропилтиадиазолохиназолина с целью выявления противотуберкулезной активности.

2. Исследовать противотуберкулезную активность выявленных новых синтетических соединений в отношении лекарственно-чувствительного лабораторного референс-штамма *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv и клинического штамма *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью.

3. Оценить безопасность соединений, обладающих выраженной противотуберкулезной активностью.

4. Установить механизм взаимодействия наиболее активного соединения с мишенью.

5. Исследовать физико-химические свойства и параметры биодоступности соединения, обладающего выраженной противотуберкулезной активностью.

Научная новизна

Впервые исследовано 17 новых синтетических соединений – производных бензамида и производных бензойной кислоты на наличие противотуберкулезной активности, на основании чего выявлено 7 соединений, обладающих противотуберкулезной активностью и построен порядок приоритета заместителей, вносящих вклад в противотуберкулезную активность.

Впервые установлена противотуберкулезная активность 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамида (ПБА-7.1) в отношении лекарственно-чувствительного лабораторного референс-штамма *M. tuberculosis* H37Rv и в отношении клинического штамма *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью, что позволило предложить его как наиболее активное противотуберкулезное соединение.

Получены новые данные об отсутствии общетоксического действия при внутрижелудочном введении сульфата 2-меркапто-5Н-[1,3,4]-тиадиазоло-[2,3-б]-хиназолин-5-она (MF-001-H₂SO₄), установлены дозы DL₁₆, DL₅₀, DL₈₄, DL₁₀₀ и определен класс токсичности.

Получены новые данные об отсутствии общетоксического действия при внутрижелудочном введении ПБА-7.1 в остром и подостром экспериментах и определен класс токсичности.

Новыми являются данные о механизме взаимодействия ПБА-7.1 с ферментом *M. tuberculosis* еноил-[ацил-переносящий-белок]-редуктазой (НАДН), полученные с использованием метода молекулярного докинга, а также физико-химические характеристики и параметры биодоступности ПБА-7.1 *in silico*.

Впервые выявлена антимикобактериальная активность производных пропилтиадиазолохиназолина в отношении штамма *Mycobacterium intracellulare*.

Положения, выносимые на защиту

1. Новые синтетические производные бензамида и бензойной кислоты в концентрации 200 мкг/мл обладают противотуберкулезной активностью в отношении штамма *Mycobacterium terrae*. Производное бензамида ПБА-7.1 в концентрации 100 мкг/мл обладает противотуберкулезной активностью в отношении лекарственно-чувствительного лабораторного референс-штамма *M. tuberculosis* H37Rv и клинического штамма *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью.

2. Производные пропилтиадиазолохиназолина – 2-меркапто-5Н-[1,3,4]-тиадиазоло-[2,3-б]-хиназолин-5-он (MF-001) в концентрации 50 мкг/мл и комплекс MF-001 с β-циклодекстрином (β-CD-MF-001) в концентрации 200 мкг/мл – обладают антимикобактериальной активностью в отношении штамма *M. intracellulare*.

3. ПБА-7.1 и MF-001-H₂SO₄ являются безопасными соединениями и принадлежат 5-му классу токсичности по OECD и GHS классификации.

4. ПБА-7.1 взаимодействует с активным центром фермента *M. tuberculosis* еноил-[ацил-переносящий-белок]-редуктазой (НАДН), который является мишенью для изониазида.

5. Физико-химические характеристики и параметры биодоступности ПБА-7.1. соответствуют критериям «подобия лекарства», что прогнозирует высокую биодоступность при пероральном приеме.

Личный вклад соискателя ученой степени

Соискателем самостоятельно проведен патентно-информационный поиск и анализ литературы; анализ ассортимента ПТЛП, зарегистрированных в Республике Беларусь и в Российской Федерации, анализ разрабатываемых ПТЛП, исследована противотуберкулезная активность новых синтетических

производных бензамида, бензойной кислоты и пропилтиадиазолохиназолина; исследована активность производных пропилтиадиазолохиназолина в отношении штамма *M. intracellulare*; изучена безопасность нового синтетического производного бензамида 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамида (ПБА-7.1) и сульфата 2-меркапто-5Н-[1,3,4]-тиадиазоло-[2,3-б]-хиназолин-5-она (MF-001-H₂SO₄) на грызунах; методом молекулярного докинга установлен механизм взаимодействия ПБА-7.1 с активным центром фермента *M. tuberculosis* еноил-[ацил-переносающий-белок]-редуктазой (НАДН), установлены физико-химические характеристики и параметры биодоступности ПБА-7.1 *in silico*, установлена растворимость ПБА-7.1 в эксперименте; выполнена статистическая обработка результатов, написана рукопись диссертации. Выбор методических подходов при выполнении исследований, обсуждение и публикация результатов в виде научных статей и тезисов проведены совместно с научным руководителем. Доля личного участия в исследовании составляет 80%, в публикациях 7–А, 8–А, 10–А, 12–А, 13–А, 16–А, 21–А, 23–А – 100%, в совместных публикациях – 85%.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Основные положения диссертационной работы представлены на научной конференции в рамках выставки «Здравоохранение Беларуси – 2019» (Минск, 2019), LXXIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы современной медицины и фармации» (Минск, 2019), научной конференции с международным участием «Получение и фармацевтическое исследование новых молекул и препаратов с терапевтическим потенциалом» (Минск-Кишинёв, 2020), научной конференции с международным участием «Перспективы исследования фармацевтических препаратов синтетического и природного происхождения» (Минск-Кишинёв, 2021), IX Белорусско-Китайском молодежном инновационном форуме «Новые Горизонты-2022» (Минск, 2022), международной научно-практической конференции «Белорусские лекарства» (Минск, 2022), научной сессии Белорусского государственного медицинского университета (Минск, 2023).

Полученные данные внедрены и используются в учебном процессе УО «Белорусский государственный медицинский университет» и УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», в научной деятельности ГНУ «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси» научно-производственного центра «ХимФармСинтез». По результатам исследования утверждены и используются 2 рационализаторских предложения.

Опубликованность результатов диссертации

Результаты диссертационного исследования опубликованы в 23 печатных работах, из них в журналах, включенных в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований по фармацевтическим наукам, – 8 (объем в авторских листах – 5,5), в научных периодических рецензируемых изданиях зарубежных стран – 1 статья (объем в авторских листах – 0,25). В журналах и сборниках, включенных в Перечень по медицинским наукам, опубликовано 2 статьи (объем в авторских листах – 1,5). В материалах конференций опубликовано 12 работ (объем в авторских листах – 5,2). Общее количество авторских листов – 12,45.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 134 страницах машинописного текста и состоит из следующих разделов: перечня сокращений и обозначений, введения, общей характеристики работы, пяти глав, заключения, списка использованных источников и приложений. Список использованных источников (библиографический список, список публикаций соискателя ученой степени) занимает 22 страницы и включает 227 источников, в том числе 173 – на иностранных языках, а также 23 публикации соискателя. Диссертация содержит 24 рисунка, 34 таблицы и 6 приложений. Объем диссертации без списка использованных источников и приложений – 103 страницы.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы исследований

Объекты исследований

В работе изучено 20 соединений из трех химических групп: 14 производных бензамида, 3 производных бензойной кислоты и 3 производных пропилтиадиазолохиназолина (таблица 1).

Производные бензамида и бензойной кислоты включены в исследование на основании логико-структурного подхода и выполненного *in silico* прогноза их активности как в отношении лекарственно-чувствительного *M. tuberculosis*, так и в отношении МЛУ *M. tuberculosis*. *In silico* прогноз биологической активности осуществляли с помощью программы Way2Drug PASS Online с использованием сервиса AntiBac Pred. Производные пропилтиадиазолохиназолина исследовали в рамках международного Белорусско-Молдавского проекта «Получение и фармацевтическое исследование пропилтиадиазолохиназолина с оптимизированными биофармацевтическими свойствами» (грант БРФФИ № М19МЛДГ-010 от 21.06.2019, № ГР 20192443, 2019-2021 гг.). В качестве препаратов сравнения использовали ПТЛП I ряда.

Таблица 1 – Химические названия и коды, присвоенные исследуемым соединениям

Химическое название	
Производные бензамида	
4-[[2-(метил-5-нитрофенил)амино]метил]-N-{4-[(2-(метилкарбамоил)пиридин-4-ил)окси]фенил}бензоат	ПБА-1
4-[[4-{[2-(метилкарбамоил)пиридин-4-ил]окси}фенил]амино]метил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамид	ПБА-2
Диэтил (4-[[4-((2-(метилкарбамоил)пиридин-4-ил)окси)фенил]амино]метил}бензоил)глутамат	ПБА-3
N-[3-(4-метил-1H-имидазол-1-ил)-5-(трифторметил)фенил]-4-[[4-(пиридин-2-ил)пиримидин-2-ил]амино]метил}бензамид	ПБА-4
Диэтил (4-[[4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил]амино]метил}бензоил)глутамат	ПБА-5
4-[[4-(пиридин-3-ил)пиримидин-2-ил]амино]метил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамид	ПБА-6
3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамид	ПБА-7.1
3-[4-(3-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамид	ПБА-7.2
4-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамид	ПБА-7.3
4-[4-(3-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамид	ПБА-7.4
3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(4-метил-1H-имидазол-1-ил)-5-(трифторметил)фенил]бензамид	ПБА-8.1
3-[4-(3-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(4-метил-1H-имидазол-1-ил)-5-(трифторметил)фенил]бензамид	ПБА-8.2
4-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(4-метил-1H-имидазол-1-ил)-5-(трифторметил)фенил]бензамид	ПБА-8.3
4-[4-(3-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(4-метил-1H-имидазол-1-ил)-5-(трифторметил)фенил]бензамид	ПБА-8.4
Производные бензойной кислоты	
4-[[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-ил]метил]бензойная кислота	ПБК-1
4-гидроксиметилбензойная кислота	ПБК-2
4-[[2-(метил-5-нитрофенил)амино]метил}бензойная кислота	ПБК-3
Производные пропилтиадиазолохиназолина	
2-меркапто-5H-[1,3,4]-тиадиазоло-[2,3-b]-хиназолин-5-он	MF-001
Сульфат 2-меркапто-5H-[1,3,4]-тиадиазоло-[2,3-b]-хиназолин-5-она	MF-001-H ₂ SO ₄
Комплекс 2-меркапто-5H-[1,3,4]-тиадиазоло-[2,3-b]-хиназолин-5-она с β-циклодекстрином	β-CD-MF-001

Примечание – ПБА – производное бензамида, ПБК – производное бензойной кислоты.

Скрининговые исследования противотуберкулезной активности *in vitro* новых синтетических производных бензамида, бензойной кислоты и пропилтиадиазолохиназолина

Скрининговые исследования противотуберкулезной активности (ПТА) проводили на штамме *M. terrae* ATCC 15755 с использованием метода

разведений в плотной питательной среде в чашках Петри. Для оценки ПТА использовали визуальную оценку роста *M. terrae* в плотной питательной среде.

Исследование противотуберкулезной активности *in vitro* в отношении лекарственно-чувствительного лабораторного референс-штамма *M. tuberculosis* H37Rv и в отношении клинического штамма *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью

Определение чувствительности микобактерий к ПБА-7.1 в концентрациях 100 и 200 мкг/мл выполняли в обогащенной жидкой питательной среде Миддлбрук 7H9 с использованием автоматизированной системы ВАСТЕС™ MGIT™ 960. Для проведения исследования было отобрано два штамма: лекарственно-чувствительный лабораторный референс-штамм *M. tuberculosis* H37Rv NCTC 7416 (ATCC 9360) и клинический штамм *M. tuberculosis* NRLB-21 с МЛУ к изониазиду, рифампицину, этамбутолу, пипразинамиду, амикацину, этионамиду, моксифлоксацину, левофлоксацину и чувствительностью к линезолиду, клофазимину, бедаквилину и деламаниду.

Токсикологические исследования

Острая токсичность. Исследуемые соединения (ПБА-7.1, MF-001-H₂SO₄) вводили однократно внутрижелудочно в виде суспензии в дозах 100, 500 и 2000 мг/кг. По истечении 14 дней животных подвергали эвтаназии с соблюдением принципов, изложенных в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1997), проводили necropsию животных исследуемых и контрольных групп, после чего осуществляли визуальный осмотр, макроскопический анализ внутренних органов и определяли массу следующих органов: сердце, печень, легкие, селезенка и почки. Проводили сравнение показателей массы тела и массы внутренних органов исследуемых и контрольных групп. Исследование острой токсичности ПБА-7.1 проводили на здоровых мышах обоего пола линии СВА и на крысах обоего пола линии Вистар.

Исследование острой токсичности MF-001-H₂SO₄ проводили на здоровых мышах обоего пола линии СВА и на крысах обоего пола линии Вистар. Значения DL₅₀, DL₁₆, DL₈₄, DL₁₀₀ определяли с использованием пробит-анализа в соответствии с экспериментально установленной летальностью. Класс токсичности соединения определяли по значению DL₅₀.

Подострая токсичность ПБА-7.1. ПБА-7.1 вводили ежедневно 1 раз в сутки на протяжении 28 дней внутрижелудочно в виде суспензии в дозах 10, 50 и 100 мг/кг массы. Исследование подострой токсичности проводили на здоровых крысах обоего пола линии Вистар. Определяли следующие показатели мочи: билирубин, уробилиноген, кетоновые тела, белок, нитриты,

глюкоза, лейкоциты, концентрация аскорбиновой кислоты, рН, относительная плотность мочи и цвет мочи. В цельной крови рассчитывали гематологические показатели и показатели лейкоцитарной формулы. В сыворотке крови измеряли показатели: аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, билирубин, холестерин, креатинин, глюкоза, общий белок и мочеви́на.

Растворимость

Растворимость ПБА-7.1 определяли по методике, описанной в Фармакопее ЕАЭС т. I, 2.3.6.0. и Фармакопее ГФ РБ II Т.1., 5.11.

***In silico* прогнозирование физико-химических характеристик и параметров биодоступности**

In silico прогнозирование физико-химических характеристик и параметров биодоступности или ADME параметров (англ. Absorption – всасывание, Distribution – распределение, Metabolism – метаболизм, Excretion – экскреция) и соответствия критериям «подобия лекарства» (критериям Липински, Вебера, Эгана, Муеге и Гоуза) выполняли с использованием сервера SwissADME.

Критерии Липински: молекулярная масса ≤ 500 г/моль; $\text{LogP} \leq 5$; доноров водородной связи (NH и/или OH групп) ≤ 5 и акцепторов водородной связи (суммарное количество атомов N и O) ≤ 10 .

Критерии Вебера: количество вращающихся связей ≤ 10 , площадь полярной поверхности $\leq 140 \text{ \AA}^2$.

Критерии Эгана: $\text{LogP} \leq 5,88$, площадь полярной поверхности $\leq 131,6 \text{ \AA}^2$.

Критерии Муеге: $200 \text{ г/моль} \leq$ молекулярная масса $\leq 600 \text{ г/моль}$, $-2 \leq \text{LogP} \leq 5$, площадь полярной поверхности $\leq 150 \text{ \AA}^2$, количество циклов ≤ 7 , атомов углерода > 4 , количество гетероатомов > 1 , количество вращающихся связей ≤ 15 , акцепторов водородной связи ≤ 10 , доноров водородной связи ≤ 5 .

Критерии Гоуза: $160 \text{ г/моль} \leq$ молекулярная масса $\leq 480 \text{ г/моль}$, $-0,4 \leq \text{LogP} \leq 5,6$, $40 \leq$ молекулярная рефракция ≤ 130 , $20 \leq$ количество атомов ≤ 70 .

Молекулярный докинг

Для поиска мишени *M. tuberculosis* к лиганду ПБА-7.1 использовали сервис для предсказания мишеней SEA Search Service. Молекулярный докинг проводили в программе UCSF Chimera 1.16 с использованием расширения AutoDock Vina 1.1.2. Кристаллическую структуру мишени фермента еноил-[ацил-переносящий-белок]-редуктазы (НАДН) (InhA) в комплексе с изониазид-НАДН заимствовали из Банка данных белков (PDB ID: 4TRO (разрешение $1,40 \text{ \AA}$)). Подготовку фермента, определение размеров и положения активного центра фермента, визуализацию взаимодействия и связей комплекса белок-лиганд и анализ результатов осуществляли в программе Chimera 1.16 и с помощью сервера ProteinsPlus.

Статистическая обработка экспериментальных данных

Для оценки статистической достоверности результатов использовали непараметрические методы анализа (критерии Уилкоксона, Манна–Уитни, Краскела–Уоллиса). Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием компьютерной программы «Statistica 10.0». Различия считали статистически значимыми с доверительной вероятностью не менее 95 % ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Противотуберкулезная активность *in vitro* новых синтетических производных бензамида и производных бензойной кислоты

Наблюдаемый рост *M. terrae* представлен в таблице 2. Исследованные соединения расположены в таблице 2 по принципу их химического строения и согласно проявленной активности – от более активных к менее активным.

Таблица 2 – Рост *M. terrae* в присутствии производных бензамида и бензойной кислоты

Код соединения	100 мкг/мл	200 мкг/мл
Производные бензамида		
ПБА-7.1	++++	–
ПБА-2	++++	++
ПБА-1	++++	+++
ПБА-3	++++	+++
ПБА-5	++++	+++
ПБА-6	++++	++++
ПБА-4	++++	++++
Производные бензойной кислоты		
ПБК-3	++++	–
ПБК-1	++++	++
ПБК-2	++++	++++
ПТЛП-сравнения		
изониазид	–	–
этамбутол	–	–
рифампицин	+	–
Контроль растворителя и культуры		
контроль растворителя (диметилсульфоксид)	++++	
контроль роста культуры (<i>M. terrae</i> ATCC 15755)	++++	

Примечание – «++++» – обильный рост, «+++» – сильный рост, «++» – слабый рост, «+» – незначительный рост, «±» – единичные колонии, «–» – отсутствие роста.

Наиболее активные соединения – ПБА-7.1 и ПБК-3. Наблюдаемая в эксперименте активность соединений ПБА-7.1 и ПБК-3 такая же, как у рифампицина.

Противотуберкулезная активность *in vitro* новых синтетических изомеров ПБА-7.1 и изомеров, содержащих дополнительный заместитель 4-метил-1H-имидазол-1-ил

Наблюдаемый рост *M. terrae* представлен в таблице 3. Исследованные соединения расположены в таблице 3 по принципу их химического строения и согласно проявленной активности – от более активных к менее активным.

Таблица 3 – Рост *M. terrae* в присутствии производных бензамида

Код соединения	100 мкг/мл	200 мкг/мл
Изомеры ПБА-7.1		
ПБА-7.1	±	–
	±	–
	±	–
ПБА-7.2	–	–
	–	–
	–	–
ПБА-7.3	++	–
	++	–
	++	–
ПБА-7.4	+++	+
	+++	+
	+++	+
Изомеры, содержащие заместитель 4-метил-1H-имидазол-1-ил		
ПБА-8.1	–	–
	–	–
	–	–
ПБА-8.2	–	–
	–	–
	–	–
ПБА-8.4	–	–
	–	–
	–	–
ПБА-8.3	+++	++
	++	++
	+++	++
ПТЛП-сравнения		
Рифампицин	–	–
	–	–
	–	–
Контроль растворителя и культуры		
контроль растворителя (диметилсульфоксид)	++++	
контроль роста культуры (<i>M. terrae</i> ATCC 15755)	++++	

Основываясь на полученных экспериментальных данных, сопоставили химическое строение и выявленную активность исследуемых молекул и отметили следующее:

– изофталевые производные (ПБА-7.1 и ПБА-7.2) показали значительную ПТА, сравнимую с активностью рифампицина, в отличие от изомерных терефталевых аналогов (ПБА-7.3 и ПБА-7.4), а изменение положения атома фтора (орто-/мета-) в остатке фторбензоилпиперазина в группе изомеров ПБА-7.1 не влияет на активность (рисунок 1);

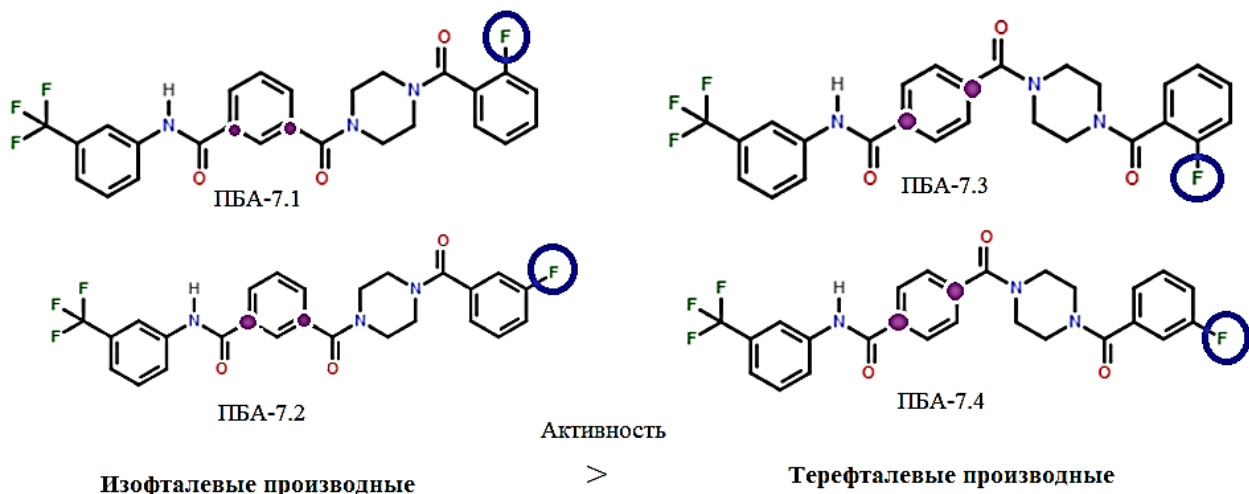


Рисунок 1 – Изофталевые и терефталевые изомеры ПБА-7.1

– переход от ПБА-7.1 и ПБА-7.2 к изофталевым изомерам ПБА-8.1 и ПБА-8.2 сопровождается добавлением заместителя в положение С₅ 3-(трифлюорометил)фенила заместителя 4-метил-1Н-имидазол-1-ил, что не приводит к снижению активности и определяет 4-метил-1Н-имидазол-1-ил как важный структурный заместитель, определяющий высокую ПТА (рисунок 2);

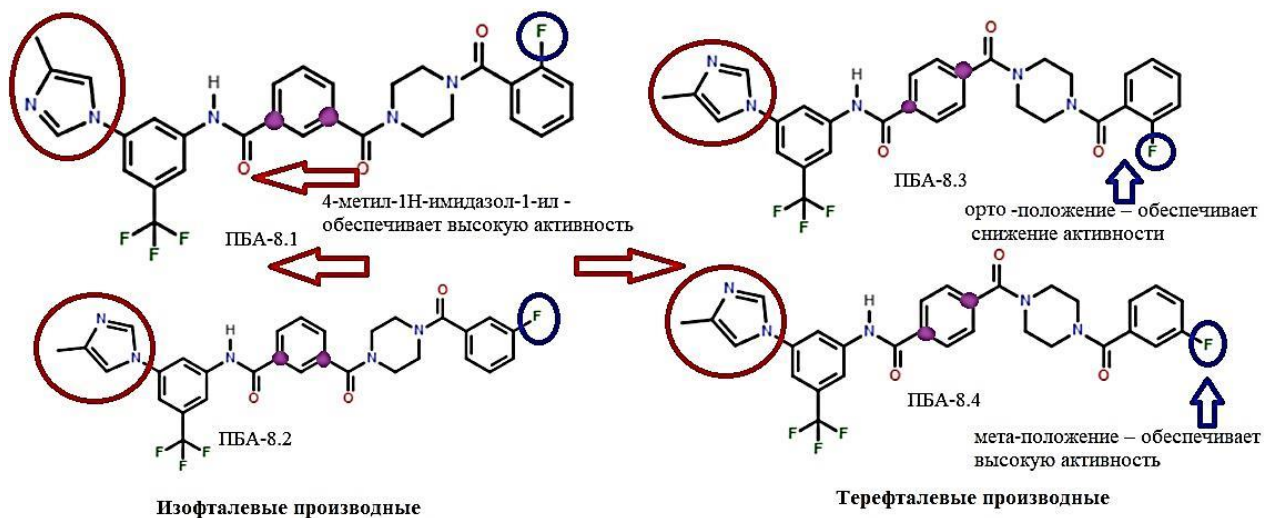


Рисунок 2 – Изофталевые и терефталевые изомеры ПБА-8.1

– переход от ПБА-7.3 и ПБА-7.4 к терефталевым изомерам ПБА-8.3 и ПБА-8.4 сопровождается добавлением заместителя в положение С₅ 3-(трифлюорометил)фенила заместителя 4-метил-1Н-имидазол-1-ил, что приводит к увеличению активности ПБА-8.4 и к небольшому снижению активности ПБА-8.3 (рисунок 2);

– переход от ПБА-8.3 к ПБА-8.4 сопровождается заменой орто-положения атома фтора на метаположение в остатке фторбензоилпиперазин, что приводит к небольшому снижению ПТА (рисунок 2).

Выделили 4 заместителя, входящие в структуру синтетических производных бензамида и бензойной кислоты, определяющие высокую ПТА в порядке приоритета: 4-метил-1Н-имидазол-1-ил, 1-фторбензоилпиперазин > {[2-(метил-5-нитрофенил)амино]метил} > {[2-(метилкарбамоил)пиридин-4-ил]окси}фенил)амино]метил.

Противотуберкулезная активность *in vitro* ПБА-7.1 и ПБК-3

ПБА-7.1 в концентрации 100 мкг/мл полностью подавляет рост лабораторного референс-штамма *M. tuberculosis* H37Rv и клинического штамма *M. tuberculosis* с МЛУ. ПБК-3 в концентрации 100 мкг/мл не подавляет рост лабораторного референс-штамма *M. tuberculosis* H37Rv и клинического штамма *M. tuberculosis* с МЛУ, а в концентрации 200 мкг/мл подавляет рост клинического штамма *M. tuberculosis* H37Rv с МЛУ в такой же степени, как и ПБА-7.1. Таким образом, активнее оказалось соединение ПБА-7.1, поэтому оно было выбрано для дальнейших исследований.

Противотуберкулезная и антимикобактериальная активность *in vitro* синтетических производных пропилтиадиазолохиназолина

MF-001, MF-001-H₂SO₄ и β-CD-MF-001 в концентрации 200 мкг/мл подавляют рост *M. terrae in vitro*. Впервые выявлена антимикобактериальная активность *in vitro* в отношении штамма *M. intracellulare* у MF-001 в концентрации 50 мкг/мл и у β-CD-MF-001 в концентрации 200 мкг/мл.

Острая токсичность ПБА-7.1

Установлено отсутствие ранней и отдаленной гибели животных, получавших ПБА-7.1, в связи с этим DL₅₀ составляет более 2000 мг/кг. При макроскопическом исследовании не было выявлено отрицательного влияния на внутренние органы. ПБА-7.1 является «практически нетоксичным» соединением и относится к 5-му классу токсичности по классификациям OECD (англ. модифицированная классификация Организации экономического содействия и развития) и GHS (англ. гармонизированная система классификации опасности и маркировки химической продукции). DL₅₀ ПБА-7.1 значительно выше, чем DL₅₀ изониазида (170 мг/кг при внутрижелудочном введении мышам), что характеризует ПБА-7.1 как значительно менее токсичное соединение.

Подострая токсичность ПБА-7.1

Никаких отклонений в состоянии животных на протяжении всего эксперимента не выявлено и гибели животных не наступало. Патологических изменений и нарушений в структурной организации внутренних органов не выявлено. Прием ПБА-7.1 влияет на биохимические показатели общий белок, аланинаминотрансфераза, билирубин, глюкоза и мочевины, на гематологические показатели гемоглобин, гематокрит, абсолютное количество тромбоцитов и эритроцитов, средняя концентрация гемоглобина в эритроците, тромбоциты и коэффициент больших тромбоцитов, способствует появлению глюкозы в моче у самок, у самцов глюкозы в моче не обнаружено. В метаболических показателях отклонений не выявлено.

Острая токсичность MF-001-H₂SO₄

Патологических изменений внутренних органов у мышей и крыс обнаружено не было. Установлено, что DL₅₀ при введении мышам составляет 2001,18 ± 656,68 мг/кг, DL₁₆ = 521,73 мг/кг, DL₈₄ = 4220,35 мг/кг и DL₁₀₀ = 4220,35 мг/кг, при введении крысам DL₅₀ составляет более 2000 мг/кг. MF-001-H₂SO₄ является «практически нетоксичным» соединением и относится к 5-му классу токсичности по классификациям OECD и GHS.

Молекулярный докинг

Установлено, что прогнозируемой мишенью ПБА-7.1 является фермент *M. tuberculosis* еноил-[ацил-переносящий-белок]-редуктаза (НАДН) (InhA).

Исследование модели комплекса ПБА-7.1-InhA (рисунок 3) показывает, что ПБА-7.1 связывается с активным центром фермента и образует большое количество межмолекулярных взаимодействий, включающих водородные связи, гидрофобные взаимодействия, π-π-стэкинг и ван-дер-ваальсовы контакты (таблица 4). На рисунке 3В видно, что ПБА-7.1 связывается с тем же активным центром InhA, что и изониазид-НАДН.

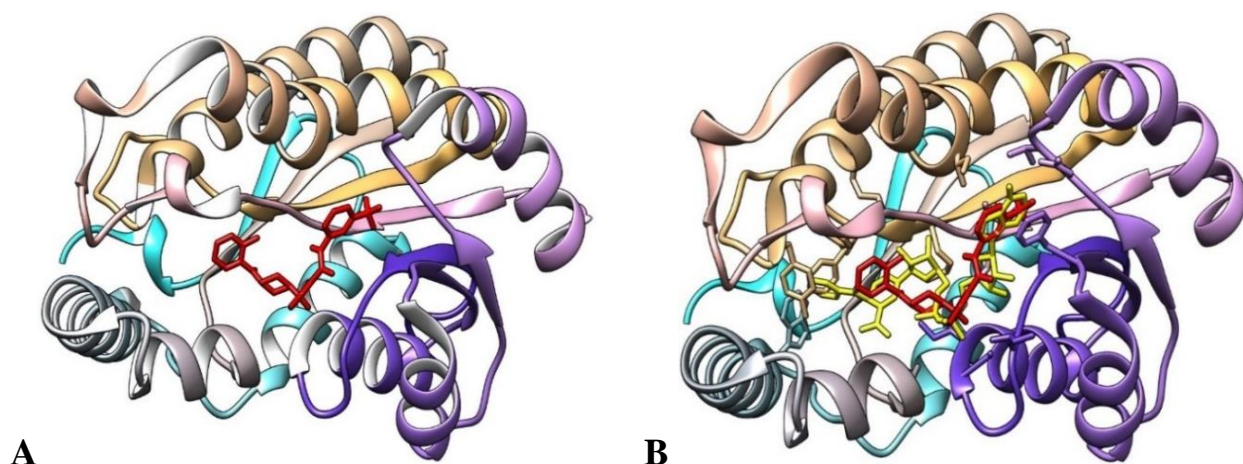


Рисунок 3 – 3D-структуры комплексов (PDB ID: 4TRO), построенные в Chimera 1.16: А – структурный комплекс ПБА-7.1 с ферментом InhA; В – структурный комплекс ПБА-7.1 и сокристаллизованный изониазид-НАДН с ферментом InhA. ПБА-7.1 красного цвета, комплекс изониазид-НАДН желтого цвета

Эффективность межмолекулярных взаимодействий ПБА-7.1 с мишенью InhA подтверждает низкое отрицательное значение свободной энергии связывания – $\Delta G = -11,9$ ккал/моль, свидетельствующее о высоком химическом сродстве ПБА-7.1 к мишени InhA. Доминирующую роль в образовании комплекса ПБА-7.1-InhA играют связи и межмолекулярные взаимодействия, представленные на рисунке 4 и в таблице 4.

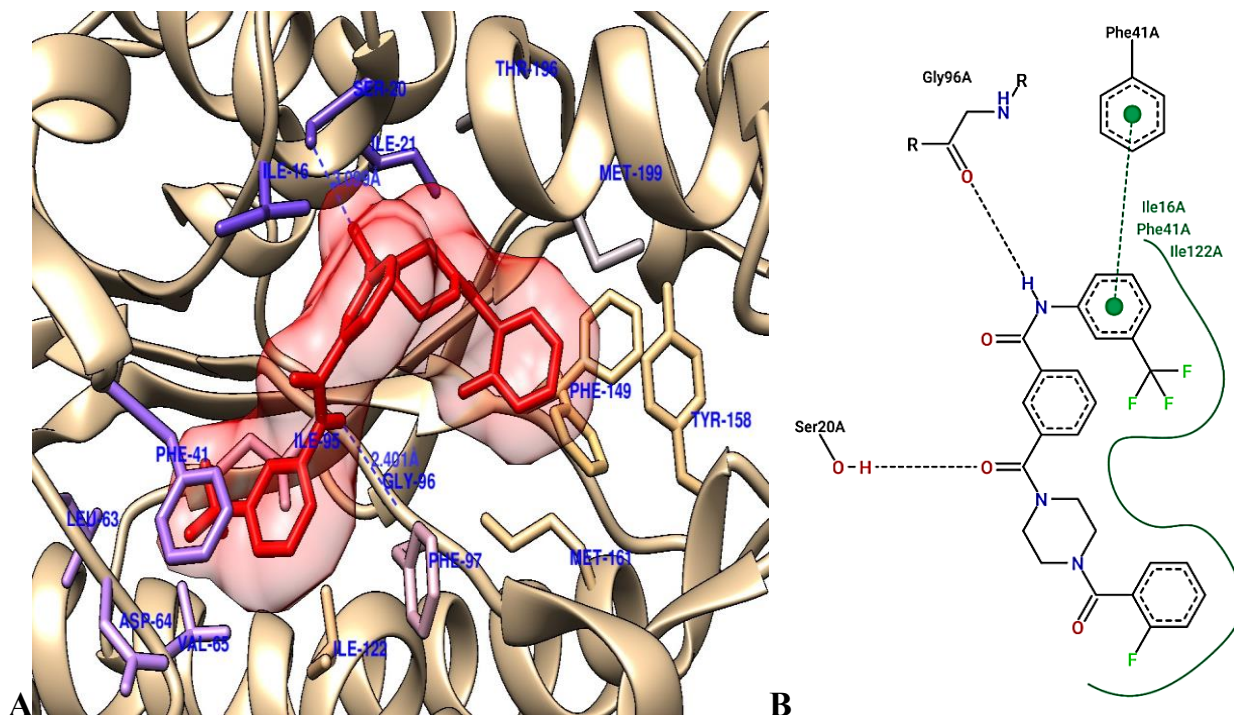


Рисунок 4 – модель взаимодействия ПБА-7.1 с ферментов InhA:

А – 3D-модель взаимодействия ПБА-7.1 с ферментов InhA (PDB ID: 4TRO), построенная в Chimera 1.16. Синяя пунктирная линия – водородная связь.
В – 2D-модель взаимодействия ПБА-7.1 с ферментом InhA (PDB ID: 4TRO), построенная с помощью сервера ProteinsPlus. Черная пунктирная линия – водородная связь, зеленая пунктирная линия – π - π -стэкинг, зеленая волнистая линия – гидрофобные взаимодействия

Таблица 4 – Связи и межмолекулярные взаимодействия, реализующиеся в комплексе ПБА-7.1 с ферментом InhA

Водородные связи	
Водородная связь (донор...акцептор)	Расстояние, Å
$N^1H^1 \cdots Gly-96$	2,401
$Ser-20 \cdots O^2$	3,099
Гидрофобные взаимодействия	
Phe-16, Phe-41, Phe-122	
π - π -стэкинг	
$C_6H_4CF_3$ -Phe-41	
Ван-дер-ваальсовы взаимодействия ¹	
Phe-16 (6), Phe-21 (3), Phe-95 (5), Phe-122 (6), Val-65 (4), Gly-96 (2), Met-161 (3), Met-199 (1), Phe-41 (13), Phe-97 (1), Phe-149 (2), Ser-20 (2), Tyr-158 (1), Asp-64 (1), Thr-196 (1), Leu-63 (1)	

Примечание – ¹ Аминокислотные остатки фермента InhA, формирующие ван-дер-ваальсовы контакты с ПБА-7.1, в скобках указано число взаимодействий.

ПБА-7.1 и изониазид-НАДН образуют схожие участки связывания с ферментом InhA – водородную связь с Ser-20, гидрофобные взаимодействия с Pe-122 и Phe-41 и π - π -стэкинг с Phe-41, поэтому ПБА-7.1 имеет схожий с изониазидом механизм противотуберкулезного действия.

Растворимость

Установлено, что соединение ПБА-7.1 очень легко растворимо в метиловом спирте, диметилсульфоксиде и хлороформе; легко растворимо в этилацетате; растворимо в этиловом спирте 96,5 %; не растворимо в воде очищенной, изопропиловом спирте, пропандиоле-1,2, гексане, 0,1 М растворе HCl, 0,1 М растворе NaOH, фосфатном буферном растворе с pH 4,5 и фосфатном буферном растворе с pH 6,8.

Физико-химические характеристики и параметры биодоступности ПБА-7.1 и эффективных противотуберкулезных соединений, спрогнозированные *in silico*

Физико-химические характеристики ПБА-7.1 и эффективных противотуберкулезных соединений (таблица 5) анализировали по критериям Липински и получили следующие результаты: все соединения, кроме рифампицина имеют молекулярную массу меньше 500 г/моль; LogP у всех соединений меньше 5; количество акцепторов водородных связей не превышает 10 у всех соединений, кроме рифампицина; количество доноров водородных связей не превышает 5 у всех соединений, кроме рифампицина. Таким образом, ПБА-7.1 соответствует всем критериям Липински, как и изониазид, этамбутол и пиперазин, а рифампицин соответствует только по значению LogP. Аналогично анализировали ПБА-7.1 и эффективные противотуберкулезные соединения по критериям Вебера, Эгана, Муге и Гоуза. Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5 – ADME параметры ПБА-7.1 и эффективных противотуберкулезных соединений

Физико-химические характеристики										
Соединение	Молекулярная масса, г/моль	Количество атомов, отличных от водорода	Фракция Csp ³	Количество вращающихся связей	Число акцепторов водородных связей	Число доноров водородных связей	Log P	Log S	Молекулярная рефракция	Площадь полярной поверхности (Å ²)
ПБА-7.1 C ₂₆ H ₂₁ F ₄ N ₃ O ₃	499,46	36	0,19	8	7	1	4,27	-5,38	131,46	69,7
Изониазид C ₆ H ₇ N ₃ O	137,14	10	0,00	2	3	2	-0,35	-0,56	35,13	68,0
Рифампицин C ₄₃ H ₅₈ N ₄ O ₁₂	822,9	59	0,53	5	14	6	2,23	-7,55	230,18	216,7

Продолжение таблицы 5

Этамбутол C ₁₀ H ₂₄ N ₂ O ₂	204,31	14	1,00	9	4	4	0,60	-0,46	58,11	64,5
Пиразинамид C ₅ H ₅ N ₃ O	123,11	9	0,00	1	3	1	-0,37	-0,65	30,13	68,9
Фармакокинетические параметры										
Соединение	Всасываемость в ЖКТ	Переход через ГЭБ	Субстрат Р-гликопротеина	Изоформы Цитохрома Р450						
				Ингибитор CYP1A2	Ингибитор CYP2C19	Ингибитор CYP2C9	Ингибитор CYP2D6	Ингибитор CYP3A4		
ПБА-7.1	высокая	нет	нет	нет	да	да	да	да	да	да
Изониазид	высокая	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет
Рифампицин	высокая	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет
Этамбутол	высокая	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет
Пиразинамид	высокая	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет	нет
Свойства «подобия лекарства»										
Соединение	Критерии Липински	Критерии Вебера	Критерии Эгана	Критерии Муере	Критерии Гоуза					
ПБА-7.1	соотв-ет	соотв-ет	соотв-ет	соотв-ет	не соотв-ет					
Изониазид	соотв-ет	соотв-ет	соотв-ет	не соотв-ет	не соотв-ет					
Рифампицин	не соотв-ет	не соотв-ет	не соотв-ет	не соотв-ет	не соотв-ет					
Этамбутол	соотв-ет	соотв-ет	соотв-ет	соотв-ет	соотв-ет					
Пиразинамид	соотв-ет	соотв-ет	соотв-ет	не соотв-ет	не соотв-ет					

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Новые синтетические соединения ПБА-7.1, ПБА-7.2, ПБА-7.3, ПБА-8.1, ПБА-8.2, ПБА-8.4 (производные бензамида), соединение ПБК-3 (производное бензойной кислоты), MF-001, MF-001-H₂SO₄ и β-CD-MF-001 (производные пропилтиадиазолохиназолина) в концентрации 200 мкг/мл обладают противотуберкулезной активностью в отношении *M. terrae*. MF-001 в концентрации 50 мкг/мл и β-CD-MF-001 в концентрации 200 мкг/мл обладают антимикобактериальной активностью в отношении *M. intracellulare* [4–А; 6–А; 9–А; 11–А; 14–А; 21–А; 22–А].

2. ПБА-7.1 в концентрации 100 мкг/мл обладает противотуберкулезной активностью в отношении лекарственно-чувствительного лабораторного референс-штамма *M. tuberculosis* H37Rv и в отношении клинического штамма *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью, что позволило предложить его как наиболее активное противотуберкулезное соединение [8–А; 23–А].

3. ПБА-7.1 является «практически нетоксичным» соединением (5-й класс токсичности по классификации OECD и GHS) – DL₅₀ составляет более 2000 мг/кг при однократном внутрижелудочном введении мышам и крысам,

что значительно выше, чем DL_{50} изониазида (170 мг/кг при внутрижелудочном введении мышам). При ежедневном 28-дневном внутрижелудочном введении ПБА-7.1 в дозах 10 мг/кг, 50 мг/кг и 100 мг/кг гибели животных не наступало. MF-001- H_2SO_4 является «практически нетоксичным» соединением (5-й класс токсичности по классификации OECD и GHS) – DL_{50} составляет $2001,18 \pm 656,68$ мг/кг при внутрижелудочном введении мышам и более 2000 мг/кг при внутрижелудочном введении крысам [3–А; 5–А; 7–А].

4. ПБА-7.1 взаимодействует с ферментом *M. tuberculosis* еноил-[ацил-переносящий-белок]-редуктазой (НАДН) с образованием большого количества межмолекулярных взаимодействий, включающих водородные связи, гидрофобные взаимодействия, π - π -стэкинг и ван-дер-ваальсовы контакты ($\Delta G = -11,9$ ккал/моль). ПБА-7.1 и изониазид-НАДН образуют схожие участки связывания с ферментом – водородную связь с Ser-20, гидрофобные взаимодействия с Ile-122 и Phe-41 и π - π -стэкинг с Phe-41 [8–А].

5. ПБА-7.1 соответствует критериям Липински, Вебера, Эгана и Мюеге и частично соответствует критериям Гоуза, что прогнозирует высокую биодоступность при пероральном введении. ПБА-7.1 по результатам *in silico* исследования также, как и молекула изониазида, этамбутола и пиразинамида пассивно всасывается в желудочно-кишечный тракт и не связывается с Р-гликопротеином и пассивно не проходит через гематоэнцефалический барьер. Экспериментально определено, что ПБА-7.1 очень легко растворимо в метиловом спирте, диметилсульфоксиде и хлороформе; легко растворимо в этилацетате; растворимо в этиловом спирте 96,5 %; не растворимо в воде очищенной, изопропиловом спирте, пропандиоле-1,2, гексане, 0,1 М растворе HCl, 0,1 М растворе NaOH, фосфатном буферном растворе с pH 4,5 и фосфатном буферном растворе с pH 6,8 [8–А; 19–А; 20–А].

Рекомендации по практическому использованию

1. Обнаруженная биологическая активность синтетического соединения 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифтор-метил)фенил] бензамида используется в научно-исследовательской работе Государственного научного учреждения «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси» в отделе регистрации и разработки лекарственных препаратов научно-производственного центра «ХимФармСинтез» при проведении доклинических исследований объекта внедрения с целью создания нового эффективного противотуберкулезного средства на его основе (1 акт о внедрении результатов научных исследований в научный процесс от 07.03.2023).

2. Выявленные *in silico* параметры биодоступности новых синтетических противотуберкулезных соединений используются в учебном процессе кафедры фармацевтической технологии при преподавании фармацевтической разработки с основами биофармации (практическое занятие «Понятие

о биологической доступности лекарственных средств») в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» для студентов 5-го курса фармацевтического факультета (1 акт о внедрении результатов научных исследований в учебный процесс от 15.02.2023).

3. Результаты выбора мишени для активности в отношении *Mycobacterium tuberculosis* к лиганду 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамид с использованием сервиса для предсказания мишеней лекарств SEA Search Service используются в учебном процессе кафедры фармацевтической химии при преподавании фармацевтической химии (практическое занятие «Фармацевтическая химия противотуберкулезных, противомаларийных и противогельминтных лекарственных средств») в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» для студентов 4-го курса фармацевтического факультета (1 акт о внедрении результатов научных исследований в учебный процесс от 27.02.2023).

4. Полученные данные маркетинговых исследований фармацевтического рынка противотуберкулезных препаратов, используются в форме принципов проведения маркетинговых исследований заданного сегмента фармацевтического рынка и навыка определения конкурентоспособности товара в учебном процессе кафедры менеджмента и маркетинга фармации при преподавании дисциплины «Управление и экономика фармацевтического предприятия» (практическое занятие «Качество продукции, конкурентоспособность товара и фармацевтического предприятия») в учреждении образования «Витебский государственный Ордена дружбы народов медицинский университет» для студентов 4-го курса фармацевтического факультета (1 акт о внедрении результатов научных исследований в учебный процесс от 21.09.2020).

5. Утверждены и приняты к использованию 2 рационализаторских предложения (№ 1, № 2 от 29.03.2023) – «Способ получения производных бензамида, обладающих противотуберкулезной активностью методами *in silico*» и «Метод исследования механизма действия нового производного бензамида с помощью молекулярного докинга, подтверждение биологической активности путем эксперимента *in vitro* и установления безопасности на экспериментальных животных» в учебном процессе кафедры фармацевтической технологии при преподавании фармацевтической разработки с основами биофармации для студентов 5-го курса фармацевтического факультета (практическое занятие «Доклинические исследования лекарственных средств», лекция «Оценка фармацевтических факторов при выполнении фармацевтической разработки») в учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет».

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

Статьи в журналах, включенных в «Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований» по фармацевтическим наукам

1–А. Сечко, О. Г. Анализ ассортимента противотуберкулезных лекарственных средств, зарегистрированных в Республике Беларусь / О. Г. Сечко, Н. С. Голяк, В. М. Царенков // Вестн. фармации. – 2019. – № 1. – С. 15–20.

2–А. Сечко, О. Г. Анализ ассортимента противотуберкулезных лекарственных средств, зарегистрированных в Российской Федерации и Республике Беларусь / О. Г. Сечко, В. М. Царенков, Н. С. Голяк // Вестн. фармации. – 2019. – № 4. – С. 51–59.

3–А. Оценка острой токсичности сульфата 2-меркапто-5н-[1,3,4]-тиадиазоло-[2,3-в]-хиназолин-5-она / О. Г. Сечко, В. М. Царенков, Ф. Макаев, А. Унку, В. Валика, Л. Унку // Рецепт. – 2020. – Т. 23, № 2–3. – С. 214–222.

4–А. Оценка антимикобактериальной активности производных пропилтиадиазолохиназолина в отношении *Mycobacterium intracellulare* / О. Г. Сечко, Н. С. Гурина, В. М. Царенков, И. Н. Слабко, Ф. Макаев, А. Унку, В. Валика // Вестн. фармации. – 2021. – № 2. – С. 93–100.

5–А. Сечко, О. Г. Оценка острой токсичности 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)-фенил]бензамида / О. Г. Сечко, В. М. Царенков // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. – 2022. – Т. 21, № 4. – С. 89–99.

6–А. Скрининговые исследования антимикробной активности новых синтетических конъюгатов бензамида в отношении *Mycobacterium terrae* и некоторых других патогенов / О. Г. Сечко, В. М. Царенков, Е. Н. Калиниченко, Т. С. Божок // Вестн. фармации. – 2022. – № 3. – С. 81–92.

7–А. Сечко, О. Г. Подострая токсичность 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамида / О. Г. Сечко // Вестн. фармации. – 2022. – № 4. – С. 83–93.

8–А. Сечко, О. Г. Противотуберкулезная активность, молекулярный докинг и параметры биодоступности 3-[4-(2-фторбензоил)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамида / О. Г. Сечко // Рецепт. – 2023. – Т. 26, № 2. – С. 249–270.

Статьи в зарубежных рецензируемых научных журналах

9–А. Antimycobacterial properties of 5Н-[1,3,4]thiadiazolo[2,3В]quinazolin-5-one derivatives / O. Sechko, A. Uncu, N. Gurina, I. Slabko, N. Goliak, F. Macaev, V. Tsarenkov, V. Valica, L. Uncu // Revista Farmaceutica a Moldovei. – 2020. – № 1–4. – P. 27–29.

Статьи в журналах и сборниках, включенных в «Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований» по медицинским наукам

10–А. Сечко, О. Г. Современное состояние разработки соединений, обладающих противотуберкулезной активностью (обзорная статья) / О. Г. Сечко // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : рец. ежегод. сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. С. П. Рубниковича, В. Я. Хрыщановича. – Минск, 2020. – Вып. 10. – С. 475–488.

11–А. Сечко, О. Г. Противотуберкулезная активность производных бензамида и бензойной кислоты / О. Г. Сечко, И. Н. Слабко, В. М. Царенков // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : рец. ежегод. сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. С. П. Рубниковича, В. А. Филонюка. – Минск, 2021. – Вып. 11. – С. 540–546.

Статьи в сборниках материалов конференций и тезисы докладов

12–А. Сечко, О. Г. Противотуберкулезные ЛС, применяемые в Республике Беларусь [Электронный ресурс] / О. Г. Сечко // Актуальные проблемы современной медицины и фармации : сб. тез. докл. LXXIII Междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Минск, 15–17 апр. 2019 г. / Белорус. гос. мед. ун-т, Студенч. науч. о-во ; под ред. А. В. Сикорского, В. Я. Хрыщановича. – Минск, 2019. – С. 1553. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

13–А. Сечко, О. Г. Обзор доклинических исследований соединений, обладающих противотуберкулезным действием / О. Г. Сечко // Химия в современной фармации: от молекулы к лекарству. Фундаментальные и прикладные аспекты : материалы III Всерос. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием, Оренбург, 25 февр. 2021 г. / Оренбург. гос. мед. ун-т ; редкол.: И. В. Михайлова, Ю. В. Филиппова. – Оренбург, 2021. – С. 56–57.

14–А. Противотуберкулезная и противомикобактериальная активность производных пропилтиадиазолохиназолина [Электронный ресурс] / О. Г. Сечко, В. М. Царенков, Н. С. Голяк, Н. С. Гурина // Технология органических веществ : материалы докл. 85-ой науч.-техн. конф. проф.-препод. состава, науч. сотрудников и аспирантов (с междунар. участием), Минск, 1–13 февр. 2021 г. / М-во образования Респ. Беларусь, Белорус. гос. технолог. ун-т, Междунар. о-во ученых техн. образования ; гл. ред. И. В. Войтов. – Минск, 2021. – С. 256–258.

15–А. Сечко, О. Г. Перепрофилированные лекарственные средства для терапии туберкулеза (обзор) / О. Г. Сечко, В. М. Царенков // Медицина і фармація на службі у практичної косметології: від науки до практики : зб.

наук. праць Міжнар. наук.-практ. конф., Харків, 10 березня 2021 р. / М-во охорони здоров'я України [та інш.]. – Харків, 2021. – С. 176–177.

16–А. Sechko, O. G. Actual pharmaceutical developments in the field of antituberculosis drugs (обзор) / O. G. Sechko // Современная медицина и фармацевтика: новые подходы и актуальные исследования : материалы 75-й Междунар. науч.-практ. конф. студентов-медиков и молодых ученых, Самарканд, 18 мая 2021 г. : ч. 1 / М-во здравоохранения Респ. Узбекистан, Самарканд. гос. мед. ун-т ; редкол.: М. В. Лим [и др.]. – [Опубл. в журн.] Журн. гепато-гастроэнтерологических исслед. – 2021. – № 02, спец. вып. – С. 142–143.

17–А. Сечко, О. Г. Новые перспективы лечения туберкулеза / О. Г. Сечко, В. М. Царенков (обзор) // Управління якістю в фармації : матеріали XV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 25 травня 2021 р. / М-во охорони здоров'я України, Нац. фармацевт. ун-т ; редкол.: С. М. Коваленко [та інш.]. – Харків, 2021. – С. 116–119.

18–А. Сечко, О. Г. Клинические исследования противотуберкулезных препаратов в Российской Федерации [Электронный ресурс] (обзор) / О. Г. Сечко, Н. С. Голяк, В. М. Царенков // Современные технологии в медицинском образовании : материалы междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию Белорус. гос. мед. ун-та, Минск, 1–5 нояб. 2021 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. С. П. Рубниковича, В. А. Филонюка. – Минск, 2021. – С. 2075–2077. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

19–А. Сечко, О. Г. Сравнение химической структуры гибридного производного бензамида на основе изофталевой кислоты и [2(3)-фторбензоил]-пиперазина с химическими структурами противотуберкулезных препаратов [Электронный ресурс] / О. Г. Сечко, В. М. Царенков // Технология органических веществ : материалы докл. 86-й науч.-техн. конф. проф.-препод. состава, науч. сотрудников и аспирантов, Минск, 31 янв. – 12 февр. 2022 г. / М-во образования Респ. Беларусь, Белорус. гос. технол. ун-т. – Минск, 2022. – С. 298–300. – Режим доступа: <https://elib.belstu.by/handle/123456789/46278>. – Дата доступа: 28.08.2023.

20–А. Сечко, О. Г. Исследование растворимости 3-[4-(2-фторбензол)пиперазин-1-карбонил]-N-[3-(трифторметил)фенил]бензамида / О. Г. Сечко, В. М. Царенков // Инновационные технологии в фармации : материалы Всерос. науч.-практ. конференции с междунар. участием, посвящ. 100-летию со дня образования каф. фармакологии Иркут. гос. мед. ун-та, Иркутск, 6 июня 2022 г. / М-во здравоохранения Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образовательное учреждение высшего образования ; под общ. ред. Е. Г. Приваловой. – Иркутск, 2022. – Вып. 9. – С. 36–39.

21–А. Сечко, О. Г. Определение противотуберкулезной активности производных бензамида *in vitro* / О. Г. Сечко // Природные соединения и здоровье человека : сб. науч. ст. Всерос. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием, Иркутск, 27 мая 2022 г. / М-во здравоохранения Рос. Федерации [и др.]. – Иркутск, 2022. – Вып. 4. – С. 80–84.

22–А. Противотуберкулезная активность новых синтетических изомерных производных бензамидного ряда / О. Г. Сечко, Е. Н. Калиниченко, Т. С. Божок, В. М. Царенков // Белорусские лекарства : материалы Междунар. науч.-практ. конф., Минск, 23–25 нояб. 2022 г. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т биоорг. химии Нац. акад. наук Беларуси ; [под общ. ред. Е. Н. Калиниченко]. – Минск, 2022. – С. 203–205.

23–А. Сечко, О. Г. Новое соединение с противотуберкулезной активностью / О. Г. Сечко // Новые горизонты – 2022 : сб. материалов IX Белорусско-Китайского молодеж. инновац. форума, Минск, 10–11 нояб. 2022 г. / М-во образования Респ. Беларусь [и др.]. – Минск, 2022. – Т. 1. – С. 189–190.

РЭЗІЮМЭ

Сячко Вольга Рыгораўна

Фармацэўтычная ацэнка новых сінтэтычных вытворных бензаміду, бензойнай кіслаты і прапілтыядыазолахіназаліну, якія валодаюць антыбіятычнай актыўнасцю

Ключавыя словы: вытворныя бензаміду (ВБА), вытворныя бензойнай кіслаты (ВБК), вытворныя прапілтыядыазолахіназаліну, супрацьсухотная актыўнасць (ССА), бяспека, малекулярны докінг, енаіл-[ацыл-пераносны-бялок]-рэдуктаза (НАДН) (InhA), *Mycobacterium terrae*, *Mycobacterium tuberculosis*

Мэта даследавання: устаноўць ССА новых сінтэтычных ВБА, ВБК і прапілтыядыазолахіназаліну.

Метады даследавання і апаратура: метады развядзення ў шчыльным пажыўным асяроддзі ў кубках Петры; метады прапарцыяў у вадкім пажыўным асяроддзі з выкарыстаннем ВАСТЕС MGIT 960; даследаванні таксічнасці *in vivo* на мышах і пацуках; статыстычныя метады; малекулярны докінг у праграме UCSF Chimera 1.16 з пашырэннем AutoDock Vina 1.1.2; візуалізацыя сувязей комплексу з выкарыстаннем праграмы Chimera 1.16 і сервера ProteinsPlus; *in silico* даследаванне фізіка-хімічных уласцівасцей і параметраў біядаступнасці з выкарыстаннем сервісу SwissADME.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: упершыню выяўлена 7 злучэнняў (ВБА-7.1, ВБА-7.2, ВБА-7.3, ВБА-8.1, ВБА-8.2, ВБА-8.4, ВБК-3), якія валодаюць ССА ў дачыненні да *M. terrae*. Устаноўлена ССА ВБА-7.1 у дачыненні да лекава-адчувальнага *M. tuberculosis* H37Rv і ў дачыненні да клінічнага штаму *M. tuberculosis* з множнай лекавай устойлівасцю. Устаноўлена бяспека злучэнняў, якія валодаюць выяўленай ССА. Устаноўлены механізм узаемадзеяння ВБА-7.1 з ферментам InhA *M. tuberculosis*. *In silico* спрагназаваны фізіка-хімічныя ўласцівасці і параметры біядаступнасці ВБА-7.1 і ў эксперыменце вызначана растваральнасць. У злучэнняў MF-001 і β -CD-MF-001 выяўлена антымікабактэрыяльная актыўнасць у дачыненні да *Mycobacterium intracellulare*.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: новыя веды аб ССА ВБА-7.1 могуць быць выкарыстаны для распрацоўкі айчыннага супрацьсухотнага прэпарата. Новыя веды аб актыўнасці і ўласцівасцях ВБА-7.1 укаранёны ў навуковы працэс НПЦ «ХімФармСінтэз» і ў навучальны працэс УА «Беларускі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт».

Галіна прымянення: даклінічныя даследаванні, фармацыя, медыцына, навуковы працэс, навучальны працэс.

РЕЗЮМЕ

Сечко Ольга Григорьевна

Фармацевтическая оценка новых синтетических производных бензамида, бензойной кислоты и пропилтиадиазолохиназолина, обладающих антибиотической активностью

Ключевые слова: производные бензамида (ПБА), производные бензойной кислоты (ПБК), производные пропилтиадиазолохиназолина, противотуберкулезная активность (ПТА), безопасность, молекулярный докинг, еноил-[ацил-переносающий-белок]-редуктаза (НАДН) (InhA), *Mycobacterium terrae*, *Mycobacterium tuberculosis*

Цель работы: установить ПТА новых синтетических ПБА, ПБК и пропилтиадиазолохиназолина.

Методы исследования и аппаратура: метод разведений в плотной питательной среде в чашках Петри; метод пропорций в жидкой питательной среде с использованием ВАСТЕС MGIT 960; исследования токсичности *in vivo* на мышах и крысах; статистические методы; молекулярный докинг в программе UCSF Chimera 1.16 с расширением AutoDock Vina 1.1.2; визуализация связей комплекса с использованием программы Chimera 1.16 и сервера ProteinsPlus; *in silico* исследование физико-химических свойств и параметров биодоступности с использованием сервиса SwissADME.

Полученные результаты и их новизна: впервые выявлено 7 соединений (ПБА-7.1, ПБА-7.2, ПБА-7.3, ПБА-8.1, ПБА-8.2, ПБА-8.4, ПБК-3), которые обладают ПТА в отношении *M. terrae*. Установлена ПТА ПБА-7.1 в отношении лекарственно-чувствительного *M. tuberculosis* H37Rv и в отношении клинического штамма *M. tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью. Установлена безопасность соединений, обладающих выраженной ПТА. Установлен механизм взаимодействия ПБА-7.1 с ферментом InhA *M. tuberculosis*. *In silico* спрогнозированы физико-химические свойства и параметры биодоступности ПБА-7.1 и в эксперименте определена растворимость. У соединений MF-001 и β -CD-MF-001 выявлена антимикобактериальная активность в отношении *Mycobacterium intracellulare*.

Рекомендации по использованию: новые знания о ПТА ПБА-7.1 могут быть использованы для разработки отечественного противотуберкулезного препарата. Новые знания об активности и свойствах ПБА-7.1 внедрены в научный процесс НПЦ «ХимФармСинтез» и в учебный процесс УО «Белорусский государственный медицинский университет».

Область применения: доклинические исследования, фармация, медицина, научный процесс, учебный процесс.

SUMMARY

Sechko Olga Grogorievna

Pharmaceutical evaluation of new synthetic derivatives of benzamide, benzoic acid and propylthiadiazoloquinazoline with antibiotic activity

Kew words: benzamide derivatives (BD), benzoic acid derivatives (BAD), derivatives of propylthiadiazoloquinazoline, antituberculosis activity, safety, molecular docking, enoyl-[acyl-carrier-protein]reductase (NADH) (InhA), *Mycobacterium terrae*, *Mycobacterium tuberculosis*

Aim of the research: to establish antituberculosis activity of new synthetic derivatives of benzamide, benzoic acid and propylthiadiazoloquinazoline.

Research methods and equipment: dilution method in a dense nutrient medium in Petri's dishes; method of proportions in liquid nutrient medium using BACTEC MGIT 960; *in vivo* studies of toxicity in mice and rats; statistical methods; molecular docking in the UCSF Chimera 1.16 program with the AutoDock Vina 1.1.2 extension; visualization of complex connections using the Chimera 1.16 program and the ProteinsPlus server; *in silico* study of physicochemical properties and bioavailability parameters using the SwissADME service.

The results obtained and their novelty: 7 compounds (BD-7.1, BD-7.2, BD-7.3, BD-8.1, BD-8.2, BD-8.4, BAD-3) with anti-tuberculosis activity against *M. terrae* were identified for the first time. Anti-tuberculosis activity BD-7.1 was established against drug-sensitive *M. tuberculosis* H37Rv and against a clinical strain of *M. tuberculosis* with multidrug resistance. The safety of compounds with identified anti-tuberculosis activity was established. The mechanism of interaction of BD-7.1 with the InhA enzyme of *M. tuberculosis* was revealed. The physicochemical properties and bioavailability parameters of BD-7.1 were predicted *in silico* and the solubility was determined experimentally. Compounds MF-001 and β -CD-MF-001 showed antimycobacterial activity against *Mycobacterium intracellulare*.

Recommendations for use: the results of the study of BD-7.1 anti-tuberculosis activity can be used to develop anti-tuberculosis drug in Belarus. The findings about the activity and properties of BD-7.1 has been introduced into the scientific process of the research and production centre «ХимФармСинтез» and into the educational process of the educational institution «Belarusian State Medical University».

Area of application: preclinical research, pharmacy, medicine, scientific process, educational process.

Подписано в печать 11.11.2023. Формат 60×84/16. Бумага писчая «Хероx office».
Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 1,39. Уч.-изд. л. 1,47. Тираж 60 экз. Заказ 611.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.