

ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»
МІНІСТЕРСТВА ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

На правах рукопису

Романенко Яніна Ігорівна

УДК 577.1:547.831-3(043.5)

ДИСЕРТАЦІЯ

**Біологічно активні похідні
на основі 2(4)-заміщених хіноліну**

091 – Біологія та біохімія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

_____ Я.І. Романенко

Науковий керівник:

Бражко Олександр Анатолійович
доктор біологічних наук, професор

Запоріжжя – 2025

АНОТАЦІЯ

Романенко Я. І. Біологічно активні похідні на основі 2(4)-заміщених хіноліну. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія та біохімія» – Запорізький національний університет, Запоріжжя, 2025.

Дисертаційна робота присвячена пошуку нових біорегуляторів селективної дії серед 2(4)-гідразинопохідних хіноліну і вивченню їхньої біологічної активності.

Аналіз біологічної дії 2(4)-гідразинопохідних хіноліну за літературними та патентними джерелами показав доцільність та перспективність створення ефективних фізіологічно активних речовин шляхом поєднання в одній структурі двох фармакофорних фрагментів – хінолінового гетероциклу та оксосполуки (оксокарбонової кислоти, альдегіду тощо), зв'язаних гідразиним лінкером.

Була розроблена комбінаторна бібліотека та проведені хеометричні дослідження похідних 2(4)-гідразинопохідних хіноліну. Відібрано найбільш перспективні масиви речовин (46 сполук) для подальшого пошуку та біологічних випробувань.

Побудовано SAR та QSAR-моделі токсичності серед 2(4)-гідразинопохідних хіноліну (гострої токсичності, антиоксидантної та антимікробної активності та ін.), результати яких корелюють з експериментальними дослідженнями.

Розглянуто 2(4)-гідразинопохідні хіноліну як біорегулятори, що володіють антибактеріальною активністю. Найбільш перспективною серед досліджених речовин в умовах експерименту виявилась 2-((4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)бутандіова кислота, яка утримує діаметр зони бактеріального інгібування на рівні 30 мм. Речовини даного ряду рекомендовано для подальших скринінгових досліджень протибактеріальної дії.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше розроблено комбінаторну бібліотеку та проведено комплексну оцінку біологічного потенціалу 2(4)-гідразиноїноліну та його похідних. За допомогою комп'ютерного прогнозу відібрано найбільш перспективні масиви сполук для подальшого пошуку та біологічних випробувань.

Оцінено токсичність досліджуваних сполук *in silico* та *in vivo*, що дало змогу визначити чинники, які впливають на рівень токсичної дії похідних ((хінолін-2(4)-іл)гідразано)карбонових кислот. Результати досліджень корелюють з фізико-хімічними властивостями, які обумовлюють біодоступність. У своїй більшості похідні ((хінолін-2(4)-іл)гідразано)карбонових кислот належать до малотоксичних речовин.

Було розроблено та випробувано *in vitro* ряд 2(4)-гідразинопохідних хіноліну. Вибрані за допомогою QSAR моделювання деякі 2(4)-гідразинопохідні хіноліну як інгібітори дигідрофолатредуктази, виявились ефективними антибактеріальними засобами, особливо проти стійких до антибіотиків штамів *S. aureus* і *E. coli*.

Встановлено, що більшість досліджених 2(4)-гідразинопохідних хіноліну проявляють себе неоднаково щодо різних частин рослини. Рістстимулювальна активність достатньо виражена щодо довжини гіпокотилу і досягає свого максимуму при концентрації 100 мкг/мл. Подібний фітотоксичний ефект здійснюється на довжину зони та кількість бічних коренів при концентрації 20 мкг/мл. 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразано)бутандіова кислота взагалі не демонструє цитотоксичного ефекту на ріст паростків *Cucumis sativus* L. При концентрації 5 мкг/мл з'являється ефективний рістстимулювальний вплив на зону бічних коренів (67,1 %) та їх кількість (32,6 %). Виявлено, що серед дериватів 2(4)-гідразиноїноліну найбільш перспективним препаратом-цитокіном є 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразано)пентандіова кислота.

З'ясовано, що найбільш активним антиоксидантом серед досліджених речовин є 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразано)етанова кислота, яка за дією перевищує референс-препарати. Встановлено, що в процесі вільнорадикального

окиснення даний дериват набуває властивостей «пастки» супероксид-аніону, перехоплює гідроксил-радикал, знижує рівень пероксидів і гальмує утворення нітроген (II) оксиду.

Уперше досліджено в умовах H_2O_2 -індукованого оксидативного стресу захисну дію похідних 2-(2-(хінолін-4-іл)гідразоно)карбонових кислот щодо сперматозоїдів чоловіків, оцінено основні показники фертильності сперми (концентрація, рух). Установлено, що похідні 2-(2-(хінолін-4-іл)гідразоно)карбонових кислот проявляють сприятливі антиоксидантні властивості та є перспективними протекторами сперматозоїдів в умовах ОС.

Проведено експериментальне дослідження *in vitro* імунотропної дії похідні хіноліну та оцінено вплив нових БАР – похідних 2-(2-(хінолін-4-іл)гідразоно)карбонових кислот – на поглинальну функцію нейтрофілів периферичної крові, здатних до фагоцитозу. Похідні гідразінохіноліну – 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)етанова кислота, натрію 2-(2-(7-хлорохінолін-4-іл)гідразоно)пентадіоат та 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)бутандіова кислота – підвищували поглинальну дію нейтрофілів на 9 – 11%.

Практичне значення отриманих результатів.

Створено комбінаторну бібліотеку нових похідних 2(4)-гідразінохіноліну. Встановлено зв'язки «структура – токсичність – дія», побудовано QSAR-моделі токсичності та протибактеріальної активності, сформульовано ряд критеріїв для скерованого пошуку біоактивних речовин. Запропоновано сполуки – похідні 2-(2-(4-R-хінолін-2-іл)гідразоно)карбонових кислот як нові протибактеріальні засоби щодо мультирезистентних штамів, які придатні для застосування при вирішенні медико-біологічних завдань при створенні нових препаратів проти резистентних штамів *E. coli* та *S. aureus*.

Показано антиоксидантну дію похідних 2-(2-(4-R-хінолін-2-іл)гідразоно)карбонових кислот щодо окиснення вільних радикалів на різних моделях дослідження.

Отримані результати дозволили рекомендувати сполуки – 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)бутандіову кислоту та 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)етанову кислоту для подальшого поглибленого дослідження як перспективних препаратів для профілактики та лікування бактеріальних інфекцій та як препаратів, що здатні запобігти виникненню ланцюгової реакції, викликаной ВРО.

Результати досліджень впроваджено в освітній процес кафедри природничих наук і методик їх викладання факультету математики, природничих наук та технологій Центральноукраїнського державного університету імені Володимира Винниченка, в роботу Інституту сільського господарства Степу НААН України м. Кропивницький та роботу лабораторії діагностичного центру ТОВ «ДЦ «МЕДЛАЙФ-БІО» м. Запоріжжя.

Ключові слова: похідні хіноліну, гетероциклічні сполуки, фізико-хімічні методи аналізу, біологічна активність, рістрегуляторна активність, токсичність, сперматозоїди, імунологічні параметри крові, похідні сполуки, цитокіни, молекулярний докінг, антибактеріальна активність, потимікробна активність, QSAR.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Бражко, О.; Завгородній, М.; Карпун, Є.; Бражко, О.; **Романенко, Я.**; Богдан, А. Хемометричні Методи Дослідження Біологічної Активності Похідних Хіноліну. *ScienceRise* **2019**, 1 (1), 36–42. <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2019.155424>. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні літературного пошуку, обговоренні результатів та підготовці тексту статті).
2. **Романенко, Я.**; Лагрон, А. Похідні 4-Гідразінохіноліну та їх Біологічна Активність (огляд літератури). *Біорізноманіття, екологія та експериментальна біологія* **2019**, 21, 6–14. <https://doi.org/10.34142/2708-583x.2019.21.01>. (Особистий внесок здобувача: проведення літературного пошуку, обговорення результатів та написання тексту статті).

3. **Романенко, Я.**; Клімова, О.; Бражко, О. Оцінка Біологічної Дії Похідних 4-Гідразинохіноліну. *Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки* **2019**, 1, 53–61. <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2019-1-06>. (Особистий внесок здобувача: здійснення літературного пошуку, проведення експериментальних досліджень, обговорення результатів та написання тексту статті).

4. Козир, А.; **Романенко, Я.** Цитотоксична Активність 7-R-4-Заміщених Хіноліну. *Вісник Вінницького національного медичного університету* **2022**, 26 (3), 359–364. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26\(3\)-02](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26(3)-02). (Особистий внесок здобувача: здійснення літературного пошуку, проведення експериментальних досліджень, обговорення результатів та підготовка тексту статті).

5. **Романенко, Я.**; Козир, А. Токсичність та Антиоксидантна Активність Похідних 4-Гідразинохіноліну. *Вісник Вінницького національного медичного університету* **2022**, 26 (4), 528–533. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26\(4\)-01](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26(4)-01). (Особистий внесок здобувача: здійснення літературного пошуку, проведення експериментальних досліджень, обговорення результатів та написання тексту статті).

6. Hodyna, D.; Kovalishyn, V.; **Romanenko, Y.**; Semenyuta, I.; Blagodatny, V.; Kachaeva, M.; Brazhko, O.; Metelytsia, L. Quinoline Hydrazone Derivatives as New Antibacterials against Multidrug Resistant Strains. *Chemistry & Biodiversity* **2023**. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202300839>. (Особистий внесок здобувача: участь у здійсненні літературного пошуку, обговоренні результатів та написанні тексту статті).

7. Bohdan, A.; **Romanenko, Y.**; Zavhorodnii, M.; Kornet, M.; Shupeniuk, V.; Nepolraj, A.; Klimova, O.; Brazhko, O. Design, Synthesis and Biological Activity of the 4-Thioquinoline Derivatives. *Chemistry & Chemical Technology* **2023**, 17 (4). <https://doi.org/10.23939/chcht17.04.774> (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експериментальних досліджень).

8. **Романенко, Я.** Біологічно активні похідні 4-гідразинохіноліну. У *Молода наука-2019*, Матеріали XII Університетської Науково-практичної Конференції Студентів, Аспірантів і Молодих Вчених, Запоріжжя, Україна, 15 - 17 квітня, 2019; ЗНУ: Запоріжжя, 2019.

9. **Romanenko, Y.**; Lagron, A.; Brazhko, O. Biological Activity of 4-Hidrazinoquinolines. In *Modern Chemistry Problems*, Book of Abstracts, XX International Conference for Students and PhD Students, Kyiv, Ukraine, May 15 - 17, 2019; KNU named after Taras Shevchenko: Kyiv, 2019.

10. **Romanenko, Y.** PASS Prediction of Biological Activity of 4-Hydrazinoquinoline Derivatives. In *Topical Issues of the Development of Modern Science*, Abstracts of II International Scientific and Practical Conference, Sofia, Bulgaria, October 16 – 18, 2019; ACCENT: Sofia, 2019.

11. **Romanenko, Y.**, Lagron, A Investigation of 4-Hydrazinoquinolines by in Silico Methods. У *Осінні наукові читання*, Тези доповідей XXIII Міжнародної Науково-Практичної Інтернет-конференції, Тернопіль, Україна, 27 листопада 2019; ГО «НОК»: Дніпро, 2019.

12. Богдан, А.; **Романенко, Я.**; Бражко, О. Актуальні дослідження біологічної активності похідних хіноліну хемометричними методами. У *Сучасні проблеми біології, екології та хімії*, Матеріали VI Міжнародної Науково-Практичної Конференції Присвячена 90-річчю Заснування Запорізького Національного Університету, Запоріжжя, Україна, 16 - 17 жовтня 2020; СоруАрт: Запоріжжя, 2020.

13. **Романенко, Я.**; Богдан, А. Молекулярний Докінг в Аналізі Механізмів Біологічної Дії Похідних Хіноліну. In *Emerging Trends in Academic Research*, Conference Proceedings of the 1st International Conference, Dublin, Ireland, February 10 – 12, 2021; Primedia elaunch LLC: 2021

14. **Романенко, Я.**; Богдан, А. Антиоксидантні властивості 4-тіо- та 4-гідразинопохідних хіноліну. У *Наука, освіта, суспільство в умовах глобалізації*, Збірник Тез Доповідей Міжнародної Науково-Практичної Конференції, Полтава, Україна, 6 липня, 2021; ЦФЕНД: Полтава, 2021.

15. **Romanenko, Y.**; Bohdan, A. 4-Thio- & 4-Hydrazinoquinoline Derivatives: Toxicity, Activity. In *Modern Scientific Trends and Standards*, Proceedings of the 2-nd International Scientific and Practical Conference, Santa Rosa, Argentina, February 16 – 18, 2022; Megafyn: Santa Rosa, 2022.

16. Kozyr, A.; **Romanenko, Y.** 7-R-4-Substituted Quinoline As Growth Activators. У *Молода Наука-2022*, Збірник Наукових Праць Студентів, Аспірантів, Докторантів і Молодих Вчених, Запоріжжя, Україна, 18 - 22 квітня 2022; ЗНУ: Запоріжжя, 2022.

17. **Romanenko, Y.**; Kozyr, A.; Brazhko, O.; Mykhalska, T.; Hromova, T. Quinoline 2(4)-Hydrazine Derivatives as Inhibitors of Sperm Oxidative Stress. In *Sectoral Research XXI: Characteristics and Features*, Proceedings of the V International Scientific and Theoretical Conference, Chicago, USA, February 3, 2023; European Scientific Platform: Chicago, 2023.

18. **Романенко, Я.**; Козир, А.; Година, Д.; Ковалішин, В.; Метелиця, Л.; Бражко, О. 2(4)-гідразинокіноліни як потенційні антибактеріальні препарати. In *Grundlagen der modernen wissenschaftlichen forschung*, Materialien Der III Internationalen Wissenschaftlich-Praktischen Konferenz, Zürich, Schweiz, 31 März 2023; Boleswa Publishers & Europäische Wissenschaftsplattform: Zürich-Vinnytsia, 2023.

19. Козир, А.; **Романенко, Я.** Похідні кіноліну як регулятори імунної системи. In *Education and Science of Today: Intersectoral Issues and Development of Sciences*, Proceedings of the V International Scientific and Practical Conference, Cambridge, United Kingdom, August 18, 2023; Publishing House & European Scientific Platform: Cambridge – Vinnytsia, 2023.

20. **Романенко, Я.**; Бражко, О.; Михальська, Т.; Громова, Т. Регулювання ВРО препаратами на основі похідних 2(4)-гідразинокіноліну. In *Modernization of Today's Science: Experience and Trends*, Proceedings of the IV International Scientific and Theoretical Conference, Singapore, Republic of Singapore, September 22, 2023; European Scientific Platform: Singapore, 2023.

ANNOTATION

Romanenko Y.I. **Biologically active derivatives based on 2(4)-substituted quinoline.** – Qualifying scientific work as a manuscript.

Thesis for obtaining the scientific degree of the Doctor of Philosophy in the specialty 091 «Biology and biochemistry» – Zaporizhia National University, Zaporizhia, 2025.

The thesis is devoted to the search for new selective bioregulators among 2(4)-hydrazinoquinoline derivatives and studying their biological activity.

Summarization of literary and patent sources regarding biological action 2(4)-hydrazinoquinoline derivatives showed the expediency and perspective of creating effective biologically active substances by combining two pharmacophore fragments in one structure – quinoline heterocycle and oxo-compound (oxocarboxylic acid, aldehyde, etc.) connected by a hydrazine linker.

A combinatorial library was developed and chemometric studies of 2(4)-hydrazinoquinoline derivatives were performed. The most promising arrays of substances (46 compounds) were selected for further search and biological testing.

SAR and QSAR models of toxicity (acute toxicity and antimicrobial activity) among derivatives 2(4)-hydrazinoquinoline were created. The results of the created models correlated with experimental studies.

2(4)-hydrazinoquinoline derivatives were studied as bioregulators with antibacterial activity. 2-(2-(4-methylquinolin-2-yl)hydrazono)butanedioic acid, which keeps the diameter of the zone of bacterial inhibition at the level of 30 mm, turned out to be the most promising among the investigated substances under the experimental conditions. Substances of this series are recommended for further screening studies of antibacterial action.

The scientific novelty of the obtained results.

For the first time, a combinatorial library was developed and a comprehensive assessment of the biological potential of 2(4)-hydrazinoquinoline and its derivatives was made. Computer prediction made it possible to select the most promising arrays of compounds for further search and biological testing.

The toxicity of the studied compounds was evaluated *in silico*, which made it possible to determine a number of factors that affect the level of toxic action of derivatives of ((quinolin-2(4)-yl)hydrazono)carboxylic acids, which correlates with the physicochemical properties that determine bioavailability. Most derivatives of ((quinolin-2(4)-yl)hydrazono)carboxylic acids belong to low-toxic substances.

A number of 2(4)-hydrazinoquinoline derivatives were developed and tested *in vitro*. Some 2(4)-hydrazinoquinoline derivatives, selected by QSAR modeling as dihydrofolate reductase inhibitors, showed effective antibacterial activity, especially against antibiotic-resistant strains of *S. aureus* and *E. coli*.

It was established that most of the investigated 2(4)-hydrazinoquinoline derivatives have different effects on the growth of individual parts of the plant. Growth-stimulating activity is well expressed relative to the length of the hypocotyl and reaches its maximum at a concentration of 100 µg/ml. A similar phytotoxic effect is observed on the length of the zone and the number of lateral roots at a concentration of 20 µg/ml. 2-(2-(2-methylquinolin-4-yl)hydrazono)butanedioic acid does not show any cytotoxic effect on the growth of *Cucumis sativus* L. sprouts. At a concentration of 5 µg/ml, an effective growth-stimulating effect on the zone of lateral roots (67,1 %) and their number (32,6 %) is manifested. It was found that 2-(2-(4-methylquinolin-2-yl)hydrazono)pentanedioic acid is the most promising cytokine drug among 2(4)-hydrazinoquinoline derivatives.

It was found that the most active antioxidant among the studied substances is 2-(2-(4-methylquinolin-2-yl)hydrazono)ethanoic acid, which is more effective than the reference drugs. It was established that in the process of free radical oxidation, this derivative shows the properties of a «trap» of superoxide anion, intercepts the hydroxyl radical, reduces the level of peroxides and inhibits the formation of nitrogen monoxide.

For the first time, the protective effect of 2-(2-(quinolin-4-yl)hydrazono)carboxylic acids derivatives on male spermatozoa was investigated in conditions of H₂O₂-induced oxidative stress, and the main indicators of sperm fertility (concentration, movement) were evaluated. It has been established that derivatives of 2-(2-(quinolin-4-yl)hydrazono)carboxylic acids demonstrate favorable antioxidant properties and are promising protectors of spermatozoa in conditions of oxidative stress.

An experimental in vitro study of the phagocytic effect of quinoline derivatives was conducted and the effect of new biologically active substances – derivatives of 2-(2-(quinolin-4-yl)hydrazono)carboxylic acids – on the absorptive function of peripheral blood neutrophils capable of phagocytosis was evaluated. Such hydrazinoquinoline derivatives as 2-(2-(2-methylquinolin-4-yl)hydrazono)ethanoic acid, sodium 2-(2-(7-chloroquinolin-4-yl)hydrazono)pentadioate and 2-(2-(2-methylquinolin-4-yl)hydrazono)butanedioic acid – increased the absorption effect of neutrophils by 9–11 %.

The practical significance of the results.

A combinatorial library of new 2(4)-hydrazinoquinoline derivatives was created. The relationships «structure – toxicity – action» were established, QSAR models of toxicity and antibacterial activity were built, a number of criteria for the targeted search of biologically active substances were formulated. Derivatives of 2-(2-(4-R-quinolin-2-yl)hydrazono)carboxylic acids were proposed as new biologically active substances with antibacterial activity against multiresistant strains, which are suitable for use in solving medico-biological problems in the search for new drugs against resistant strains *E. coli* and *S. aureus*. The high antioxidant effect of 2-(2-(4-R-quinolin-2-yl)hydrazono)carboxylic acid derivatives on free radical oxidation was shown in four research models.

The obtained results made it possible to recommend the compounds – 2-(2-(4-methylquinolin-2-yl)hydrazono)butanedioic acid and 2-(2-(4-methylquinolin-2-yl)hydrazono)ethanoic acid for further in-depth research as promising drugs for

prevention and treatment bacterial infections and as drugs that are able to prevent the chain reaction caused by free radicals.

The results of the research were introduced in the educational process of the Natural Sciences and their teaching methods Chair of the Mathematics, Natural Sciences and Technologies Faculty of the Central Ukrainian State University named after Volodymyr Vinnichenko, in the work of the Institute of Steppe Agriculture of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine in Kropyvnytskyi, and the work of the laboratory of the diagnostic center LLC «DC «MEDLIFE-BIO» in Zaporizhzhia.

Keywords: quinoline derivatives, biological activity, heterocyclic compounds, physicochemical methods of analysis, growth-regulatory activity, toxicity, stress, spermatozoa, immunological parameters of blood, derivative compound, cytokines, molecular docking, antibacterial activity, antimicrobial activity, QSAR.

LIST OF PUBLICATIONS

1. Бражко, О.; Завгородній, М.; Карпун, Є.; Бражко, О.; **Романенко, Я.**; Богдан, А. Хемометричні Методи Дослідження Біологічної Активності Похідних Хіноліну. *ScienceRise* **2019**, 1 (1), 36–42. <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2019.155424>. (*Особистий внесок здобувача: участь у проведенні літературного пошуку, обговоренні результатів та підготовці тексту статті*).
2. **Романенко, Я.**; Лагрон, А. Похідні 4-Гідразинохіноліну та їх Біологічна Активність (огляд літератури). *Біорізноманіття, екологія та експериментальна біологія* **2019**, 21, 6–14. <https://doi.org/10.34142/2708-583x.2019.21.01>. (*Особистий внесок здобувача: проведення літературного пошуку, обговорення результатів та написання тексту статті*).
3. **Романенко, Я.**; Клімова, О.; Бражко, О. Оцінка Біологічної Дії Похідних 4-Гідразинохіноліну. *Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки* **2019**, 1, 53–61. <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2019-1-06>. (*Особистий внесок здобувача: здійснення літературного пошуку,*

проведення експериментальних досліджень, обговорення результатів та написання тексту статті).

4. Козир, А.; **Романенко, Я.** Цитотоксична Активність 7-R-4-Заміщених Хіноліну. *Вісник Вінницького національного медичного університету* **2022**, 26 (3), 359–364. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26\(3\)-02](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26(3)-02). *(Особистий внесок здобувача: здійснення літературного пошуку, проведення експериментальних досліджень, обговорення результатів та підготовка тексту статті).*

5. **Романенко, Я.**; Козир, А. Токсичність та Антиоксидантна Активність Похідних 4-Гідразинохіноліну. *Вісник Вінницького національного медичного університету* **2022**, 26 (4), 528–533. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26\(4\)-01](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26(4)-01). *(Особистий внесок здобувача: здійснення літературного пошуку, проведення експериментальних досліджень, обговорення результатів та написання тексту статті).*

6. Hodyna, D.; Kovalishyn, V.; **Romanenko, Y.**; Semenyuta, I.; Blagodatny, V.; Kachaeva, M.; Brazhko, O.; Metelytsia, L. Quinoline Hydrazone Derivatives as New Antibacterials against Multidrug Resistant Strains. *Chemistry & Biodiversity* **2023**. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202300839>. *(Особистий внесок здобувача: участь у здійсненні літературного пошуку, обговоренні результатів та написанні тексту статті).*

7. Bohdan, A.; **Romanenko, Y.**; Zavhorodnii, M.; Kornet, M.; Shupeniuk, V.; Napolraj, A.; Klimova, O.; Brazhko, O. Design, Synthesis and Biological Activity of the 4-Thioquinoline Derivatives. *Chemistry & Chemical Technology* **2023**, 17 (4). <https://doi.org/10.23939/chcht17.04.774> *(Особистий внесок здобувача: участь у проведенні експериментальних досліджень).*

8. **Романенко, Я.** Біологічно активні похідні 4-гідразинохіноліну. У *Молода наука-2019*, Матеріали XII Університетської Науково-практичної Конференції Студентів, Аспірантів і Молодих Вчених, Запоріжжя, Україна, 15 - 17 квітня, 2019; ЗНУ: Запоріжжя, 2019.

9. **Romanenko, Y.**; Lagron, A.; Brazhko, O. Biological Activity of 4-Hydrazinoquinolines. In *Modern Chemistry Problems*, Book of Abstracts, XX International Conference for Students and PhD Students, Kyiv, Ukraine, May 15 - 17, 2019; KNU named after Taras Shevchenko: Kyiv, 2019.

10. **Romanenko, Y.** PASS Prediction of Biological Activity of 4-Hydrazinoquinoline Derivatives. In *Topical Issues of the Development of Modern Science*, Abstracts of II International Scientific and Practical Conference, Sofia, Bulgaria, October 16 – 18, 2019; ACCENT: Sofia, 2019.

11. **Romanenko, Y.**, Lagron, A Investigation of 4-Hydrazinoquinolines by in Silico Methods. У *Осінні наукові читання*, Тези доповідей XXIII Міжнародної Науково-Практичної Інтернет-конференції, Тернопіль, Україна, 27 листопада 2019; ГО «НОК»: Дніпро, 2019.

12. Богдан, А.; **Романенко, Я.**; Бражко, О. Актуальні дослідження біологічної активності похідних хіноліну хемометричними методами. У *Сучасні проблеми біології, екології та хімії*, Матеріали VI Міжнародної Науково-Практичної Конференції Присвячена 90-річчю Заснування Запорізького Національного Університету, Запоріжжя, Україна, 16 - 17 жовтня 2020; СоруArt: Запоріжжя, 2020.

13. **Романенко, Я.**; Богдан, А. Молекулярний Докінг в Аналізі Механізмів Біологічної Дії Похідних Хіноліну. In *Emerging Trends in Academic Research*, Conference Proceedings of the 1st International Conference, Dublin, Ireland, February 10 – 12, 2021; Primedia elaunch LLC: 2021

14. **Романенко, Я.**; Богдан, А. Антиоксидантні властивості 4-тіо- та 4-гідразинопохідних хіноліну. У *Наука, освіта, суспільство в умовах глобалізації*, Збірник Тез Доповідей Міжнародної Науково-Практичної Конференції, Полтава, Україна, 6 липня, 2021; ЦФЕНД: Полтава, 2021.

15. **Romanenko, Y.**; Bohdan, A. 4-Thio- & 4-Hydrazinoquinoline Derivatives: Toxicity, Activity. In *Modern Scientific Trends and Standards*, Proceedings of the 2-nd International Scientific and Practical Conference, Santa Rosa, Argentina, February 16 – 18, 2022; Megafyn: Santa Rosa, 2022.

16. Kozyr, A.; **Romanenko, Y.** 7-R-4-Substituted Quinoline As Growth Activators. У *Молода Наука-2022*, Збірник Наукових Праць Студентів, Аспірантів, Докторантів і Молодих Вчених, Запоріжжя, Україна, 18 - 22 квітня 2022; ЗНУ: Запоріжжя, 2022.

17. **Romanenko, Y.**; Kozyr, A.; Brazhko, O.; Mykhalska, T.; Hromova, T. Quinoline 2(4)-Hydrazine Derivatives as Inhibitors of Sperm Oxidative Stress. In *Sectoral Research XXI: Characteristics and Features*, Proceedings of the V International Scientific and Theoretical Conference, Chicago, USA, February 3, 2023; European Scientific Platform: Chicago, 2023.

18. **Романенко, Я.**; Козир, А.; Година, Д.; Ковалішин, В.; Метелиця, Л.; Бражко, О. 2(4)-гідразиноїноліни як потенційні антибактеріальні препарати. In *Grundlagen der modernen wissenschaftlichen forschung*, Materialien Der III Internationalen Wissenschaftlich-Praktischen Konferenz, Zürich, Schweiz, 31 März 2023; Boleswa Publishers & Europäische Wissenschaftsplattform: Zürich-Vinnytsia, 2023.

19. Козир, А.; **Романенко, Я.** Похідні хіноліну як регулятори імунної системи. In *Education and Science of Today: Intersectoral Issues and Development of Sciences*, Proceedings of the V International Scientific and Practical Conference, Cambridge, United Kingdom, August 18, 2023; Publishing House & European Scientific Platform: Cambridge – Vinnytsia, 2023.

20. **Романенко, Я.**; Бражко, О.; Михальська, Т.; Громова, Т. Регулювання ВРО препаратами на основі похідних 2(4)-гідразиноїноліну. In *Modernization of Today's Science: Experience and Trends*, Proceedings of the IV International Scientific and Theoretical Conference, Singapore, Republic of Singapore, September 22, 2023; European Scientific Platform: Singapore, 2023.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	19
ВСТУП.....	20
РОЗДІЛ 1 БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ НА ОСНОВІ 2(4)- ЗАМІЩЕНИХ ХІНОЛІНУ	27
1.1 Гетероциклічна система хіноліну – основа для створення біоактивних речовин	27
1.2 Біологічна активність похідних 2(4)-гідразинохіноліну.....	30
1.3 Хемометричні дослідження похідних 2(4)-гідразинохіноліну.....	41
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	48
2.1 Матеріали, що використовувалися у роботі.....	48
2.2. Фізико-хімічні методи аналізу.....	49
2.3 Методи комп’ютерного прогнозування біологічної активності сполук ...	50
2.3.1 PASS прогнозування біологічної активності	50
2.3.2 QSAR моделювання	52
2.3.2.1 Формування бази даних 2(4)-гідразинопохідних хіноліну	52
2.3.2.2 Методи машинного навчання	52
2.3.3 Молекулярний докінг	54
2.4 Методика вивчення антимікробної активності.....	55
2.5 Методика визначення впливу сполук на поділ та ріст рослинних клітин (рістстимулювальна/цитотоксична дія)	56
2.6 Дослідження гострої токсичності.....	57
2.7 Методика дослідження антирадикальної та антиоксидантної активності 2(4)-гідразинопохідних хіноліну <i>in vitro</i>	58

2.7.1 Дослідження антирадикальної активності на моделі аутоокиснення адреналіну	58
2.7.2 Дослідження антиоксидантної активності на моделі інгібування NO-радикалу	59
2.7.3 Метод оцінки антиоксидантної активності на моделі неферментативного ініціювання вільнорадикального окиснення	61
2.8 Оцінка ступеню захисту сперматозоїдів чоловіків від H ₂ O ₂ -індукованого окиснювального стресу <i>in vitro</i>	62
2.9 Фагоцитарна активність у дослідях <i>in vitro</i>	63
2.10 Статистична обробка результатів досліджень	64
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ	66
3.1 Прогноз біологічної активності <i>in silico</i> методом	66
3.1.1 Прогноз біологічної активності 2(4)-гідразінопохідних хіноліну	67
3.2 Антимікробна активність	78
3.2.1 QSAR оцінка антимікробної активності	79
3.2.2 Прогнозування активності віртуального набору сполук	80
3.2.3 Антимікробна активність щодо штамів <i>E. coli</i> та <i>S. aureus</i> (<i>in vitro</i>)	81
3.3 Визначення впливу сполук на поділ та ріст рослинних клітин (рістстимулювальна/цитотоксична дія)	83
3.4 Дослідження гострої токсичності похідних 2(4)-гідразінохіноліну	90
3.4.1 Віртуальний скринінг гострої токсичності (LD ₅₀)	91
3.4.2 Експериментальне дослідження гострої токсичності (LD ₅₀)	94
3.5 Визначення антирадикальної активності на моделі аутоокиснення адреналіну	96
3.6 Оцінка ступеня захисту сперматозоїдів чоловіків від H ₂ O ₂ -індукованого оксидативного стресу	98

3.7 Фагоцитарна активність у дослідях <i>in vitro</i>	102
3.8 Молекулярний докінг найбільш активних сполук з антимікробною дією щодо <i>E. Coli</i> та <i>S. aureus</i>	106
3.9 Антирадикальна та антиоксидантна активність найбільш активних сполук у дослідях <i>in vitro</i>	111
3.9.1 Визначення антирадикальної активності за інгібуванням NO [•] -радикалу	114
3.9.2 Визначення антиоксидантної активності	115
ВИСНОВКИ.....	117
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	120
ДОДАТКИ.....	144

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- АК – аскорбінова кислота
- АКГК – а-кетоглутарова кислота
- АБА – антибактеріальна активність
- АОА – антиоксидантна активність
- АРА – антирадикальна активність
- АФК – активні форми кисню
- АЦЦ – ацетилцистеїн
- БА – біологічна активність
- БАР (ФАР) – біологічно(фізіологічно) активні речовини
- ВРО – вільнорадикальне окиснення
- ДГФР – Дигідрофолатредуктаза
- ДФ – Державна Фармакопея
- ЛД₅₀ – напівлетальна доза
- МД – молекулярні дескриптори
- МІК – мінімальна інгібіторна концентрація
- МО – мікроорганізми
- МФК – мінімальна фунгіцидна концентрація
- ОС – окисний стрес
- ПВК – піровиноградна кислота
- ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
- ПХ – похідні хіноліну
- ФП – фагоцитарний показник
- L – ліганд
- PASS – Prediction of Activity Spectra for Substances
- Q – хінолін
- QSAR – Quantitative Structure Activity Relationship – кількісний взаємозв'язок структура-активність)
- QSPR – Quantitative Structure Property Relationship

ВСТУП

Актуальність теми. Беззмінно актуальним буде пошук селективних біорегуляторів, дослідження їх будови, фізико-хімічних властивостей, встановлення їх активності й створення на їх основі нових пестицидів, лікарських, ветеринарних препаратів тощо.

Для дизайну біоактивних молекул застосовують речовини як природного походження, так і їх синтетичні модифіканти. Зокрема, похідні гетероциклічної системи хіноліну з моменту винайдення і до теперішнього часу привертають до себе увагу низки дослідників, що зумовлено високою біодоступністю природних та синтетичних представників цього азагетероциклу. За останні роки з'явилася значна кількість публікацій про актуальну специфічну та неспецифічну біологічну активність похідних хіноліну [1].

В результаті пошуку нових сполук з високою біологічною активністю та низькою токсичністю як базову структуру було взято азагетероциклічну систему хіноліну. Похідні гідразинохінолінів відіграють важливу роль у медицині та ветеринарії. Вони демонструють значний потенціал як антимікробні, антималярійні, антизапальні, протисудомні, фунгістатичні, противірусні та протипаразитичні препарати. Похідні цього азагетероциклу також проявляють анальгетичну, нейротропну та протизапальну дії, є сполуки із протипухлинною та імуномодельною властивостями, відомі як високоефективні антиоксиданти. Враховуючи викладене, отримання похідних 2(4)-гідразинохінолінів, вивчення токсичності і біологічних властивостей цього ряду сполук і визначають актуальність роботи [2].

Дисертація є продовженням циклу праць науковців Запорізького національного університету, присвячених похідним, що поєднують у своїй структурі нітрогеновмісний гетероцикл та фрагменти гідразину і оксосполук.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана у межах тематичних планів Запорізького національного університету – «Раціональний дизайн S,N-модифікованих

амінотіолів як потенційних протирадіаційних засобів» (№ 0119U000226, керівник к.б.н., доцент Корнет М.М). Конкурс проєктів наукових робіт та науково-технічних (експериментальних) розробок молодих учених (МОН України, 2018). Термін реалізації 01.01.2019-31.12.2021 р.

Мета та завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи є пошук нових ефективних малотоксичних біорегуляторів серед похідних 2(4)-гідразинохінолінів, дослідження їх фізико-хімічних та біологічних властивостей, встановлення залежності «структура – токсичність – дія», вивчення впливу наявності/відсутності замісників у хіноліновому скафолді на прояв біологічної активності та токсичності.

Для досягнення поставленої мети визначені такі **завдання**.

- Створити комбінаторну бібліотеку похідних 2(4)-гідразинохінолінів.
- Провести віртуальні дослідження похідних 2(4)-гідразинохінолінів.
- Провести планування наукового експерименту на основі хемометричних досліджень в ряду 2(4)-гідразинохінолінів та їх похідних. Відібрати найбільш перспективні сполуки, вивчити їхні фізико-хімічні властивості.

- Провести експериментальні дослідження біологічних властивостей сполук на різних таксономічних групах, базуючись на прогнозованому спектрі біологічної дії, включаючи дослідження наступних видів активності:

- антимікробна активність;
- цитотоксичність;
- гостра токсичність;
- антиоксидантна активність на моделях *in vitro*;
- захист сперматозоїдів від оксидативного стресу;
- фагоцитарна активність.

- Установити залежність біологічної дії досліджених речовин від хімічної структури дериватів 2(4)-гідразинохінолінів.

- Виявити сполуки-лідери серед похідних 2(4)-гідразинохінолінів, провести їх додаткові дослідження.

Об'єкт дослідження – похідні 2(4)-гідразиноїнолінів.

Предмет дослідження – пошук нових високоефективних і низькотоксичних сполук із протимікробною, рістрегуляторною, антиоксидантною та фагоцитарною активностями в ряду похідних 2(4)-гідразиноїноліну.

Методи дослідження – хеометричні (PASS-прогноз, QSAR-аналіз, молекулярний докінг), біологічні та біохімічні методи (дослідження протимікробної дії, гострої токсичності, АО, антирадикальної (*in vitro*), фагоцитарної активності). Статистична обробка отриманих результатів проводилася за допомогою пакету комп'ютерних програм ПК Statistica, v.5.0 і MS Excell.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше розроблено комбінаторну бібліотеку та проведено комплексну оцінку біологічного потенціалу дериватів 2(4)-гідразиноїноліну. Комп'ютерний прогноз дозволив відібрати найбільш перспективні масиви сполук для подальшого пошуку та біологічних випробувань.

Оцінено токсичність досліджуваних сполук *in silico* та *in vivo* що дало змогу визначити чинники, які впливають на рівень токсичної дії похідних ((хінолін-2(4)-іл)гідразано)карбонових кислот. Результати досліджень корелюють з фізико-хімічними властивостями, які обумовлюють біодоступність. У своїй більшості похідні ((хінолін-2(4)-іл)гідразано)карбонових кислот належать до малотоксичних речовин.

Було розроблено, синтезовано та випробувано *in vitro* ряд 2(4)-гідразиноїпохідних хіноліну. Вибрані за допомогою QSAR моделювання деякі 2(4)-гідразиноїпохідні хіноліну як інгібітори дигідрофолатредуктази, які виявились ефективними антибактеріальними засобами, проти штамів *S. aureus* і *E. coli*.

Встановлено, що більшість досліджених 2(4)-гідразиноїпохідних хіноліну проявляють себе неоднаково щодо різних частин рослини. Рістстимулювальна активність достатньо виражена щодо довжини головного кореня і досягає свого

максимуму в діапазоні концентрацій 1–20 мкг/мл. Фітотоксичний ефект проявляється починаючи з концентрації 20 мкг/мл в залежності від залишку карбонової кислоти. 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)бутандіова кислота взагалі не демонструє цитотоксичного ефекту на ріст паростків *Cucumis sativus* L. При концентрації 5 мкг/мл з'являється ефективний рістстимулювальний вплив на зону бокових коренів (67,1 %) та їх кількість (32,6 %). Виявлено, що серед дериватів 2(4)-гідразинохіноліну найбільш перспективним препаратом-цитокіном є 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіова кислота.

З'ясовано, що найбільш активним антиоксидантом серед досліджених речовин є 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)етанова кислота, яка за дією перевищує референс-препарати. Встановлено, що в процесі вільнорадикального окиснення даний дериват набуває властивостей „пастки” супероксид-аніону, перехоплює гідроксил-радикал, знижує рівень пероксидів і гальмує утворення нітроген (II) оксиду.

Досліджено ступінь захисту похідних 2-(2-(хінолін-4-іл)гідразоно)карбонових кислот щодо сперматозоїдів чоловіків в умовах H_2O_2 -індукованого оксидативного стресу, оцінено основні показники фертильності сперми (концентрація, рух, життєдіяльність). Встановлено, що похідні 2-(2-(хінолін-4-іл)гідразоно)карбонових кислот проявляють сприятливі антиоксидантні властивості і є перспективними протекторами сперматозоїдів в умовах ОС.

Проведено експериментальне дослідження *in vitro* фагоцитарної дії похідні хіноліну та оцінено вплив нових БАР – похідних 2-(2-(хінолін-4-іл)гідразоно)карбонових кислот – на поглинальну функцію нейтрофілів периферичної крові, здатних до фагоцитозу. Похідні гідразинохіноліну – 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)етанова кислота, натрію 2-(2-(7-хлорохінолін-4-іл)гідразоно)пентадіоат та 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)бутандіова кислота – підвищували поглинальну дію нейтрофілів на 9–11 %.

Практичне значення отриманих результатів. Створено комбінаторну бібліотеку нових похідних 2(4)-гідразинохіноліну. Встановлено зв'язки «структура – токсичність – дія», побудовано QSAR-моделі токсичності та протибактеріальної активності, сформульовано ряд критеріїв для скерованого пошуку біоактивних речовин. Запропоновано сполуки – похідні 2-(2-(4-R-хінолін-2-іл)гідразоно)карбонових кислот як нові протибактеріальні засоби щодо мультирезистентних штамів, які придатні для застосування при вирішенні медичних та біологічних завдань при створенні нових препаратів проти резистентних штамів *E. coli* та *S. aureus*.

Показано антиоксидантну дію похідних 2-(2-(4-R-хінолін-2-іл)гідразоно)карбонових кислот щодо окиснення вільних радикалів на різних моделях дослідження.

Отримані результати дозволили рекомендувати сполуки – 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)бутандіову кислоту та 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)етанову кислоту для подальшого поглибленого дослідження як перспективних препаратів для профілактики та лікування бактеріальних інфекцій та як препаратів, що здатні запобігти виникненню ланцюгової реакції, викликаной ВРО.

Результати досліджень впроваджено в освітній процес кафедри природничих наук і методик їх викладання факультету математики, природничих наук та технологій Центральноукраїнського державного університету імені Володимира Винниченка, в роботу Інституту сільського господарства Степу НААН України м. Кропивницький та роботу лабораторії діагностичного центру ТОВ «ДЦ «МЕДЛАЙФ-БІО» м. Запоріжжя.

Особистий внесок здобувача. Пошук, аналіз і систематизація літературних даних, хемометричні (PASS-прогнозування біоактивності сполук, вивчення токсичності сполук *in silico*) та біологічні (дослідження гострої токсичності, АРА, рістрегуляторної, антибактеріальної, протекторної та фагоцитарної дії) експериментальні дослідження, аналіз результатів досліджень та їх статистична обробка виконано особисто автором. Постановка завдань,

узагальнення отриманих результатів, формулювання ключових положень та висновків здійснено за участі наукового керівника.

Низку досліджень проведено у творчому співробітництві. Зокрема, синтетичні експериментальні дослідження виконано науковим керівником д.б.н., проф. О.А. Бражком. Дослідження рістрегуляторної активності та АРА проведено за підтримки к.б.н., доц., В.І. Генчевої (Запорізький національний університет). АОА та АРА досліджувалась на базі виробничо-технологічної лабораторії ТОВ «Славія 2000» за підтримки завідувача лабораторії В. Рибачек. Протекторну дію на сперматозоїдах та фагоцитарну активність сполук вивчали під керівництвом к.б.н. І.В. Добродуб (діагностичний центр ТОВ «ДЦ «МЕДЛАЙФ-БІО»). Вивчення АБА проведено за участі к.м.н. В. М. Благодатного – доцента кафедри мікробіології та епідеміології Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика. Комп'ютерне QSAR-моделювання біологічної активності досліджених сполук, вивчення АБА та молекулярний докінг проведено на науково-матеріальній базі відділу медико-біологічних досліджень Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В. П. Кухаря НАН України (зав. відділом, д.б.н. Л. О. Метелиця).

Результати власних експериментальних досліджень висвітлено в наукових працях, опублікованих у співавторстві з науковим керівником, а також науковцями, які проводилися дослідження фізико-хімічних та біологічних властивостей досліджуваних сполук.

Апробація матеріалів дисертації. Результати досліджень, основні положення та висновки дисертації публікувались, доповідались і обговорювались на: XII Університетській науково-практичній конференції студентів, аспірантів і молодих вчених «*Молода наука-2019*» (Запоріжжя, Україна, 15 – 17 квітня 2019), XX International conference for students and PhD students (Kyiv, Ukraine, May 15 – 17, 2019), II International scientific and practical conference «*Topical issues of the development of modern science*» (Sofia, Bulgaria, October 16 – 18, 2019), XXIII Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «*Осінні наукові читання*» (Тернопіль, Україна, 27 листопада 2019),

VI Міжнародній науково-практичній конференції «*Сучасні проблеми біології, екології та хімії*» (Запоріжжя, Україна, 16 – 17 жовтня 2020), 1st International conference «*Emerging trends in academic research*» (Dublin, Ireland, February 10 – 12, 2021), Міжнародній науково-практичній конференції «*Наука, освіта, суспільство в умовах глобалізації*» (Полтава, Україна, 6 липня 2021), 2-nd International scientific and practical conference «*Modern Scientific Trends and Standards*» (Santa Rosa, Argentina, February 16 – 18, 2022), XV університетській науково-практичній конференції студентів, аспірантів, докторантів і молодих вчених «*Молода наука-2022*» (Запоріжжя, Україна, 18 – 22 квітня 2022), V International scientific and theoretical conference (Chicago, USA, February 3, 2023), III Internationalen wissenschaftlich-praktischen konferenz «*Grundlagen der modernen wissenschaftlichen forschung*» (Zürich, Schweiz, 31 März 2023), V International scientific and practical conference «*Education and science of today: intersectoral issues and development of sciences*» (Cambridge, United Kingdom, August 18, 2023), IV International scientific and theoretical conference «*Modernization of today's science: experience and trends*» (Singapore, Republic of Singapore, September 22, 2023).

Апробація роботи проведена на міжкафедральному засіданні професорсько-викладацького складу біологічного факультету Запорізького національного університету.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 141 сторінці друкованого тексту (загальний обсяг дисертації – 195 сторінки) і складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу об'єктів і методів досліджень, розділу аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел літератури (194 джерел) та додатків. Робота ілюстрована 12 таблицями та 44 рисунками.

РОЗДІЛ 1

БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ НА ОСНОВІ 2(4)-ЗАМІЩЕНИХ ХІНОЛІНУ

1.1 Гетероциклічна система хіноліну – основа для створення біоактивних речовин

Хінолін та його похідні – найважливіші структури азагетероциклів. Вони мають комплексну біологічну дію, виявляють антималярійну, протибактеріальну, антидіабетичну, протизапальну активність тощо [1, 2]. Використання похідних хіноліну не обмежується їх застосуванням як біорегуляторів у медицині та ветеринарії. Так, поліхіноліни, отримані з хінолінів, можуть бути використані при синтезі мезо- та наноструктурних сполук, що представляють інтерес як матеріали для органічної електроніки та нелінійної оптики [3, 4]. Зважаючи на важливе практичне значення похідних хіноліну для деяких галузей промисловості, і особливо для медичної та фармацевтичної хімії, синтез і дослідження біологічної активності нових похідних хіноліну є нагальним завданням для новітньої науки [5].

Гетероциклічна сполука хіноліну складається з двох ароматичних шестичленних кілець – бензольного та піридинового, які анельовані через два атоми Карбону. Хінолін – прозора рідина з різким запахом, малорозчинна у воді, але добре змішується з етанолом, діетиловим етером та іншими органічними розчинниками, переганяється з водяною парою. Температура кипіння 237 °C, а плавлення – 16 °C.

Хінолін та його похідні є важливим класом гетероциклічних сполук. Методам отримання хінолінів присвячено безліч робіт, починаючи з кінця XIX століття. Хіноліновий фрагмент присутній у молекулах багатьох природних сполук [6, 7], наприклад, в алкалоїдах. Хінолін є синтоном для одержання фармакологічних препаратів, що використовуються як протималярійні, антибактеріальні, антиоксидантні, протівірусні засоби [8].

Хінолін був виділений вперше в забрудненому стані вченим Ф. Рунге ще в 1834 році. Це був один з продуктів перегонки кам'яновугільної смоли. Речовина, що отримав Ф. Рунге, була названа Лейколом; вона містила помітні кількості алкілхінолів і ізохіноліну. Наступним отримав хінолін вчений Ш.Ф. Жерар (ймовірно, що мав домішки ліпідів) при перегонці Хініну і Цинхоніна з їдкими лугами та назвав його Хінолеїном. Я. Берцеліус згодом запропонував назву хінолін [9]. Синтетичний хінолін було вперше отримано у 1879 році пропусканням над нагрітим плюмбум (II) оксидом пари етиланіліну та інших алкіланілінів [10].

Кон'югована система хіноліну аналогічна до нафталінової та має десять π -електронів. Молекула має плоску форму й підлягає правилу Хюкеля ($4n + 2$ електрони) для ароматичних систем. Електронна густина відтягується з кільця атомом Нітрогену. Усі атоми у кільцях хіноліну мають sp^2 -гібридизацію.

Хінолін є слабкою основою, яка протонується сильними кислотами по Нітрогену, при цьому утворює солі з температурою плавлення $134\text{ }^{\circ}\text{C}$. Хінолін як і піридин взаємодіє з кислотами Льюїса та утворює продукти приєднання й проявляє властивості «піридинового Нітрогену» [11].

Електрофільні реагенти, які реагують легше з бенzenом ніж з піридином, штурмують бензенову частину молекули хіноліну. 5 і 8 положення є дієвими положеннями в реакціях заміщення [12].

Реакція заміщення відбувається у піридиновому кільці під дією нуклеофільних реагентів. До атаки нуклеофілів атом Нітрогену активує, вибірково циклічну систему. Так, реакції хіноліну з нуклеофілами, однаково легко протікають електронodefіцитними положеннями 2 і 4 (рис. 1.1) [13]. Саме тому хінолін є гарною основою для модифікацій та створення на його основі препаратів медико-біологічного напрямку.

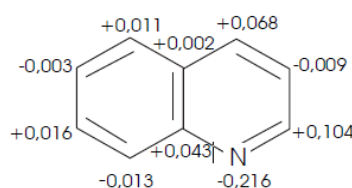


Рисунок 1.1 – Ефективні заряди хіноліну

В результаті активного розвитку хімії, медицини та біологічних наук відбувається постійний пошук сполук на основі гетероциклів, які проявляють різноманітну біологічну активність. Серед гетероциклічних сполук заміщені хіноліни досить важливі завдяки їх широкому спектру біологічної дії. Саме хінолінові похідні виявляють широкий спектр фармакологічних властивостей такі як: протималярійна [14], антиревматична [15], проти SARS-CoV-2 [16], антимікробна [17], протипаразитична [18], антитуберкульозна [19], протидіабетична [20], антизапальна [21], протипухлинна [22], антиартритна [23] та знеболювальна [24]. Було проведено різноманітні структурні модифікації для посилення протималярійної та антимікробної активності похідних хіноліну шляхом введення в молекулу різних функціональних груп [25].

Найбільш відомі серед хінолінових препаратів похідні 8-гідроксихіноліну, хінолону-4 та інші. Найбільш перспективні використовуються для розробки низки антимікробних та протипухлинних препаратів. Вони виявляють високий рівень антибактеріальної дії щодо грамнегативних, грампозитивних бактерій та володіють позитивними властивостями щодо шляхів надходження, розподілу та метаболізму даних речовин в організмі людини. Препарати групи дериватів 4- та 8-гідроксихінолінів є галогенованими або нітрогенозаміщеними похідними хіноліну. Похідні 8-гідроксихіноліну (Хінозол, Хлорхінальдол, 5-НОК, Ентеросептол тощо) широко застосовується в медицині та ветеринарії при лікуванні різних інфекцій [26].

На основі похідних хіноліну розроблено ряд ефективних протимікробних препаратів, зокрема, синтетичні антибіотики (хінолони). Це фторовані похідні 4-хінолону, що містять у своєму положенні хінолінового кільця незаміщений або заміщений піперазиновий цикл. Хінолони вивчені як антибіотики комплексної дії з відмінною біодоступністю при пероральному прийомі, і їх можна використовувати для лікування широкого спектру бактеріальних інфекцій. У той час як початкові хінолони були ефективними лише проти грамнегативних бактерій, наступні покоління отримали активність проти *Pseudomonas sp.*, грампозитивних та атипичних штамів бактерій. Наразі

розроблено багато різних хінолонів, серед яких схвалені FDA (Food and Drug Administration) для системного застосування, ними є Моксифлоксацин, Ципрофлоксацин, Геміфлоксацин, Левофлоксацин, Делафлоксацин і Офлоксацин. Моксифлоксацин разом з Делафлоксацином ефективний при лікуванні анаеробів. Делафлоксацин є єдиним хінолоном, ефективним проти метицилінрезистентного *S. aureus* (MRSA) [27].

Схвалені FDA показання до застосування певних хінолонів у дорослих включають лікування інфекцій сечовивідних шляхів, пієлонефриту, інфекцій, що передаються статевим шляхом, простатиту, шлунково-кишкових та інтраабдомінальних інфекцій, інфекцій шкіри та м'яких тканин, пневмонії, а також інфекцій кісток і суглобів. Застосування таких хінолонів як, Ципрофлоксацин та Левофлоксацин також схвалено і у педіатрії для лікування інгаляційної сибірської виразки та чуми.

Фторхінолони відіграють важливу роль і у лікуванні туберкульозу, зокрема туберкульозу з мультирезистентною стійкістю. Це клас антибіотиків, який пригнічує ДНК-гірази і таким чином запобігає синтезу бактеріальної ДНК, має значну активність *in vitro* проти *Mycobacterium tuberculosis*.

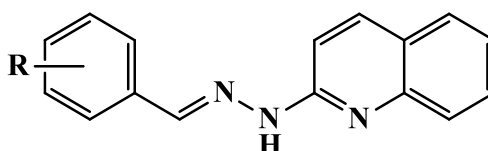
Водночас Ципрофлоксацин, Офлоксацин і Левофлоксацин, виявляють противірусні властивості проти різних вірусів. Дослідження показали, що ці фторхінолони ефективні в лікуванні одноланцюгової РНК ВГС (вірус гепатиту С). У пацієнтів із хронічним гепатитом, індукованим ВГС, і компенсованим цирозом печінки лікування Офлоксацином протягом 1 – 8 тижнів призвело до зниження рівня РНК ВГС [28].

1.2 Біологічна активність похідних 2(4)-гідразінохіноліну

У гетероциклічній системі хіноліну, 2-ге та 4-те положення є високо реакційними положеннями, що дає змогу модифікувати й синтезувати нові сполуки. Додавання залишку гідразину до цих ділянок азагетероциклу

призводить до зниження його токсичності та появи нових видів біологічної активності, якими цікавляться дослідники [29].

В літературі відомі як біорегулятори 2-хінолінгідрозони, так і 4-хінолінгідрозони. Так, досліджено хінолін-2-ілгідрозони похідні бензальдегіду (I-VIII), ізатину (IX-XX) та інших дериватів (рис. 1.2).



I – 2-флуоро; *II* – 4-флуоро; *III* – 2,4-дифлуоро; *IV* – 2,5-дифлуоро;
V – 2-хлоро; *VI* – 3-хлоро; *VII* – 4-хлоро; *VIII* – 3,5-дихлоро; *IX* – 3,4-дихлоро;
X – 2-бромо; *XI* – 3-бромо; *XII* – 4-бромо

Рисунок 1.2 – 2-Хінолінгідрозони похідні бензальдегіду

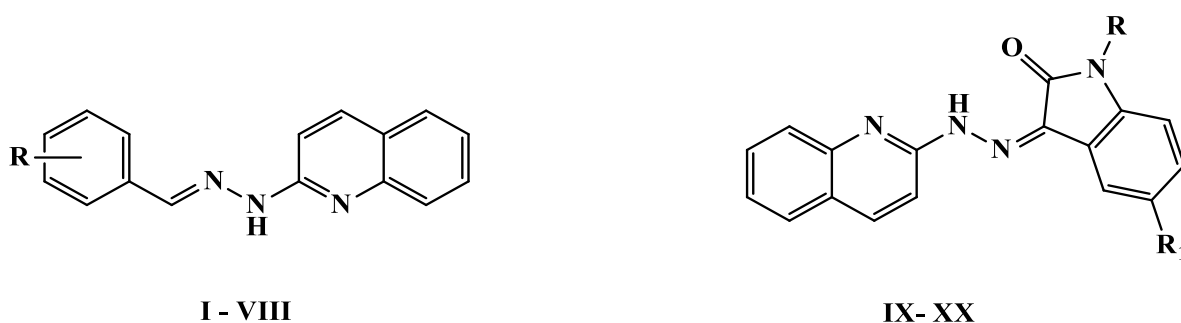
У дослідженні антибактеріальної активності *in vitro* проти *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, ізоляту *E. coli*, ізоляту *P. aeruginosa* як грамнегативних бактерій, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212, ізоляту *S. aureus* та ізоляту *E. faecalis* як грампозитивних бактерій, значення МІК сполук і препаратів порівняння показало, що сполуки загалом демонструють хорошу антимікробну активність.

Досліджувані сполуки продемонстрували активність проти *S. aureus* на рівні 32 – 64 мг/мл. Похідні хіноліну з концентрацією 16 – 32 мг/мл мають подібну дію проти метицилін-резистентного золотистого стафілокока (MRSA), *V* і *VIII* показали кращий протимікробний ефект, ніж Ампіцилін, Гентаміцин, Ципрофлоксацин і Цефотаксим. А сполука *IV* мала кращий ефект проти *E. faecalis*, ніж Гентаміцин і Цефотаксим з 2 мг/мл, і мала ефект, еквівалентний Ампіциліну, Ванкоміцину та Ципрофлоксацину. З іншого боку, було помічено, що сполука *VIII* має набагато кращий ефект при концентрації 1 мг/мл, ніж усі похідні хіноліну та всі контрольні препарати. Проте всі похідні хіноліну проти

стійких до Ванкоміцину *E. faecalis* показали кращу активність, ніж Ампіцилін у концентрації 16 мг/мл.

Дослідження активності похідних хіноліну проти *P. aeruginosa* показали, що вони є менш ефективними, ніж Гентаміцин і Ципрофлоксацин (0,125 – 0,5 мг/мл), але було виявлено, що I, V, VII, VIII, X і XI виявляють активність близьку до Цефотаксиму при 16 мг/мл [30].

Крім того, хінолін-2-ілгідразони демонструють значну аналгетичну активність, яка дорівнює або навіть перебільшує за дією препарати-стандарту (Анальгін, Ортофен). При порівнянні 2-хінолінгідразонів ізатину та бензальдегіду (рис. 1.3) більш активними виявились перші. Також цим сполукам властива висока антизапальна дія, але значної антимікробної активності по відношенню до грампозитивних або грамнегативних мікроорганізмів вони не проявляють.



I – R=2-OH; II – R=2,4-diOH; III – R=2-OH-5-Br; IV – R=4-OCH₃; V – R=2,4-diOCH₃; VI – R=4-N(CH₃)₂; VII – R=4-NO₂; VIII – C₆H₅-R=5-нітрофурил-2; IX – R=R'=H; X – R=CH₃, R'=H; XI – R=C₂H₅, R'=H; XII – R=C₃H₇, R'=H; XIII – R=(CH₂)₂Br, R'=H; XIV – бензил, R'=H; XV – R=H, R'=CH₃; XVI – R=CH₃, R'=Cl; XVII – R=C₂H₅, R'=Cl; XVIII – R=CH₃, R'=Br; XIX – R=C₂H₅, R'=Br; XX – R=бензил, R'=Br.

Рисунок 1.3 – 2-Хінолінгідразони похідні бензальдегіду та ізатину

4-Хінолінгідразони (рис. 1.4) володіють антималярійною, антимікоплазматичною, антицестодною (стьожкові черви), туберкульозостатичною й антивірусною активністю. Заміна гідрогену в положенні R на метоксигрупу, а також в положенні R₁ на етоксигрупу підвищує антивірусну активність; заміна Гідрогену на метоксигрупу в положенні R₂

зменшує антивірусну активність; із досліджених R_3 замісників, найбільший ефект проявили наступні: $R_3=3\text{-CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ 4- $\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$; 3,4- $(\text{CH}_3\text{O})_2\text{C}_6\text{H}_3$ або 3,4,5- $(\text{CH}_3\text{O})_3\text{C}_6\text{H}_2$ [31, 32, 33].

Хіноліногідразони зі структурою $R=R_2=R_4=\text{H}$, $R_1=\text{OMe}$, $R_3=4\text{-НОС}_6\text{H}_4$ були досліджені в якості інгібіторів транскриптази, ферменту перетворення ретровірусів (рис. 1.4). Приведені результати біологічних випробувань на вірусах M-MuLV, RAV-2 та ВІЧ-1. Інгібуюча активність отриманих сполук зменшується в ряді M-MuLV > RAV-2 > ВІЧ-1 [34].

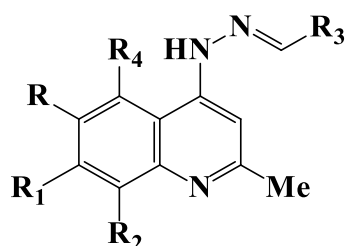


Рисунок 1.4 – 4-Хінолінгідразони

У літературі [35] описана протигрибкова активність гідразонів з різними радикалами і виражена вона як мінімальна інгібіторна концентрація (МІК) та мінімальна фунгіцидна концентрація (МФК) проти 8 штамів *C. albicans*. Дві сполуки ($R = 2\text{-F}$ та $R = 4\text{-CH}_3$) проявляли значну протигрибкову активність у порівнянні зі стандартним препаратом Флуконазолом. Гідразон ($R = 2\text{-F}$) виявляв найбільшу активність – МІК = 25 мкг/мл; МФК = 50 мкг/мл.

Для гідразонів $R = 3\text{-F}$, 4-F, 2-Cl, 2-ОН, 3-ОН, 4-ОН, 2-ОСН₃, 3 -ОСН₃, 4-ОСН₃, 2-CN, 3-CN, 4-CN, 3-NO₂, значення МІК і МФК були вищими, ніж 200 мкг/мл. В цих випадках речовина вважається неактивною. Атом хлору у 2-му положенні не виявив протигрибкової активності. Гідразон ($R = \text{CH}_3$) показав найкращі значення МІК і МФК – 40 мкг/мл для всіх грибів, за винятком *C. tropicalis*, а також низьку цитотоксичність – 82% життєздатних клітин при 50 мкг/мл через 24 год. [35].

Одним із важливих представників гідразинозаміщених гетероциклів є похідні 7-Cl-4-гідразинхіноліну, які мають протитуберкульозну та

протималярійну дію, є хорошими протигрибковими засобами [35, 36, 37, 38, 39, 40].

А. Candea дослідив серію 7-хлоро-4-хінолінілгідразонів (рис. 1.5) на предмет їхньої антимікобактеріальної дії [41]. Якщо в структуру ввести наступні радикали – $R_1 = 4\text{-OMe}$, F, Cl, Br, OMe, NO_2 , CN, то з'являються нові властивості. Деякі речовини демонстрували кращу активність (МІК: 2,5 – 6,25 мг/мл) порівняно зі стандартним препаратом етамбутолом (МІК: 3,25 мг/мл). SAR показав, що сполуки з атомами фтору, хлору, гідрокси- або метоксигрупами володіють значною дією, тоді як бром-, нітро- і ціаноаналогі показали знижену активність. Цитотоксичність даних сполук оцінено за допомогою аналізу Моссмана на інфікованій ВГС (бацилою Кальметта-Герена) лінії клітин J774. У цьому аналізі $R_1 = 4\text{-OMe}$ продемонстрував 100% виживання клітин у дозі 100 мг/мл і, отже, було встановлено, що сполука не є цитотоксичною для клітин господаря в ефективній концентрації (МІК 2,5 мг/мл), щоб пригнічувати ріст *M. Tuberculosis* [41].

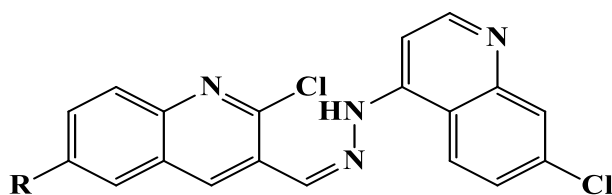


Рисунок 1.5 – Структура 7-хлоро-4-хінолінілгідразонів

При вивченні фармакологічних властивостей 4-гідрaziнохінолінів встановлено, що вони мають не тільки протималярійну дію, але й антибактеріальну дію. За наявності замісників у 6 та/або 8 положенні хінолінової системи активність підвищується, а у 5 та 7 позиціях – знижується [42].

За допомогою методу лінійного дискримінантного аналізу (ЛДА), вивчено залежність активності противірусних препаратів ряду N-хінолін-4-іл-N'-бензиліденгідразин від їх структури. Дослідження показали, що присутність замісників у положенні 6 або 8 хінолінової системи підвищують активність, тоді як наявність метоксигрупи у n-положенні фенільного фрагмента знижує активність [43].

Антималарійну активність щодо хлорохіночутливого штаму *Plasmodium falciparum* можна оцінити за допомогою серії синтезованих хінолілгідразонів, описаних у літературі. Одна із досліджених сполук була в шість разів активнішою за Хлорохін, і жодна активна сполука не пригнічувала утворення β -гематину *in vitro* так само, як Хлорохін [44]. Сполуки ряду N₁-ариліден-N₂-хіноліл та N₂-акринілгідразонів (**A** і **B**, рис. 1.6) ефективні як потенційні антималарійні препарати. Вони виявляли антиплазмодичну активність щодо чутливого до Хлорохіну штаму [45].

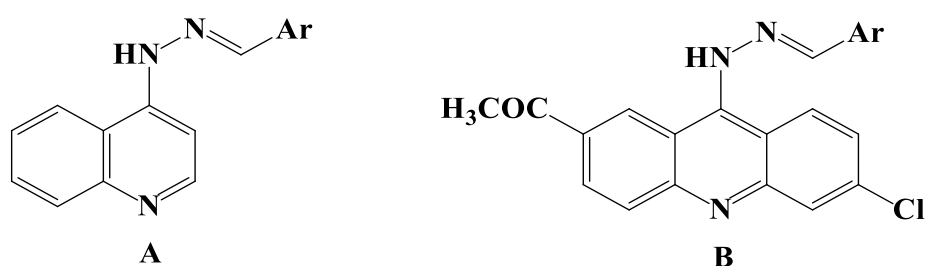


Рисунок 1.6 – Сполуки ряду N₁-ариліден-N₂-хіноліл- та N₂-акринілгідразонів

У похідних 4-[2,2-біс-(2-хлороетил)гідразиніл]хіноліну виявлена протипухлинна активність (рис. 1.7) [46].

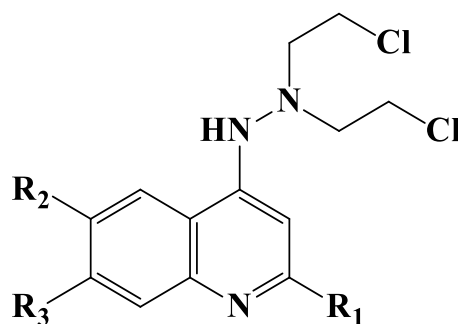
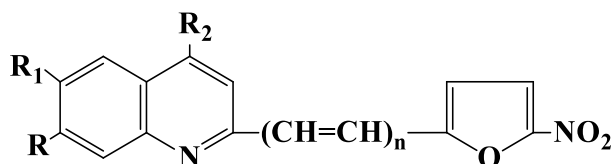


Рисунок 1.7 – Похідні 4-[2,2-біс-(2-хлороетил)гідразиніл]хіноліну

Не залишились поза увагою й інші 4-гідразінопохідні хіноліну. Так, відомі N-заміщені 2-нітрофурилвініл-4-гідразінохіноліни, які володіють протимікробною та протипухлинною активністю (рис. 1.8). Протимікробна активність цих дериватів в досліджах *in vitro* залежить від характеру замісника в

циклі хіноліну і довжини ланцюга сполучення. Введення додаткового зв'язку $-\text{CH}=\text{CH}-$ призводить до зниження активності. Найменшою активністю щодо патогенних мікроорганізмів володіли сполуки, що мали в 4-му положенні хіноліну аміноетанольну або в 6-му положенні – метоксигрупу. Деякі сполуки поряд з антимікробною активністю проявляють протипухлинні властивості [47].



I - XIX

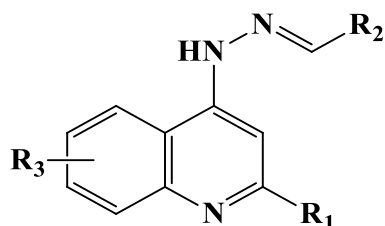
$R = H$ (I – VII, XV – XVII), Cl (VIII – XIV; XVIII, XIX); $R_1 = H$ (I, IV, VIII – XV, XVIII, XIX), OMe (II – V, VII, XVI, XVII); $R_2 = \text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ (I – III, IX, X), $\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$ (IV, V, XI, XII), $\text{NHN}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$ (VI, VII, XIV), $\text{NHCH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_3\text{NEt}_2$ (VIII), $\text{NHC}_6\text{H}_4\text{Cl}_3$ (XIII), Cl (XV – XIX); $n=1$ (I, II, IV, VI – IX, XI, XIII – XVI, XVIII), 2 (III, V, X, XII, XVII, XIX); I – V, VIII – XII • H_3PO_4 .

Рисунок 1.8 – Нітрофурилвініл-4-гідразінохінолін

Вивчаючи протипухлинні властивості встановлено, що сполуки I-XIV демонструють слабкий вплив на розвиток саркоми Йенсена, саркоми 45, саркоми АК, карциноми НК і карциносаркоми Уокера (затримка росту на рівні 30 %) [48].

Хіноліл-4-гідразони (рис. 1.9) та їх антимікобактеріальну активність було досліджено у роботі S. Gemma. Ці сполуки демонстрували кращу антимікобактеріальну активність (МІК: 0,6 до 10,0 мМ) у порівнянні зі стандартним гідразидом ізонікотинової кислоти (ГІНК) (МІК: 0,36 мМ). Дві похідні **1a** і **1b** показали 100% інгібування росту при МІК: 0,6 мМ. Цитотоксичність *in vitro* (IC50) **1a** і **1b** у клітинній лінії *Vero* виявилася відповідно 0,45 мг/мл (SI: 2,27) і 0,21 мг/мл (SI: 1,05). SAR показав, що функціональні групи як у хіноліні (R_2), так і в арилгідразоні (R_3) модулюють активність антимікобактерій. Введення 7-ОМе у кільце хіноліну сприяло підвищенню антимікобактеріальної активності, особливо при поєднанні з нафтильним кільцем у фрагменті гідразону. На підставі структури активності автори висловили думку, що електронні ефекти хінолінового фармакофору та

загальна ліпофільність молекули відіграють важливу роль у визначенні оптимальної антимікобактеріальної активності [49].

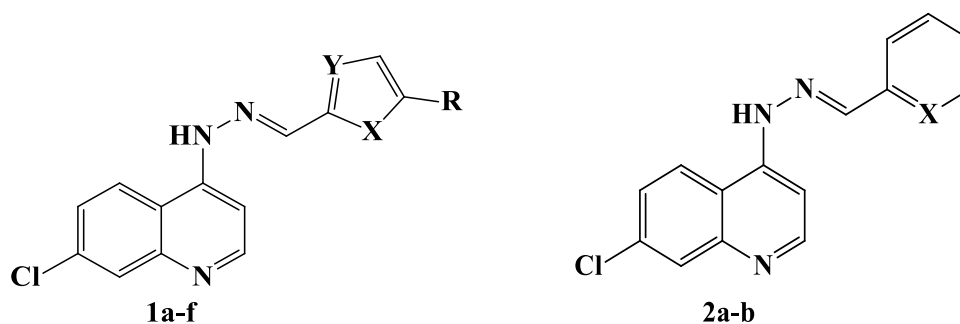


$R_1 = H, Me$; $R_2 = \text{арил, гетерил}$; $R_3 = 6\text{-OMe}, 7\text{-OMe}$

Рисунок 1.9 – Хіноліл-4-гідразони

Також антимікобактеріальну активність похідних 4-гідразинохіноліну **1a – f** та **2a – b** (рис. 1.10) оцінювали щодо *M. tuberculosis* ATCC 27294, використовуючи мікропланшетний аналіз Alamar Blue (MABA). Порівнявши п'ятичленне гетероциклічне ядро (**1d** (S), **1b** (O), **1e** (NH) і **1f** (N плюс NH)), обмежене похідними хіноліну, було виявлено, що немає ніякої різниці в біологічній активності цих сполук (усі похідні показали), але зі збільшенням розміру кільця (шестичленні сполуки, **2a** та **2b**) біологічна активність зменшується в чотири рази у випадку **2a** MIC = 12,5 мкг/мл або повністю зникає у випадку **2b** [50].

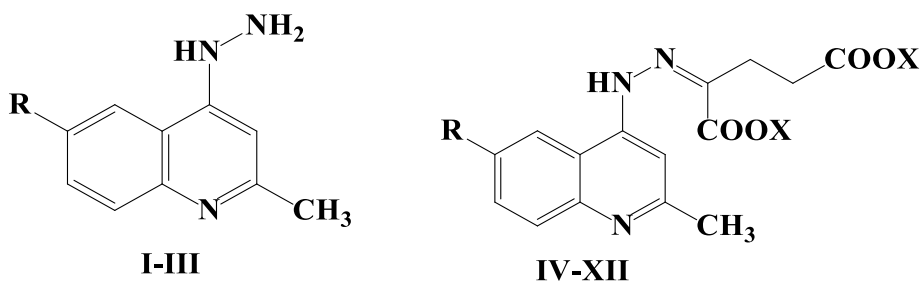
Крім того, при порівнянні сполук у тій же серії (**1a** проти **1b** та **1c** проти **1d**) було помічено, що нітропохідні **1a** (MIC = 2,5 мкг/мл) та **1c** (MIC = 1,25 мкг/мл) були активнішими за інші сполуки **1b** (MIC = 3,12 мкг/мл) та **1d** (MIC = 3,12 мкг/мл), припускаючи, що нітрогрупа є важливою ознакою модуляції біологічної активності в цих серіях. Більше того, при порівнянні похідних **2a** та **2b** було помічено, що сполуки без атома Нітрогену були менш активними, що свідчить про те, що присутність цього атома у сполуках із шести членів також здається важливим для прояву біологічної активності в обох рядах [51, 52].



1a-f: $X = O$ (*a,b*), S (*c,d*), NH (*e,f*); $Y = CH$ (*a-e*), N (*f*); $R = NO_2$ (*a,c*), H (*b,d-f*). *2a-b*: $X = N$ (*a*), CH (*b*).

Рисунок 1.10 – Структура похідних 4-гідразиноїноліну

Дослідження показують, що 4-гідразинхіноліни (I-III) (рис. 1.11) володіють досить високою токсичністю. Уведення електронодонорних замісників (6-OMe і 6-OEt) призводить до підвищення токсичності в три – сім разів. Блокування залишку гідразину оксокомпонентою у гідразонах α -кетоглутарової кислоти та її солях (IV-XII) сприяє значному зниженню токсичності. Отримані дані показали підвищення токсичності в ряду $H < K < Na$, що пов'язують із зростанням розчинності у вищезгаданих сполуках [36]. Автори аргументували це схожістю гібридних структур сполук IV – XII і фрагменту фактору росту бактерій – фолієвої кислоти [36].



I-R = H ;

II-R = OCH_3 ;

III-R = OC_2H_5 ;

IV-R = H , $X = H$;

V-R = OCH_3 , $X = H$;

VI-R = OC_2H_5 , $X = H$;

VII-R = H , $X = Na$;

VIII-R = H , $X = K$;

IX-R = OCH_3 ,

$X = Na$; $X R = OCH_3$, $X = K$;

XI-R = OC_2H_5 , $X = Na$;

XII-R = OC_2H_5 , $X = K$.

Рисунок 1.11 – Похідні 4-гідразиноїнолінів і гідразонів α -кетоглутарової кислоти та її солей

Серед хінолін-4-ілгідразонів, як потенційних біологічно активних речовин, привертають до себе увагу похідні оксокислот (піровиноградної та α -кетоглутарової) (рис. 1.12). Це пов'язано з тим, що вони беруть участь у важливих біохімічних процесах. Значний інтерес, як для синтезу, так і для біологічних досліджень, являє структурна схожість хінолін-4-ілгідразонів оксокислот з інтермедіатами (основами Шіффа) процесу трансамінування, який перебігає з участю вітаміну B₆ [144].

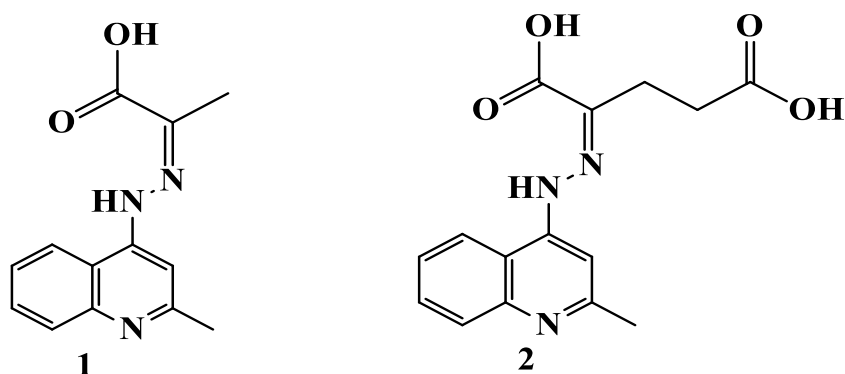


Рисунок 1.12 – Похідні оксокислот (1 – піровиноградна, 2 – α -кетоглутарова)

Наявність стимулюючого впливу на пігментсинтезуючу здатність бактерій встановлено для 2(4)-гідразинопохідних хіноліну із залишками оксокислот. Значну стимулюючу дію на синтез пігменту має динатрієва сіль 2-метилхінолін-4-ілгідразону α -кетоглутарової кислоти, найбільша активність досягається при концентрації 100 мг/л. Ці дослідження показали, що при даній концентрації активізація здійснюється лише у *Serratia marcescens* [53, 54].

Ці дані були підтверджені в іншому літературному джерелі та описано весь процес дослідження [55]. Крім того, було показано, що пігментстимулююча здатність підвищується пропорційно концентрації 2-метил-4-іл-гідразон α -кетоглутарової кислоти в живильному середовищі (демонструють цю тенденцію для культур *Ps. fluorescens iodinum*, *Pseudomonas fluorescens*, *S. Marcescens*). Спостерігалась залежність інтенсивності синтезу пігменту у цих бактерій від методу та бактеріального живильного середовища.

Дилітієва сіль 2-метилхінолін-4-ілгідразону α -кетоглутарової кислоти (рис. 1.13) проявляє депримируючу активність. Наявність двох літієвих катіонів призводить до підвищення дії за рахунок покращення розчинності [56, 57].

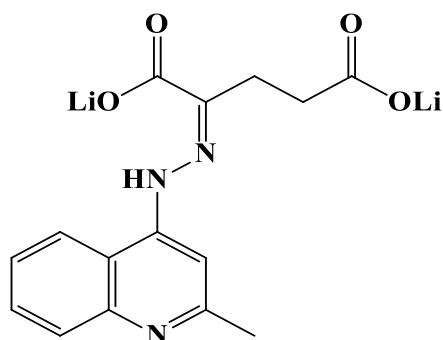


Рисунок 1.13 – Дилітієва сіль 2-метилхінолін-4-ілгідразону α -кетоглутарової кислоти

Гідразінохіноліни також відомі як перспективні антиоксиданти [58]. Дослідження АОА 2(4)-іліденгідразинопохідних хіноліну на моделях ініціації ВРО показало, що дія цих речовин більшою мірою визначається характером іліденового фрагмента у залишку оксокомпоненти і менше залежить від замісників у хіноліновому циклі. Хінолін-2-ілгідразони оксокислот показали незначну АО дію, що пов'язують з їх поганою розчинністю як у ліпофільних, так і гідрофільних середовищах. Встановлено, що перехід до їх водорозчинних форм (солей) призводить до підвищення АО ефекту. Це пояснюють більш вираженою спроможністю солей утворювати хелатні комплекси з металами змінної валентності – прооксидантами [59].

На моделях ініціації ВРО досліджено АОА 4-гідразинопохідних хіноліну. За результатами дослідження видно, що дія гідразонів (IV – XII, рис. 1.11) значною мірою визначається характером катіонів у залишку α -кетоглутарової кислоти. 4-Гідразінохіноліни (I – III) проявляють виражену АО дію. Сполуки IV – VI за рахунок блокування гідразиногрупи залишком α -кетоглутарової кислоти зменшували антиоксидний ефект, це також пов'язано з їх поганою розчинністю в середовищах. При заміні протонів гідрогену на катіони (натрію

або калію) у карбоксильних групах зростає АОА і розчинність цих сполук [36, 56, 60].

Для достовірного відбору перспективних БАР доцільно використовувати методи *in silico*, *in vitro* та *in vivo*. Ряд програмних розробок дають можливість встановити необхідність синтезу нових хімічних структур та комбінацій за допомогою проведення віртуального скринінгу (VS, дослідження *in silico*). Такі методики, як QSAR аналіз, PASS (група європейських країн), GUSAR (ФРН), TEST (США), AdmetSAR (КНР) дозволяють створити точні моделі «структура – дія», «структура – токсичність» та спрогнозувати ймовірну біодію сполук [61].

1.3 Хемометричні дослідження похідних 2(4)-гідразінохіноліну

До лікувальних речовин пред'являють численні жорстокі вимоги. Перш за все вони повинні володіти високою активністю, вибірковістю та тривалістю лікувальної дії. Вони не повинні бути токсичними та викликати небажані побічні ефекти. Крім того, лікувальний препарат має бути високочистим і мати високу стабільність при зберіганні. Все це залежить від хімічної та просторової будови речовини, що і визначає наявність або відсутність біоактивності.

Велика частина існуючих на даний час комп'ютерних методів молекулярного моделювання й аналізу зв'язку «структура – активність» застосовують для дослідження взаємодії «ліганд – рецептор» (одна молекула – мішень) і оптимізації властивостей базових структур на основі аналізу кількісних співвідношень «структура – активність» у рамках одного хімічного класу. Спроби створення такої системи неодноразово починалися раніше [62, 63, 64, 65, 66].

Була запропонована концепція спектру біологічної активності, що представляє собою сукупність усіх властивій речовині видів біологічної дії [67, 68].

Біологічну активність розглядають як внутрішню властивість речовини, що залежить тільки від її структури. Дана концепція була використана при розробці комп'ютерної системи PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances), що прогнозує за структурною формулою хімічної речовини велику кількість видів біологічної дії.

В системі PASS біологічна активність характеризується якісним чином (наявність/відсутність), що зумовлює використання інформації з різних джерел при формуванні навчальної вибірки. Підхід PASS базується на зв'язку «структура – активність». Таким чином, «порівнюючи» структуру нової речовини зі структурою вже відомих біологічно активних речовин, можна з'ясувати, чи має нова речовина ту чи іншу дію. Для представлення хімічної структури в PASS були представлені дескриптори, що названі «багаторівневі околиці атомів» (Multilevel Neighbourhoods of Atoms, MNA). MNA дескриптори мають комплексну дію і з досить високою точністю характеризують різноманітні залежності «структура – властивість» [69, 70]. Дескриптори MNA спрощують представлення структури таким чином, що не визначають типи зв'язків, але включають атоми водню відповідно до валентності та часткового заряду атомів. Даний алгоритм дає можливість одержати стійкі у статистичному змісті залежності «структура – активність» і відповідно результати прогнозу.

Результат порівнюється із відомими експериментальними даними. Біологічна активність є результатом взаємодії хімічної сполуки з біологічним об'єктом. У клінічному дослідженні біологічний об'єкт представлений організмом людини. У доклінічних випробуваннях це піддослідні тварини (*in vivo*) та експериментальні моделі (*in vitro*). Біологічна дія залежить від особливостей сполуки (структура та фізико-хімічні властивості), біологічного об'єкта (вид, стать, вік тощо), способу лікування (доза, шлях тощо). Кожна БАР має широкий спектр різних ефектів. Деякі з них корисні при лікуванні певних захворювань, а інші викликають різні сторонні (токсичні) ефекти. Загальний комплекс дій, викликаних сполукою у біологічних утвореннях, можна назвати «спектром біологічної активності речовини».

Спектр біологічної активності повинен представляти кожен активність сполуки, незважаючи на відмінності в істотних умовах їх експериментального визначення. З іншого боку, досить великий набір речовин можна зібрати лише за допомогою багатьох різних джерел, оскільки інформація, взята з унікальної публікації, ніколи не охоплює всіх аспектів біологічної дії описуваної речовини. Таким чином, «спектр біологічної активності» можна визначити як «внутрішню» властивість сполуки залежно лише від її структури та фізико-хімічних характеристик, і може бути ідентифікований лише якісно [71].

Порівняння комп'ютерного передбачення біологічної активності з оцінками фахівців (експертів в області фармакології та медичної хімії) показало, що комп'ютерна система забезпечує більш ніж у 3 рази точніший прогноз. При використанні програми PASS для регулярного прогнозу біологічної активності речовин, має економічно рентабельний характер. Також, середня точність передбачення канцерогенності і мутагенності досить висока, це забезпечує «фільтрування» речовин, які потенційно можуть володіти цими небезпечними видами активності, на ранніх стадіях дослідження [72].

Комп'ютерний прогноз можна застосовувати як до речовин, які отримані традиційними методами органічного синтезу, так і з застосуванням комбінаторної хімії [73]. Спираючись на те, що прогноз здійснюється за структурною формулою речовини, він може бути отриманий уже на стадії планування досліджень.

GUSAR – програмне забезпечення для побудови достовірних QSAR моделей на основі програмного ядра, яке складається з унікального алгоритму самоузгодженої регресії, що дозволяє вибирати оптимальний набір дескрипторів. Для репрезентації молекулярної структури використовуються дескриптори багаторівневих атомних околиць MNA (Multilevel Neighborhood of Atoms), які найкраще підходять для прогнозування біотрансформації сполук, та кількісні дескриптори атомних околиць QNA (Quantitative Neighbourhoods of Atoms) [74].

Програма має режим масової побудови моделей як з використанням QNA, так й MNA дескрипторів, результатом чого є консенсус прогнозування певної

активності. Програма є комерційною, для безкоштовного використання доступна лише пробна версія.

В доекспериментальному відборі хімічних речовин фундаментальну роль відіграють методи SAR аналізу, що встановлюють відповідні правила залежності особливостей хімічної структури від її активності. Так, на сьогодні широке застосування знайшло «правило Ліпінські», яке встановлює межі фізико-хімічних властивостей речовин (за показниками ліпофільності $\log P$, молекулярної рефракції MR , молекулярної маси M_r тощо), що забезпечать їх біодоступність [75].

Система методів надійного передбачення біологічних видів активності для різних видів органічних сполук має загальну назву «кількісне співвідношення структура – активність» (англійською мовою «Quantitive Structure – Activity Relationship» або «QSAR»). Дана система методів є багатопрофільною та включає у себе різні підходи, в першу чергу фізики, математики, медичної та квантової хімії [76].

Метод QSAR, маючи в розпорядженні певну кількість хімічних сполук з відомою активністю, дозволяє передбачити необхідну структуру, або вказати напрямок для її модифікації, і тим самим значно обмежити коло пошуку. Для вивчення взаємозв'язку структури і активності використовують різні підходи, які відрізняються в основному за методом виявлення закономірності і способом представлення інформації про структуру сполуки. Загальні передумови аналізу «структура – активність» можна формулювати наступним чином: має місце об'єктивний зв'язок між структурою речовини та її біологічною активністю – деяка функція, що пов'язує активність із структурою; отримана функція може бути екстрапольована на нові сполуки; структури сполук можна повністю описати за допомогою прийнятих мов структурного опису [77].

TEST (Toxicity Estimation Software Tool) – програмне забезпечення розроблене науковою групою Агентства США з охорони навколишнього середовища (US EPA) та являє собою програмний комплекс, який складається з:

а) вбудованих у програму QSAR моделей для прогнозування токсичності, QSPR моделей для прогнозування фізико-хімічних властивостей;

б) автоматизованого (без можливості налаштування користувачем) алгоритму побудови QSAR моделей за допомогою декількох статистичних підходів та вбудованих баз даних з достовірною інформацією про деякі фізико-хімічні властивості та токсикологічні характеристики декількох тисяч органічних сполук [78].

У даному програмному засобі реалізовані такі алгоритми для побудови математичних моделей та розрахунку прогнозованих величин, як дискримінантний аналіз Фішера (Fisher Discriminant Analysis), ієрархічний метод, метод однієї моделі, заснований на генетичному алгоритмі, адитивний метод (Group Contribution Method), метод найближчого сусіда, метод «випадкового лісу» (Random Forest Method), консенсус прогнозування – усереднене значення результатів, отриманих усіма наведеними методами [79].

Молекулярний докінг є одним з найбільш часто використовуваних методів у конструюванні лікувальних препаратів за особливостями їх просторової будови (structure-based drug design), завдяки своїй здатності передбачувати зв'язування – конформації – невеликих молекул лігандів до відповідних сайтів зв'язування мішені. Характеристика особливостей такого зв'язування відіграє важливу роль у раціональній конструкції лікарських препаратів, а також для визначення механізмів біохімічних процесів [80].

Молекулярний докінг використовують для передбачення найбільш ймовірних просторових орієнтацій однієї молекули до іншої, коли вони зв'язуються одна з одною (стикуються) з утворенням стабільного комплексу.

Суть докінгу полягає у використанні методів молекулярної та квантової механіки для пошуку можливих просторових конформацій досліджуваних сполук при їх зв'язуванні з обраною мішенню, найчастіше – ензимами [81].

Асоціації між біологічно активними молекулами, такими як білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи, ліпіди, виконують провідну роль в трансдукції сигналів. Крім того, відносна орієнтація двох взаємодіючих комплементарних

сполук може вплинути на тип створеного кінцевого сигналу (наприклад, прояв ефектів агонізму або антагонізму). Тому докінг є корисним як для прогнозування міцності зв'язування, так й для визначення типу сигналу, який формується [82].

Для вивчення міжмолекулярної взаємодії між 2 молекулами (рецептор білка (макромолекула), який діє як інгібітор та ліганд), *in silico* методом потрібно пройти наступні етапи процесу стикування:

1. Підготовка ензиму та ліганду: з банку даних структурної біоінформатики (PDB), завантажити 3D-структуру білка. Після цього завантажену структуру слід попередньо обробити: вивільнити молекули води, стабілізувати заряд, додати відсутні амінокислотні залишки, додати утворення бічних ланцюгів атома водню [83].

2. Підготовка лігандів: власноруч створити набір речовин або за допомогою різних баз даних, таких як ZINC, можна завантажити молекулу Pub Chem Ligands. Її можна намалювати в інструменті ескізу Chem Draw та зберегти у форматі mol. До кожного ліганду повинно бути застосоване правило Ліпінського. Правило використовується для подібних і відмінних від ліків молекул. Це збільшує ймовірність успіху для молекул і знижує ймовірність невдач через схожість властивостей з ліками [83].

3. Генерування сітки (GridBox): процедура побудови проводиться у відповідному програмному модулі Glide receptor grid generator. Генерація сітки області докінгу може проводитися за координатами, вказаними вручну, або за даними ліганда в структурі мішені. В останньому варіанті ліганд видаляється зі структури білка. Якщо лігандів кілька, зайві необхідно видалити або виключити.

4. Стикування: аналізується взаємодія ліганду та ензиму. При цьому варто звертати увагу на те, наскільки стабільне укладання лігандів в активному сайті. Таким чином, можна підібрати кілька варіантів укладання структур і оцінити показники скоринг-функції для них і таким чином визначити кращу серед них. Підсумком даної операції є список структур з оптимальними показниками прогнозованої спорідненості до досліджуваної мішені [83].

Таким чином, комп'ютерний скринінг дозволяє робити математично обґрунтований прогноз біологічної дії досліджуваних структур. Саме тому зараз він є невід'ємною частиною процесу дослідження БА хімічних сполук. Останнім часом створено ряд алгоритмів, що дає можливість ефективно прогнозувати різну біологічну дію органічних сполук.

За результатами роботи із вивчення БА опубліковано наступні роботи [58, 84, 85, 86, 87].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досягнення мети даної роботи, що полягає у цілеспрямованому пошуку біологічно активних речовин на основі 2(4)-гідразинопохідних хіноліну, базується на визначенні БА даного ряду сполук та виявленні перспективних речовин для подальших біологічних досліджень.

2.1 Матеріали, що використовувалися у роботі

Сполуки, що вивчалися. Вивчали фізико-хімічні та біологічні властивості 2(4)-гідразинопохідних хіноліну. Структура досліджуваних речовин представлена в додатку А на рис. 2.1 та у таблицях 3.3, 3.4.



Рисунок 2.1 – Структура 2(4)-гідразинопохідних хіноліну

Мікроорганізми. АБА досліджуваних ПХ визначали щодо трьох грамнегативних бактерій; *E. coli* ATCC 25922 (Колекція американського типу культур), штам *E. coli* CRBR (клінічний ізолят гемолітичної кишкової палички резистентний до Карбеніциліну) і штам MDR *E. coli* (Ампіцилін, Цефтазидим, Офлоксацин, Канаміцин, Цефтриаксон резистентний) та два грампозитивні штами бактерії: *S. aureus* ATCC 25923 та *S. aureus* AMPR (клінічний ізолят резистентний до Ампіциліну), отримані з Музею колекцій мікробної культури Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика.

Насіння рослин. Цитотоксичну дію вивчали на насінні огірків сорту «Конкурент».

Тварини. Дослідження проводили на білих безпородних мишах вагою 16 – 24 г, які отримали з розплідника Інституту фармакології та токсикології Національної академії медичних наук України (м. Київ). Тварин утримували на стандартному раціоні віварію [88].

Утримання та роботу з тваринами проводили відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна) [89, 90], Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» [91], наказу МОЗ України № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» [92] та наказу МОН України № 249 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» [93], які узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших дослідних цілях» (Страсбург, Франція, 1985) [94]. Отримано позитивний висновок комісії з біоетики біологічного факультету «Запорізький національний університет» МОН України (протокол № 5 від 29 жовтня 2024 р., голова комісії — доктор біологічних наук, доцент В. В. Копійка).

2.2. Фізико-хімічні методи аналізу

ІЧ-спектри записували на спектрометрі Vertex-70 (виробництва Bruker, Німеччина) з таблеток KBr.

Сpektри ЯМР ^1H (400 МГц) і ^{13}C (126 МГц) були записані на спектрометрі Avance DRX 500 (виробництва Bruker, Німеччина) в DMSO-d_6 , беручи за стандарт сигнал залишкових протонів.

Хромато-мас-спектри записували за допомогою системи рідинної хромато-мас-спектрометрії серії Agilent 1100 (виробництва Agilent Technologies, США), оснащеної діодною матрицею та мас-селективним детектором Agilent LC\MSD SL (виробництва Agilent Technologies, США). Параметри хромато-мас-

спектрального аналізу: колонка Zorbax SB-C18, 1,8 мкм, 4,6×15 мм; розчинники: А, MeCN–H₂O, 95:5, 0,1% CF₃COOH; В (див. додаток Б).

2.3 Методи комп'ютерного прогнозування біологічної активності сполук

2.3.1 PASS прогнозування біологічної активності

Використовуючи комп'ютерну програму PASS було здійснено віртуальний скринінг у ряду 2(4)-гідразинопохідних хіноліну для подальшого створення комбінаторної бібліотеки та проведення цілеспрямованого пошуку.

Біологічну активність в цьому випадку аналізували як внутрішню характеристику речовини, яка змінюється разом зі структурою речовини. Кожну «ланку» спектру біодії певної речовини можна виявити при відомих умовах експерименту. «Ланки» відрізняються для різних видів біодії, а їх кількість суттєво залежить від конкретних умов експерименту [95].

Базуючись на такій концепції, групою Європейських країн, була розроблена система комп'ютерного скринінгу PASS. Програма передбачає понад 4000 видів біологічної активності одночасно. Сюди входять первинні та вторинні фармакологічні ефекти, механізми впливу, мутагенний, канцерогенний, тератогенний та ембріотоксичний ефекти.

Прогноз базується на аналізі SAR тренувального набору, що містить понад 260 000 сполук, які демонструють понад 500 видів біологічної активності. Основні елементи PASS включають демонстрацію біологічної активності, опис хімічних структур, дані про взаємозв'язок «структура – активність» і базу знань (база SAR), а також алгоритм оцінки спектрів активності [96].

Принцип роботи програми PASS ґрунтується на основі аналізу структурних описів багаторівневих атомних орбіталей. Перелік дескрипторів створюється на основі структурної формули, яка є списком атомів, що утворюють молекулу, і списком зв'язків між ними для кожної хімічної сполуки.

Структурний опис хімічних сполук у PASS-системі базується на двовимірних структурних формулах речовин, які можна імпортувати в комп'ютер при використанні редактора структурних формул *ChemDraw* від *CambridgeSoft Corporation*. При цьому стандартне подання інформації в комп'ютер для молекули – використовується формат «mol», а для вибірки речовин – «sdf» файли. Результати прогнозу виводиться у вигляді списку назв активності з розрахунковими значеннями ймовірності наявності (Pa) та відсутності (Pi) кожного виду активності. Середня точність передбачення для всіх зв'язків у навчальній вибірці та всіх передбачених типів активності становить приблизно 95%.

У випадку прогнозування певного виду БА з ймовірністю $P_a > 0,7$ – скоріше всього, ця сполука продемонструє цей вид БА в експерименті, проте, є велика ймовірність того, що речовина є прототипом вже відомого лікарського препарату.

При прогнозованій активності з ймовірністю $0,5 < P_a < 0,7$ – сполука проявить цей вид біологічної дії в експерименті, але речовина буде мати меншу схожість з відомими лікарськими препаратами.

Прогнозована активність з ймовірністю $P_a < 0,5$ – мала ймовірність що ця речовина виявить цей вид БА в експерименті, але, при експериментальному підтвердженні такої БА, дана речовина може стати іноваційно-фундаментальною структурою [97].

Щоб розширити можливості застосування програми PASS реалізована здатність передбачати спектр біологічної дії речовин через мережу Інтернет. За допомогою стандартних браузерів Opera чи Google Chrome, користувач може завантажити на сайт структурну формулу речовини, представлену у вигляді SMILES, mol-файлу або намалювати структуру сполуки у вбудованому редакторі і автоматично отримати на дисплеї свого ПК передбачення найбільш ймовірних видів біологічної активності для даної сполуки.

2.3.2 QSAR моделювання

2.3.2.1 Формування бази даних 2(4)-гідразинопохідних хіноліну

Проведений аналіз численних публікацій про антимікробну активність похідних гідразинохіноліну за показниками МІК (мінімальна інгібуюча концентрація) отримали з бази даних OCHEM (Німеччина) у форматі Microsoft Excel. Дані для аналізу включали 721 сполуку, активні проти штаму *S. aureus* ATCC 25923 [98]. Значення МІС коливалися від 0.295 до 11330 μm . Значення $\log(1/\text{MIC})$ були використані для розробки регресійних моделей. 20% сполук з початкового набору даних були випадково обрані за допомогою веб-платформи OCHEM, щоб сформувати зовнішній незалежний тестовий набір, в той час як решта молекул були використані як тренувальний набір.

2.3.2.2 Методи машинного навчання

QSAR аналіз сформувався як самостійний та досить широкомаштабний метод пошуку математичних залежностей між БА та параметрами структури, і має складну структуру, широкий арсенал підходів та прийомів та власну ієрархію методологій.

Моделі QSAR були створені за допомогою двох методів машинного навчання, включаючи Transformer Convolutional Neural Network (CNN) [99] і Transformer Convolutional Neural Fingerprint (CNF) [100]. Оптимізовані параметри були використані для кожного методу машинного навчання, що надається платформою OCHEM.

Transformer Convolutional Neural Network (TRANS-CNN). Вся молекула у форматі SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System) служить входом до TRANS-CNN. Формат SMILES дозволяє писати будь-яку складну формулу органічної сполуки в рядок, що полегшує зберігання і отримання інформації про молекули в базах даних. Метод TRANS-CNN використовує SMILES-аугментацію для навчання та припущення, таким чином, прогноз заснований на

внутрішньому консенсусі. Те, що аугментація і трансферне навчання засноване на вбудовуванні, дозволяє методу забезпечити гарні результати для малих наборів даних [94]. Нейронна мережа вимагає кілька десятків ітерацій для сходження нових задач. Цільове значення прогнозується TRANS-CNN в середньому за індивідуальним прогнозом на серію аугментованих SMILES, що належать до однієї і тієї ж молекули. Відхилення в межах серії може служити мірою довірчого інтервалу прогнозу, тоді як можливість канонізації SMILES може бути застосована для отримання областей застосування моделей [101].

Transformer Convolutional Neural Fingerprint (Trans-CNF). Trans-CNF схожий на Trans-CNN, однак він використовує згортковий нейронний відбиток для обробки прихованого представлення нейронної мережі. Відбитки пальців – це числові масиви з n елементів (бітів), де n коливається від 16 до 1024 залежно від типу відбитка пальця. У цій нейронній мережі також використовується техніка аугментації, яка вперше була запропонована у комп'ютерному баченні, а зараз дуже часто використовується в дослідженнях QSAR [95, 102].

Для оцінки точності та надійності моделей QSAR використовували п'ятикратний метод перехресної перевірки. Крім того, ми також використовували тестовий набір для подальшого підтвердження якості розроблених моделей [103].

Для оцінки якості відповідності ми використовували два критерії: квадрат коефіцієнта кореляції R^2 і коефіцієнт детермінації q^2 . Крім того, ми використовували статистику середньої абсолютної помилки (MAE) для оцінки похибок у прогнозі [104].

OSCHEM також підтримує оцінку області застосування [105] розроблених моделей машинного навчання та точності передбачень. Детальний опис методів машинного навчання, статистичних коефіцієнтів та детальних процедур перевірки надано в посібнику OSCHEM [106].

2.3.3 Молекулярний докінг

Молекулярний докінг – це метод конструювання лікарського засобу, який імітує молекулярну взаємодію та прогнозує режим зв'язування та спорідненість між рецепторами та лігандами. В останні роки ця технологія широко використовується в галузі досліджень дизайну ліків. Використання бази даних сполук для перевірки потенційних фармакофорів не тільки зручно дослідникам для синтезу та завершення подальших фармакологічних тестів, але це також значно покращує ефективність та зменшує вартість досліджень [107].

Питання дизайну ліків може бути належним чином вирішено за допомогою молекулярного стикування. Успішний докінг вимагає виконання двох умов: (1) створення набору конформацій, який надійно включає, принаймні, одну «достовірну»; (2) надійно відрізняє «достовірні» конформації від інших [108].

Кристалічну структуру дигідрофолатредуктази (ДГФР) *S. aureus* (код PDB - 6P9Z) [109] та *E. coli* (код PDB - 1RG7) [110] отримано з банку даних RCSB Protein Data Bank. Для підготовки протеїнів було використано AutoDock Tools (ADT) (версія 1.5.6) [111], а створений файл зберегли у PDBQT форматі. Для створення і оптимізації структур ліганду, а також їх збереження у форматі Mol2 використали програму ChemAxon Marvin Sketch 5.3.735 [112]. Оптимізацію та мінімізацію енергії структури лігандів здійснено за допомогою програми Avogadro v1.2.0 [113], з використанням «Інструменту автоматичної оптимізації» шляхом застосування силового поля MMFF94s з алгоритмом найшвидшого спуску [114]. Часткові заряди протеїнів та лігандів було обчислено методом Гастейгера за допомогою AutoDock Tools, а їх структури збережено у форматі PDBQT. Для молекулярного моделювання використана програма AutoDock Vina (версія 1.1.2) [115]. Ліганд метотрексат було задано як центр простору вимірювання при цьому використовували простір для вимірювання (30 * 30 * 30 балів) з проміжком сітки 0,1 Å. Візуалізацію результатів і аналіз ліганд-протеїнових комплексів здійснено за допомогою Accelrys DS [116].

Повторний докінг використовували для підтвердження молекулярного докінгу метотрексату в активних центрах DHFR. Отримані комплекси ліганд-білок продемонстрували розраховану енергію зв'язування -9,0 ккал/моль і -8,7 ккал/моль. Значення RMSD для всіх атомів було менше 2,0 Å.

2.4 Методика вивчення антимікробної активності

Антибактеріальну активність 2(4)-гідразинопхідних хіноліну оцінювали щодо трьох грамнегативних бактерій; *E. coli* ATCC 25922 (Колекція американського типу культур), штам *E. coli* CRBR (клінічний ізолят гемолітичної кишкової палички резистентний до Карбеніциліну) і штам MDR *E. coli* (Ампіцилін, Цефтазидим, Офлоксацин, Канаміцин, Цефтриаксон резистентний) та два грампозитивні штами бактерії: *S. aureus* ATCC 25923 та *S. aureus* AMPR (клінічний ізолят резистентний до Ампіциліну), отримані з Музею колекцій мікробної культури Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика.

АБ властивості 2(4)-гідразинопхідних хіноліну перевіряли методом дискової дифузії в агарі Мюллера-Хінтона [117]. Кінцева концентрація інокуляту, приготованого з використанням бактеріальної суспензії досліджуваних штамів у 0,9%-ому NaCl, становила 1×10^5 колонієутворюючих одиниць на мл, що було встановлено за стандартом каламутності 0,5 Макфарланда. Наступне розведення 0,02 мл досліджуваних сполук наносили на стандартні паперові диски (6 мм), які поміщали на агарову поверхню. Чашки Петрі інкубували протягом 24 годин при 37 °C. Випробування повторювали тричі. Активність досліджуваних сполук визначали шляхом вимірювання діаметра зони пригнічення росту, що вказує на ступінь чутливості або резистентності досліджуваних бактерій до досліджуваних сполук. Зони інгібування вимірювали лінійкою в міліметрах.

Усі сполуки розчиняли в 0,1 % розчині диметилсульфоксиду (ДМСО). Вміст сполуки на диску становив 5,0 мкМ. Досліджувані бактеріальні культури не були чутливі до розчинника ДМСО, який використовувався як негативний контроль в експерименті.

2.5 Методика визначення впливу сполук на поділ та ріст рослинних клітин (рістстимулювальна/цитотоксична дія)

Дослідження цитотоксичної активності синтезованих сполук проводили за допомогою кореневого тесту на проростках *Cucumis sativus* L. (використовували огірки сорту «Конкурент»). Розчини сполук тестували при концентрації 1, 5, 20, 100, 500 мкг/мл, додавали їх у чашки Петрі з бинтом на дні в кількості 10 мл та розміщували на бинті по 20 насінин. Для достовірності даних кожна концентрація та контрольний експеримент (дистильована вода) досліджувались в трьох повторях. Експеримент проводили при 30 °С протягом 72 годин без доступу світла. Після завершення інкубації проводили виміри наступних параметрів: довжина гіпокотилія, довжина головного кореня, довжина зони росту бічних коренів та кількість бічних коренів. Дослід, по можливості, проводили при створенні рівних умов для всіх досліджуваних елементів. Оцінку цитотоксичної (рістстимулювальної) активності сполук здійснювали за зменшенням (збільшенням) зазначених параметрів у досліді порівняно з контролем. За IC₅₀ приймали концентрацію, що призводить до 50 % інгібування росту паростків *Cucumis* sp [118]. Токсичну та рістстимулювальну активність визначали за показниками макроскопічних параметрів пророслих коренів. Препаратами для порівняння рістстимулювальної здатності були вже відомі стимулятори росту – Епін (епібрассінолід) [119] та Гіберелін [120]. Також похідні гідразинохінолінів порівнювали з речовинами з інших класів хіноліну (7-R-4-тіозаміщені хіноліну), що містять у своєму фрагменті залишки карбонових кислот [121].

2.6 Дослідження гострої токсичності

Встановлення взаємозв'язку між хімічною будовою сполук і характером прояву їх біологічної активності є основою цілеспрямованого пошуку нових хімічних речовин із заданим комплексом біологічної дії.

Гостру токсичність речовин оцінювали віртуально (*in silico*) та експериментально – на тваринах. *In silico* прогнозування значень середньолетальних доз (LD₅₀) за чотирма типами введення (пероральний, внутрішньовенний (в/в), внутрішньоочеревний (в/о), підшкірний) було виконано за допомогою програмного забезпечення GUSAR (General Unrestricted Structure – Activity Relationships). GUSAR містить інформацію про приблизно 10 000 хімічних структур включаючи дані про гостру токсичність.

Експериментальне дослідження гострої токсичності проведено *in vivo* на білих безпородних мишах обох статей масою 16 – 24 г. Тварини харчувались за стандартним раціоном віварію. Досліджувані сполуки у вигляді водної суспензії на фізіологічному розчині (стабілізатор Твін 80), вводили тваринам в/о, об'єм розчину досліджуваної сполуки не перевищував 1 мл (об'єм введеної суспензії залежить від маси тіла піддослідної тварини) [122].

Кількість речовини, що водиться, розраховували за формулою 2.1:

$$m(\text{сполуки}) = \frac{(M_{\text{ТВ}} \times D_x)}{1000}, \quad (2.1)$$

де $M_{\text{ТВ}}$ – вага дослідної тварини, г; D_x – доза, яка вводиться тварині, мг/кг.

Контрольній групі тварин вводили фізіологічний розчин із Твіном 80 в тому ж об'ємі, що і піддослідним групам тварин. Досліджували чотири групи тварин, кожна група складалась з 2-х тварин. Спостереження за тваринами проводили протягом 2-х діб після одноразового введення речовин. Протягом цього періоду спостерігали за поведінкою тварин, нервовою збудливістю, станом

їхньої шкіри та слизових оболонок, кількістю живих і мертвих тварин. Раховували кількість живих і мертвих тварин у кожній групі. ЛД₅₀ визначали за методом В. Б. Прозоровського [123].

2.7 Методика дослідження антирадикальної та антиоксидантної активності 2(4)-гідразинопохідних хіноліну *in vitro*

АОА синтезованих сполук при ініціюванні вільнорадикальних процесів оцінено у дослідях *in vitro* при використанні ряду методів. Використані методи відрізняються високою специфічністю, не вимагає великих фінансових вкладень на реактиви та пристрої, дають можливість вилучити з модельної системи сторонні фактори, що можуть здійснювати вплив на ВР процес, дозволяють кількісно оцінити АО дію досліджуваних речовин та одночасно здійснити скринінг великої вибірки сполук [124].

Дослідження проводили при використанні методів оцінки АО дії сполук (три повтори), що відрізнялися за механізмом ініціювання вільнорадикальних процесів, субстратів окиснення й маркерних продуктів, що визначалися [125].

- оцінка АОА (АРА) за інгібуванням СОД;
- оцінка АОА (АРА) за інгібуванням NO•;
- оцінка АОА на моделі неферментативного ініціювання вільнорадикального окиснення;

2.7.1 Дослідження антирадикальної активності на моделі аутоокиснення адреналіну

З літератури [126, 127] відомо, що при неферментативній реакції аутоокиснення адреналіну ($\lambda_{\max} = 270$ нм в 0,01 М НСl) утворюється адренохром – продукт окиснення ($\lambda_{\max} = 484$ нм при рН = 10,2), та накопичується вільний аніон-радикал кисню O₂. Інгібування появи цього продукту окиснення здійснюється за допомогою супероксиддисмутази (СОД) та цистеїну.

Досліджували властивість речовин інгібувати процес аутоокиснення адреналіну з перетворенням в адренохром у водному середовищі.

2 мл 0,05 М натрій-карбонатного буферу (pH 10,2) вносили до кювети спектрофотометра (довжина оптичного шляху = 10 мм). У дослідну пробу додавали розчин досліджуваної сполуки об'ємом 0,1 мл (кінцева концентрація 25 мкМ) у контрольну – 0,1 мл розчинника досліджуваної сполуки. Також в кювету додавали 0,4 мл 0,01 М адреналіну солянокислого (початок реакції). Реакцію проводили протягом 5 хв при температурі 36 °С [69]. Концентрація речовини в розчині складала 25 мкмоль/л. Як препарат порівняння використовували Цистеїн [128] (рис. 2.2).

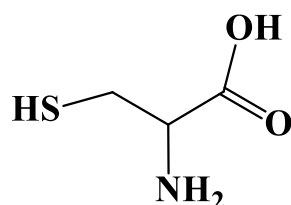


Рисунок 2.2 – Структура Цистеїну

АО дію досліджуваних сполук визначали спектрофотометрично за ступенем інгібування аутоокиснення адреналіну в адренохром при довжині хвилі 484 нм і виражали у відсотках (%) за формулою 2.2:

$$AOA = \frac{(D_k - D_d)}{D_k} \times 100\%, \quad (2.2)$$

де D_k – оптична густина контролю (демонструє швидкість неінгібованого аутоокиснення адреналіну); D_d – оптична густина досліджуваної речовини (демонструє швидкість інгібованого аутоокиснення адреналіну) [129].

2.7.2 Дослідження антиоксидантної активності на моделі інгібування NO-радикалу

Опромінюючи водні розчини натрію нітропрусиду (0,6 %) і аскорбінової кислоти (0,08 %) світлом від джерела світла потужністю 300 Вт, довжина хвилі = 425 нм, здійснювали індукцію радикалу NO•. Умови опромінення наступні: час опромінення – 30 хв, температура – 20 °С, кварцова кювета, довжина оптичного шляху = 10 мм. До кювети додавали 0,01 мл розчину натрій нітропрусиду, 0,01 мл розчину АК, 0,1 мл розчину досліджуваної речовин (10^{-6} М) та 3 мл дистильованої води. Показник впливу на утворення NO•-радикалу спостерігали за інгібуванням окиснення аскорбінової кислоти, фіксуючи оптичну густину розчинів при 265 нм. АО дію виражали у відсотках гальмування окиснення аскорбату і обчислювали за формулою 2.3:

$$AOA = \frac{(D_x - D_d)}{D_x} \times 100\%, \quad (2.3)$$

D_x і D_d – оптична густина розчину без досліджуваних речовин і з ними, відповідно [121, 130, 131].

Препаратами порівняння слугували Ацетилцистеїн (АЦЦ) та Тіотриазолін (ТТЗ) (рис. 2.3).

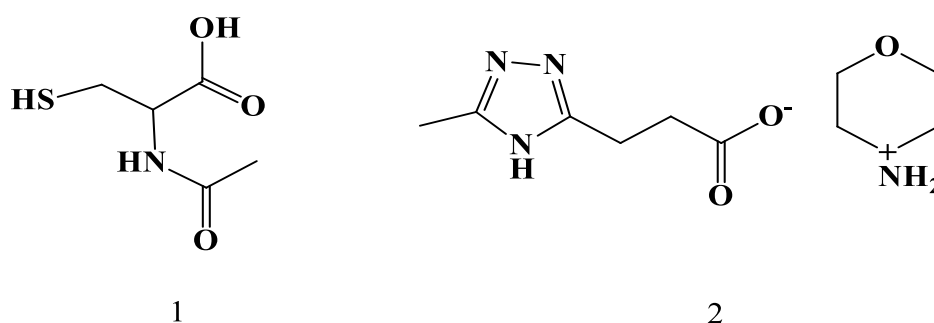


Рисунок 2.3 – Структури АЦЦ (1) та ТТЗ (2)

2.7.3 Метод оцінки антиоксидантної активності на моделі неферментативного ініціювання вільнорадикального окиснення

Даний метод базується на оцінці впливу БАР (ФАР) на ВР окиснення ліпідів, яке створювали іонами Fe^{2+} з фосфоліпідів курячого яйця, що моделює процес неферментативної перекисидації ліпідів [122, 132]. За цією методикою можна робити оцінку активності БАР як «пасток» радикалів, що розчиняються у ліпідах.

АОА сполук досліджували *in vitro* методом неферментного ініціювання вільнорадикального окиснення. Суспензію яєчних ліпопротеїдів (СЯЛ) використовували в якості субстрату та готували шляхом гомогенізації яєчного жовтка з фосфатним буфером (pH=7,4).

До 4 мл суспензії яєчних ліпопротеїдів додавали 0,5 мл досліджуваної сполуки в концентрації 10^{-6} моль/л, 1 мл 10% розчину ферум (II) сульфату. Суміш перемішували і витримували 1 годину при 37 °С в термостаті. До 1 мл суміші додавали 1 мл 20% розчину трихлоретанової кислоти і обертали в центрифугі 15 хв при 3000 об/хв. Супернатант змішували з 1 мл 0,8 % розчином тіобарбітурової кислоти і поміщали на 1 годину в парову баню, після чого додавали 4 мл бутанолу-1 і обертали в центрифугі 15 хв при 3000 об/хв. Відбирали 2 мл верхнього бутанольного шару і вимірювали його оптичну густину при довжині хвилі 532 нм. Аналогічно готували контрольну пробу, але без додавання досліджуваних сполук [133].

Ефективність генерації ВР оцінювали шляхом порівняння дослідних зразків із зразками, у яких відсутня генерація вільних радикалів (активні вільнорадикалоутворюючі компоненти не додавали до цитозольної фракції). Обрахування АОА проводили за формулою 2.4. Еталонами порівняння були відомі референс-антиоксиданти – Цистеїн (рис. 2.2) та Іонол (дибунол) (рис. 2.4).

$$\text{АОА} = \frac{(E_{\text{к}} - E_{\text{д}})}{E_{\text{к}}} \times 100\%, \quad (2.4)$$

де E_k – оптична густина контрольної проби; E_d – оптична густина досліджуваних проб.

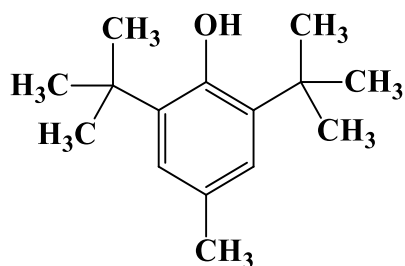


Рисунок 2.4 – Структура Іонолу (Дибутолу)

2.8 Оцінка ступеню захисту сперматозоїдів чоловіків від H_2O_2 -індукованого окиснювального стресу *in vitro*

Дослідження проводили відповідно до національного етичного стандарту – Наказу МОЗ № 690 «Про затвердження Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і Типового положення про комісії з питань етики» [134] який узгоджуються з положеннями Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження» [135].

Для проведення дослідження використовували нативний матеріал – еякуляти фертильних чоловіків (нормозооспермія).

Для цього попередньо проводили оцінку показників стандартної спермограми за загальноприйнятими методиками відповідно до критеріїв ВООЗ [136, 137]. Вимірювання проводили за допомогою аналізатора фертильності сперми «АФС-500-2», виробництва «НПФ Біола». Обраний еякулят аліквотували по 100 мкл, аліквоти нумерували та окремо, по черзі, додавали:

До першої – інтакт – фізіологічний розчин ($V = 10$ мкл);

До другої – аскорбінову кислоту (АК) ($C = 10^{-6}M$, $V = 10$ мкл);

До 3-ої – АЦЦ ($C = 10^{-6}M$, $V = 10$ мкл);

До 4-ої – досліджувану речовину (похідна хіноліну) ($C = 10^{-6}M$, $V = 10$ мкл);

До 5-ої – фізіологічний розчин ($V = 10$ мкл), потім перекис водню ($C = 200 \times 10^{-6}M$, $V = 0,5$ мкл) – контроль;

До 6-ої – перекис водню в концентрації ($C = 200 \times 10^{-6}M$, $V = 0,5$ мкл), потім АК ($C = 10^{-6}M$, $V = 10$ мкл);

До 7-ої – перекис водню в концентрації ($C = 200 \times 10^{-6}M$, $V = 0,5$ мкл), потім АЦЦ ($C = 10^{-6}M$, $V = 10$ мкл);

До 8-ої – перекис водню ($C = 200 \times 10^{-6}M$, $V = 0,5$ мкл), потім досліджувану речовину ($C = 10^{-6}M$, $V = 10$ мкл).

Отримані зразки інкубували при $37\text{ }^{\circ}C$ протягом 2 годин. Відразу після інкубації досліджували критерії якості сперматозоїдів: концентрацію та середню швидкість.

Показники, що визначали:

- концентрація функціональних сперматозоїдів;
- середня швидкість (A+B) рухомих сперматозоїдів.

2.9 Фагоцитарна активність у дослідях *in vitro*

Метод базується на фагоцитозі часток дріжджів нейтрофілами, які візуалізуються у цитоплазмі клітин у вигляді гранул синього кольору [130].

Мета дослідження – оцінка впливу 2(4)-похідні хіноліну на поглинальну функцію нейтрофілів периферичної крові, що здатні до фагоцитозу *in vitro*. Досліджували цільну кров здорової людини (попередньо проводили оцінку показників імунограми за класичною методикою), яка стабілізована Лі-Гепарином у концентрації 17МЕ на 1 мл крові. Кров аліквотували по 100 мкл, аліквоти нумерували та окремо по черзі додавали:

10 мкл фізіологічного розчину (контроль) – до першої;

10 мкл досліджуваної речовини в концентрації $10^{-6}M$ – до наступних.

До отриманих зразків додавали 50 мкл робочого розчину дріжджів, інкубували при 37 °С протягом 2 годин. Одразу після інкубації з кожного досліджуваного зразка робили мазки крові. Мазки фарбували за Паппенгеймом (комбіноване фарбування за Май-Грюнвальдом та Романовським-Гімза). Оцінку результатів проводили шляхом мікроскопіювання під імерсійним об'єктивом (x100) з біокуляром x10. Підрахунок проводили на 200 нейтрофілів і визначали відсоток тих клітин, які містять у своїй цитоплазмі поглинуті часточки (вкраплення синього кольору) [138].

Вираховували показники, які характеризують стан фагоцитозу:

Фагоцитарний показник (ФП) – відсоток нейтрофілів, що приймали участь у фагоцитозі розраховували за формулою 2.5.

$$\text{ФП} = \frac{\text{кількість клітин з включеннями дріжджів}}{\text{загальна кількість підрахованих клітин}} \times 100\%, \quad (2.5)$$

Фагоцитарне число (ФЧ) характеризує поглинальну здатність нейтрофілів – це середня кількість дріжджів, захоплених одним нейтрофілом крові [138]. ФЧ розраховували за формулою 2.6.

$$\text{ФЧ} = \frac{\text{сумарна кількість дріжджів у клітинах}}{\text{кількість клітин з включеннями дріжджів}}, \quad (2.6)$$

2.10 Статистична обробка результатів досліджень

За допомогою методів варіаційного аналізу здійснено статистичну обробку результатів досліджень. Обчислення включали середнє арифметичне значення кожного з показників (М) та похибку середньоквадратичного відхилення досліджених речовин (s). Т-критерій Ст'юдента дав можливість визначити відмінності між середніми величинами. Коли ймовірність випадковості у відмінності між показниками не перевищувала 0,05 ($p < 0,05$) відхилення отриманих результатів оцінювали як статистично достовірні [139]. При

порівнянні більше як двох незалежних вибірок використано однофакторний дисперсний аналіз (One-Way ANOVA) за допомогою комп'ютерної програми SPSS [140, 141].

Для статистичної обробки даних використано стандартний пакет комп'ютерних програм MS Excel.

Таким чином, за допомогою описаних вище методів можна здійснити віртуальний скринінг потенційних БАР, перевірити структуру та чистоту синтезованих сполук, експериментально дослідити їх прогнозовану біологічну активність та здійснити статистичну обробку отриманих результатів.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1 Прогноз біологічної активності *in silico* методом

Хемоінформатика – це сучасний обчислювальний інструмент, який об'єднує інформаційні технології та хімію для вирішення проблем, пов'язаних із відкриттям ліків. Ці методи також можна використовувати в хімічній та суміжних галузях промисловості в різних інших формах. Хемоінформатика дає нам можливість перетворити дані, отримані шляхом об'єднання двох сфер, у знання, які потім можна розширити для прийняття правильних і кращих рішень у таких сферах, як відкриття ліків, розуміння хімічної взаємодії, стандартизація протоколів виробництва ліків тощо. Основне застосування хемоінформатики полягає в зберіганні, індексуванні та пошуку інформації, що стосується сполук.

Ефективний пошук такої інформації включає в себе теми, які розглядаються в інформатиці, як аналіз даних, пошук інформації, витяг інформації та машинне навчання. Хемоінформатика може допомогти нам проводити віртуальні експерименти, які дають зрозуміти, як наше тіло насправді може відреагувати на ліки. Крім того, процес виконання дуже швидкий і це дає можливість заощадити час, а також не потрібна практична робота, що є додатковою перевагою. Проте все в хемоінформатиці є гіпотетичним, і ми не можемо з упевненістю сказати, що препарат діятиме так, як було передбачено. Оскільки все більше досліджень проводять щодо виявлення ліків, для рішень знадобляться розділи як хемо-, біоінформатики так і інших дисциплін, тому ці знання та інструменти повинні бути максимально доступними. Усі проблеми в хімії та біології вимагають нових підходів для керування великими обсягами даних, а також для моделювання складних взаємозв'язків.

Кожна біологічно активна сполука виявляє широкий спектр біологічних дій у біологічних системах (організми людини, тварин, аналізи *in vivo* та *in vitro*). Практично неможливо вивчити кожную активність сполуки в усіх наявних на

даний момент тестах. Таким чином, є доцільним відбір сполук з необхідними типами біологічної активності і без небажаних побічних ефектів і токсичності.

З цією метою, групою європейських держав, було розроблено програмне забезпечення PASS. PASS прогнозує спектри біологічної активності на основі структурних формул хімічних сполук. Біологічна активність сполук прогнозується на основі зв'язків «структура – активність» відомих біологічно активних речовин, представлених у навчальному наборі. Навчальний набір PASS 1.602 включає більше 250 000 речовин. PASS 1.602 може передбачити більше 4000 різних видів біологічної активності, включаючи фармакологічні ефекти, біохімічні механізми, канцерогенність, мутагенність і тератогенність. Середнє прогнозування точності в перехресній перевірці PASS становить близько 95%.

3.1.1 Прогноз біологічної активності 2(4)-гідразинопхідних хіноліну

Результати комп'ютерного прогнозу БА похідних 2-гідразинохіноліну подано у таблиці 3.1. Хінолін-2-ілгідразони ініціюють себе як сполуки комбінованої дії. Вони поєднують варіанти лікування запальних захворювань кишечника, аутоімунних порушень, ревматоїдного артриту, діабетичної нейропатії та інших видів захворювань.

Таблиця 3.1 – Прогнозована БА похідних 2-гідразинохіноліну

№	Вид біологічної дії	Кількість сполук	Pa	Pi
1	2	3	4	5
1.	Лікування передпухлинних станів	27	0,369-0,714	0,007-0,117
2.	Агоніст інтерлейкіну	25	0,465-0,806	0,002-0,004
3.	Лікування діабетичної нейропатії	17	0,301-0,456	0,011-0,212
4.	Стимулятор функції нирок	17	0,302-0,565	0,058-0,249
5.	Лікування запальних захворювань кишечника	16	0,307-0,754	0,005-0,056
6.	Регулятор нуклеотидного обміну	16	0,305-0,585	0,02-0,128

Продовж. табл.3.1

1	2	3	4	5
7.	Антимікобактеріальна	15	0,308-0,837	0,003-0,076
8.	Інгібітор реакції Майяра	15	0,314-0,718	0,002-0,041
9.	Агоніст альфа-інтерферону	14	0,321-0,498	0,01-0,055
10.	Стимулятор агрегації тромбоцитів	14	0,330-0,512	0,063-0,206
11.	Протитуберкульозна	13	0,361-0,846	0,003-0,045
12.	Лікування аутоімунних порушень	13	0,469-0,706	0,006-0,035
13.	Активатор кальцієвого каналу	12	0,307-0,433	0,138-0,294
14.	Лікування ревматоїдного артрити	12	0,317-0,688	0,004-0,046
15.	Інгібітор сахаропепсину	12	0,318-0,616	0,069-0,225
16.	Протипухлинна	11	0,319-0,597	0,046-0,142
17.	Противірусна (пікорнавірус)	11	0,302-0,507	0,048-0,225
18.	Інгібітор хімозину	11	0,318-0,541	0,096-0,225
19.	Інгібітор інсулізину	11	0,355-0,748	0,005-0,106
20.	Агоніст цілісності мембран	11	0,314-0,480	0,109-0,185
21.	Інгібітор акроциліндротропсину	10	0,332-0,616	0,069-0,213
22.	Антагоніст ендотеліального фактора росту	10	0,317-0,421	0,018-0,046
23.	Лікування фобічних розладів	10	0,318-0,513	0,167-0,305

Віртуальний скринінг біологічного потенціалу 2-гідразинозаміщених ПХ показав перспективність їх дослідження на такі види БА, як антимікобактеріальна ($P_a = 0,308 - 0,837$), протипухлинна ($P_a = 0,319 - 0,597$), противірусна ($P_a = 0,302 - 0,507$) тощо. Привертає увагу участь похідних 2-гідразинохінолінів у стимуляції функції нирок ($P_a = 0,302 - 0,565$) та стимуляції агрегації тромбоцитів ($P_a = 0,330 - 0,512$).

2-гідразинопохідні хіноліну володіють перспективною агоністичною активністю інтерлейкіну (рис. 3.1). Найбільшу активність прогнозували для 4-((2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразано)метил)фенолу (8), 4-метил-2-(2-(3,4,5-триметоксибензиліден)гідразиніл)хіноліну (9) та 2,6-диметокси-4-((2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразано)метил)фенілацетату (10).

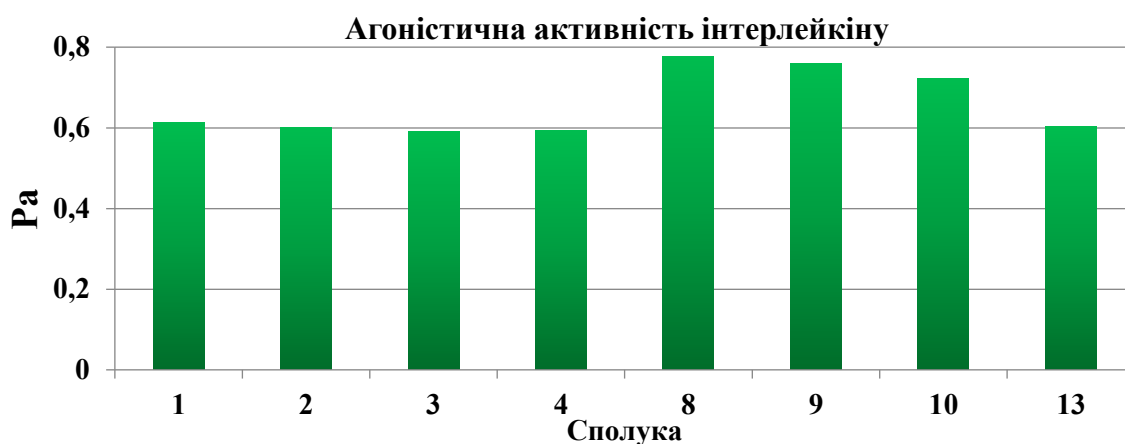


Рисунок 3.1 – Комп'ютерний прогноз агоністичної активності інтерлейкіну 2-гідразинопохідних хіноліну

Як цитопротектор використовували деривати **4, 8, 9, 10, 15** (рис. 3.2). Найактивнішою виявилась сполука **10** (2,6-диметокси-4-((2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)метил)фенілацетат).

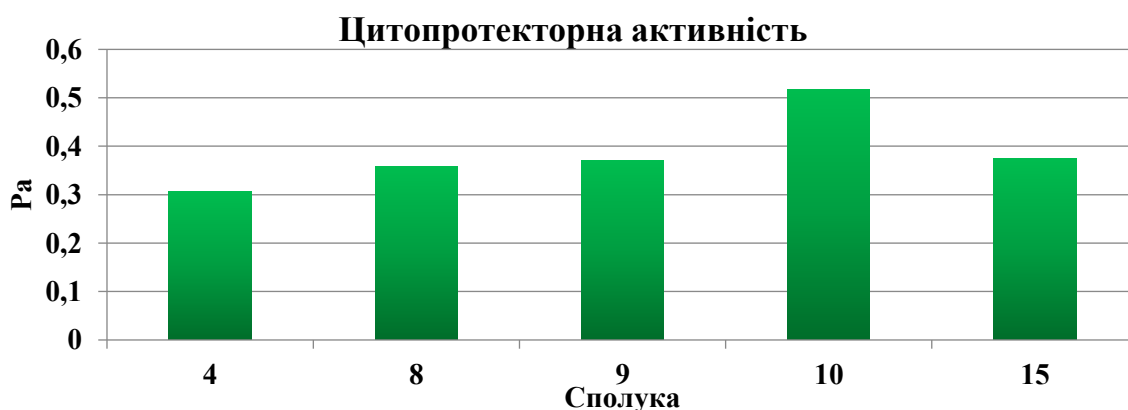


Рисунок 3.2 – Комп'ютерний прогноз цитопротекторної активності 2-гідразинопохідних хіноліну

Віртуальний скринінг активності інгібітора спермідиндегідрогенази показав активність для похідних 2-гідразинохіноліну (рис. 3.3). Найбільшу активність проявили сполуки **11** (4-метил-2-(2-(4-нітробензиліден)гідразиніл)хінолін) та **14** (3-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)-5-нітроіндолін-2-он). Найменшу активність продемонстрували

похідні **8** (4-((2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)метил)фенол) та **15** (2-(2-(2,3-диметоксибензиліден)гідразиніл)-4-метилхінолін).

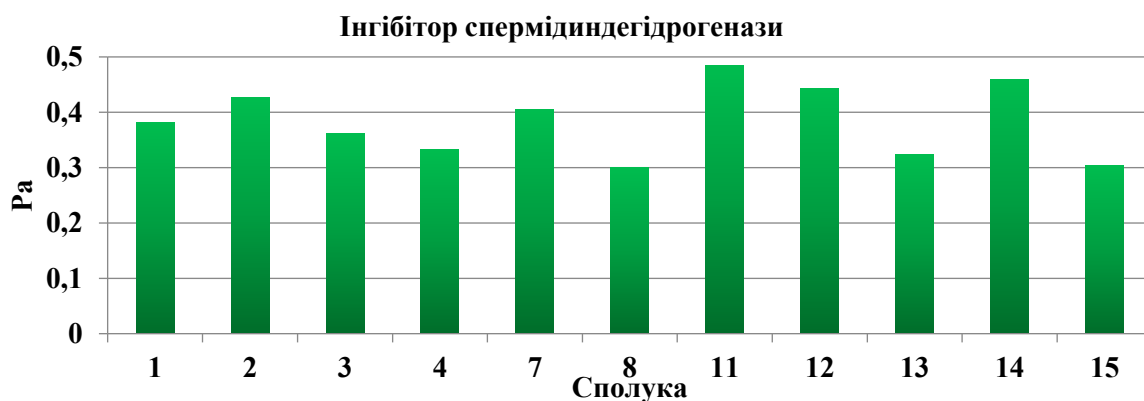


Рисунок 3.3 – Комп'ютерний прогноз активності інгібітора спермідиндегідрогенази 2-гідразинопохідних хіноліну

Результати комп'ютерного прогнозу БА похідних 4-гідразинохінолінів наведено у таблиці 3.2. Віртуальне прогнозування свідчить, що досліджені сполуки можуть проявляти досить широкий спектр БА.

З результатів дослідження виявлено, що 4-гідразинопохідні хіноліну перспективні як антимікобактеріальні, протитуберкульозні, антипротозойні та антиекзематичні засоби. Є потенційними нейропротекторами ($P_a = 0,317 - 0,508$), впливають на процес еритропоезу ($P_a = 0,305 - 0,458$) та лейкопоезу ($P_a = 0,302 - 0,514$), а також, є перспективними препаратами для лікування передпухлинних станів, фобічних розладів, діабетичної нейропатії.

Таблиця 3.2 – Прогнозована БА похідних 4-гідразинохіноліну

№	Вид біологічної дії	Кількість сполук	P_a	P_i
1	2	3	4	5
1.	Лікування передпухлинних станів	45	0,304-0,67	0,012-0,167
2.	Протитуберкульозна	44	0,318-0,899	0,002-0,062
3.	Антимікобактеріальна	43	0,317-0,905	0,003-0,061
4.	Регулятор нуклеотидного обміну	40	0,338-0,728	0,01-0,105

Продовж. табл.3.2

1	2	3	4	5
5.	Стимулятор агрегації тромбоцитів	38	0,304-0,571	0,035-0,233
6.	Антипротозойна	29	0,311-0,703	0,004-0,042
7.	Противірусна (пікорнавірус)	29	0,316-0,479	0,06-0,202
8.	Лікування фобічних розладів	29	0,328-0,798	0,034-0,295
9.	Стимулятор функції нирок	28	0,329-0,489	0,105-0,225
10.	Лікування діабетичної нейропатії	26	0,304-0,463	0,009-0,207
11.	Інгібітор тауриндегідрогенази	25	0,302-0,851	0,006-0,203
12.	Противірусна (Аденовірус)	24	0,313-0,446	0,015-0,078
13.	Лікування алопеції	22	0,305-0,448	0,075-0,182
14.	Інгібітор реакції Майяра	22	0,302-0,599	0,004-0,049
15.	Нервово-м'язовий блокатор ацетилхоліну	21	0,317-0,508	0,069-0,198
16.	Антиекзематична	21	0,303-0,592	0,09-0,285
17.	Активатор кальцієвого каналу	21	0,303-0,546	0,12-0,301
18.	Стимулятор еритропоезу	20	0,305-0,458	0,056-0,174
19.	Стимулятор лейкопоезу	18	0,302-0,514	0,04-0,177
20.	Противірусна (Поксвірус)	15	0,302-0,408	0,028-0,058
21.	Антагоніст ендотеліального фактора росту	15	0,323-0,538	0,008-0,043
22.	Інгібітор глюконат-2-дегідрогенази	15	0,576-0,863	0,006-0,14
23.	Ноотропна	15	0,320-0,594	0,079-0,310
24.	Інгібітор аміндегідрогенази	14	0,352-0,732	0,006-0,064
25.	Антигіпертензивна	14	0,374-0,689	0,005-0,047
26.	Інгібітор спермідиндегідрогенази	14	0,308-0,869	0,003-0,118
27.	Підкислюючий агент не шлунковий	13	0,332-0,666	0,003-0,049
28.	Противірусна (риновірус)	13	0,303-0,506	0,023-0,245
29.	Агоніст інтерлейкіну	13	0,304-0,61	0,003-0,017
30.	Лікування аденоматозного поліпозу	12	0,329-0,389	0,061-0,082
31.	Антисеборейна	11	0,345-0,513	0,075-0,111
32.	Агоніст фактора росту фібробластів	11	0,306-0,413	0,059-0,125
33.	Інгібітор фруктози 5-дегідрогенази	10	0,306-0,673	0,009-0,19
34.	Діуретик	10	0,313-0,398	0,026-0,07

Деривати 4-гідразінохіноліну володіють антиоксидантною активністю, про що свідчать результати віртуального скринінгу PASS (рис. 3.4). Досліджувані сполуки досить виражено демонструють активність інгібітора тауриндегідрогепази. Максимального результату досягли сполуки: 2-(-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)етанова кислота (**16**), 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)пропанова кислота (**18**) та калію 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)пентадіоат (**46**), з вірогідністю 0,845, 0,852 та 0,839 відповідно.

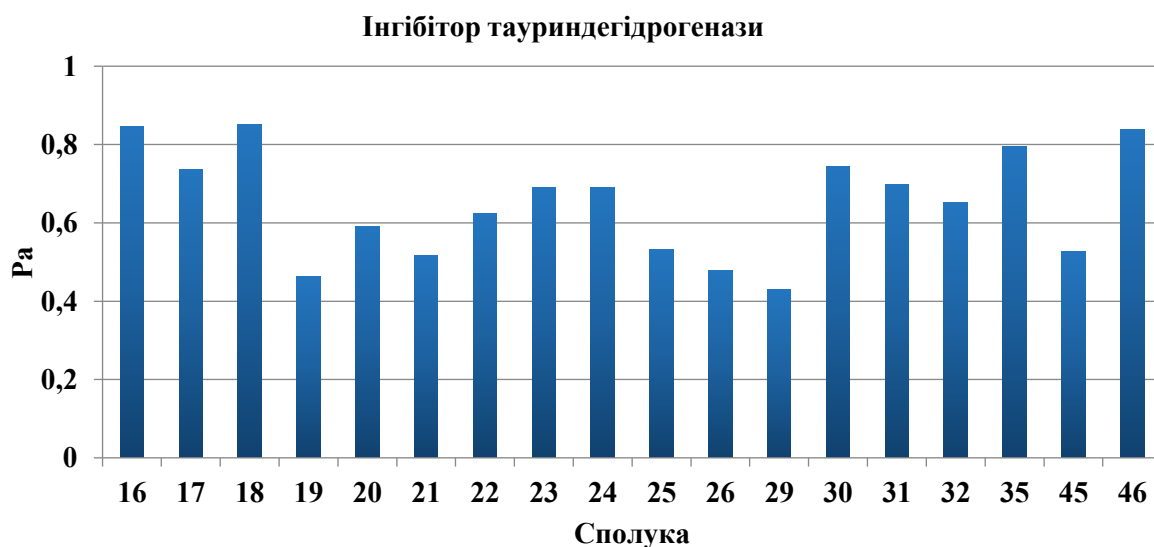


Рисунок 3.4 – Комп'ютерний прогноз активності інгібітора тауриндегідрогепази 4-гідразінопохідних хіноліну

Антимікобактеріальна активність похідних 4-гідразінохіноліну (рис. 3.5) проявляється з максимальною вірогідністю – 0,905 у 6-бром-2-метил-4-(2-(4-нітробензиліден)гідразиніл)хінолін (**25**) та 0,904 у 6-бром-4-(2-(4-хлорбензиліден)гідразиніл)-2-метилхінолін (**24**). Мінімальну активність в даному напрямку проявляє 1-(2-бромоетил)-3-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)індолін-2-он (**21**).



Рисунок 3.5 – Комп'ютерний прогноз антимікобактеріальної активності 4-гідразинопохідних хіноліну

Нуклеотиди беруть участь майже у всіх біохімічних процесах або безпосередньо як субстрати, ко-субстратні донори фосфатних груп, джерела енергії, коферменти тощо, або опосередковано, впливаючи на активність ключових ферментів у метаболічних шляхах. Порушення метаболізму нуклеотидів може призвести до таких захворювань, як подагра, синдром Леша-Ніхана, оротацидурия.

Так, вивчення сполук з регуляторною активністю метаболізму нуклеотидів дозволить розробити і застосувати препарати, що використовуються в лікуванні вже згаданих хвороб [142].

4-гідразинопохідні хіноліну виступили як регулятори метаболізму нуклеотидів (рис. 3.6). Найбільш яскраво виражена регуляторна активність у 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)пропанова кислота (**18**). Мінімальний регуляторний вплив демонструє динатрію 2-(2-(7-хлорхінолін-4-іл)гідразоно)бутандіоат (**45**).



Рисунок 3.6 – Комп’ютерний прогноз регуляторної активності метаболізму нуклеотидів 4-гідразінопохідних хіноліну.

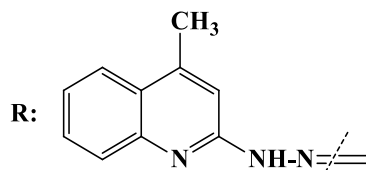
Важливою схожістю в хеометричних прогностичних дослідженнях є те, що похідні і 2-гідразінохінолінів і 4-гідразінохінолінів, мають можливість до прояву протитуберкульозної активності ($P_a = 0,361 - 0,846$), їх використовують у якості засобів для лікування передракових станів (4Q $P_a = 0,304 - 0,67$; 2Q $P_a = 0,369 - 0,714$) та побічних розладів (4Q $P_a = 0,328 - 0,798$; 2Q $P_a = 0,31 - 0,513$).

Отже, 2(4)-гідразінохіноліни та їх похідні було перевірено методом *in silico* – віртуальний скринінг (PASS-прогноз) – на предмет їхнього можливого прояву біологічних властивостей. Сполуки, внесені до комбінаторної бібліотеки, відповідають «правилу Ліпінські» (правилу «п’яти»), це визначає умови для передбачення біодоступності будь-якої молекули.

Результати хеометричних досліджень та проведений віртуальний скринінг дали можливість для продовження вже цілеспрямованого пошуку БАР, наділених антимікробною та АОО, серед 2(4)-гідразінопохідних хіноліну. Завідувачем кафедри хімії ЗНУ, доктором біологічних наук, професором О.А. Бражком синтезовано 46 сполук на основі ((хінолін-2(4)-іл)гідразіно)карбонових кислот та інших похідних гідразінохінолінів.

Структури останніх наведено у таблицях 3.3 – 3.4.

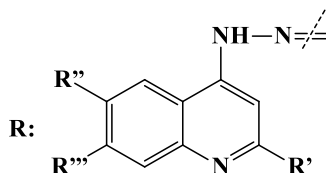
Таблиця 3.3 – Структура похідних 2-гідразінохінолінів



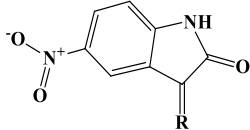
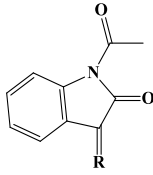
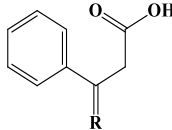
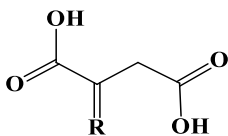
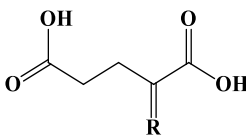
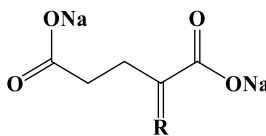
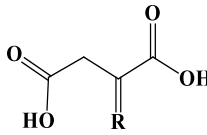
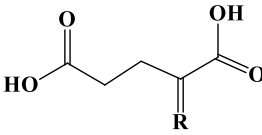
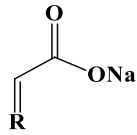
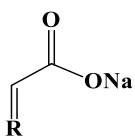
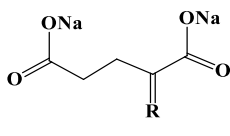
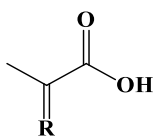
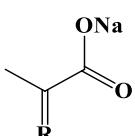
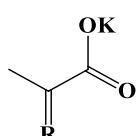
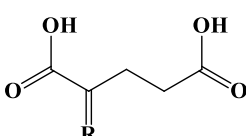
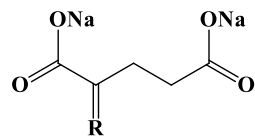
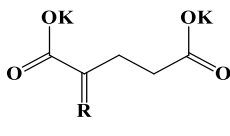
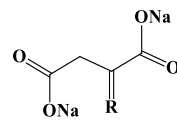
№	Сполука (шифр)	№	Сполука (шифр)	№	Сполука (шифр)
1	BRANE 13 	2	BRANE 25 	3	BRANE 46
4	BRANE 49 	5	BRANE 49(a) 	6	BRANE 49(b)
7	BRANE 60 	8	BRANE 61 	9	BRANE 63
10	BRANE 64 	11	BRANE 65 	12	BRANE 66
13	BRANE 68 	14	BRANE 71 	15	BRANE 156

З точки зору хімічних перетворень і створення потенційних біомодуляторів цікавим є створення гібридів, які поєднують в одній молекулі хінолін та гідразонокарбонові кислоти в 4-му положенні, що проявляють виражену АО дію. Сьогодні такі сполуки маловідомі і вважаються перспективними як БАР для біоорганічної хімії та фармакології [143].

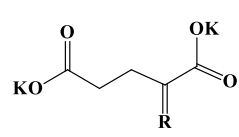
Таблиця 3.4 – Структура похідних 4-гідразинохінолінів



№	Сполука (шифр)	№	Сполука (шифр)	№	Сполука (шифр)
1	2	3	4	5	6
16	BRANE 17 $R'=\text{CH}_3; R''=\text{H}; R'''=\text{H}$	17	BRANE-022 $R'=\text{H}; R''=\text{H}; R'''=\text{Cl}$	18	BRANE-033 $R'=\text{CH}_3; R''=\text{H}; R'''=\text{H}$
19	BRANE 58 $R'=\text{H}; R''=\text{H}; R'''=\text{Cl}$	20	BRANE 75 $R'=\text{CH}_3; R''=\text{H}; R'''=\text{H}$	21	BRANE 76 $R'=\text{CH}_3; R''=\text{H}; R'''=\text{H}$
22	BRANE 78 $R'=\text{CH}_3; R''=\text{Br}; R'''=\text{H}$	23	BRANE 80 $R'=\text{CH}_3; R''=\text{Br}; R'''=\text{H}$	24	BRANE 81 $R'=\text{CH}_3; R''=\text{Br}; R'''=\text{H}$
25	BRANE 82 $R'=\text{CH}_3; R''=\text{Br}; R'''=\text{H}$	26	BRANE 83 $R'=\text{CH}_3; R''=\text{Br}; R'''=\text{H}$	27	BRANE 84 $R'=\text{CH}_3; R''=\text{Br}; R'''=\text{H}$

1	2	3	4	5	6
28	BRANE 86  $R'=\text{CH}_3$; $R''=\text{Br}$; $R'''=\text{H}$	29	BRANE 87  $R'=\text{CH}_3$; $R''=\text{Br}$; $R'''=\text{H}$	30	BRANE 139  $R'=\text{H}$; $R''=\text{H}$; $R'''=\text{Cl}$
31	BRANE 140  $R'=\text{H}$; $R''=\text{H}$; $R'''=\text{Cl}$	32	BRANE 141  $R'=\text{H}$; $R''=\text{H}$; $R'''=\text{Cl}$	33	BRANE 141(a)  $R'=\text{H}$; $R''=\text{H}$; $R'''=\text{Cl}$
34	BRANE-142  $R'=\text{CH}_3$; $R''=\text{H}$; $R'''=\text{H}$	35	BRANE-143  $R'=\text{CH}_3$; $R''=\text{H}$; $R'''=\text{H}$	36	BRANE-144  $R'=\text{H}$; $R''=\text{H}$; $R'''=\text{Cl}$
37	BRANE-145  $R'=\text{CH}_3$; $R''=\text{H}$; $R'''=\text{Cl}$	38	BRANE-146  $R'=\text{CH}_3$; $R''=\text{H}$; $R'''=\text{H}$	39	BRANE-150  $R'=\text{CH}_3$; $R''=\text{OCH}_3$; $R'''=\text{H}$
40	BRANE-151  $R'=\text{CH}_3$; $R''=\text{OCH}_3$; $R'''=\text{H}$	41	BRANE-152  $R'=\text{CH}_3$; $R''=\text{OCH}_3$; $R'''=\text{H}$	42	BRANE-153  $R'=\text{CH}_3$; $R''=\text{OCH}_3$; $R'''=\text{H}$
43	BRANE-154  $R'=\text{CH}_3$; $R''=\text{OCH}_3$; $R'''=\text{H}$	44	BRANE-155  $R'=\text{CH}_3$; $R''=\text{OCH}_3$; $R'''=\text{H}$	45	BRANE 157  $R'=\text{H}$; $R''=\text{H}$; $R'''=\text{Cl}$

Продовж. табл.3.4

1	2	3	4	5	6
46	BRANE 158  $R' = \text{CH}_3$; $R'' = \text{H}$; $R''' = \text{H}$				

3.2 Антимікробна активність

За останні роки наявність бактерій у лікарнях значно зросла, через опір цих мікроорганізмів до певних типів протимікробних препаратів. Спектр сполук, що відносяться до протимікробних засобів, дуже широкий і включає понад 200 найменувань. Їх кількість постійно збільшується, але недоліками цих сполук є токсичність і алергічні прояви, а також знижена терапевтична ефективність, що призводить до появи резистентних штамів збудників.

Похідні хіноліну, які широко зустрічаються у природі, особливо алкалоїди, стали важливим каркасом для синтетичної хімії завдяки їх різноманітному застосуванню в медичній хімії, біоорганічній хімії та фармакологічній хімії [144]. При стикуванні хінолінового фрагменту з похідними гідразину отримані гібриди добре відомі як такі, що мають досить широкий спектр біологічних активностей [145]. Перш за все, вони знані як потенційні антибактеріальні препарати. На основі хіноліну були синтезовані чисельні похідні 2(4)-гідразинохіноліну, а найбільш перспективні використані для розробки низки потенційних антибактеріальних засобів. Ці деривати демонструють високий рівень бактерицидної активності щодо грамнегативних та грампозитивних бактерій, наділені фармакокінетичними характеристиками [146]. Вони також мають характерні ознаки, що притаманні протигрибковими, протипухлинними, антималярійними, протитуберкульозними, антизапальними та ін. засобам [147].

Усе вище викладене, дані QSAR аналізу та комп'ютерного прогнозу і стали передумовою дослідження антимікробної дії досліджуваних 2(4)-гідразинопохідних хіноліну.

3.2.1 QSAR оцінка антимікробної активності

Оцінку прогнозу регресійних QSAR моделей проводили за допомогою коефіцієнта перехресної оцінки q^2 . Крім того, для кожної моделі була розрахована середньоквадратична помилка прогнозу (root mean squared error, RMSE), середня абсолютна помилка (mean absolute error, MAE) і квадрат коефіцієнта кореляції (squared correlation coefficient, R^2) [148].

Початковий набір даних із 721 сполуки з активністю проти *S. aureus* був випадково розділений на навчальні (576) та тестові (145) набори. Оскільки дані про діяльність були зібрані з різних джерел, це сприяло їх варіації через відмінності в лабораторних протоколах, що використовуються в різних дослідженнях. Регресійні моделі, побудовані методами Trans-CNN та Trans-CNF розраховували найкращі результати. Результати подано у таблиці 3.5.

Таблиця 3.5 – Статистичні коефіцієнти, розраховані для моделей QSAR з активністю проти *S. aureus*

№	Метод	Навчальний набір ^a			Тестовий набір ^a		
		R^2	q^2	RMSE	R^2	q^2	RMSE
1	Trans-CNN	0.77 ± 0.02	0.77 ± 0.02	0.36 ± 0.01	0.76 ± 0.05	0.76 ± 0.05	0.38 ± 0.04
2	Trans-CNF	0.75 ± 0.02	0.75 ± 0.02	0.38 ± 0.01	0.76 ± 0.05	0.76 ± 0.05	0.38 ± 0.03
3	Consensus ^b	0.77 ± 0.02	0.77 ± 0.02	0.36 ± 0.01	0.76 ± 0.04	0.76 ± 0.04	0.38 ± 0.03

Примітки: ^a Тренувальні та тестові набори включали 576 і 145 молекул відповідно. ^b Модель Consensus була побудована шляхом усереднення результатів двох моделей. R^2 – квадрат коефіцієнта кореляції; q^2 – коефіцієнт детермінації; RMSE – середньоквадратична помилка.

Значення q^2 становили 0,75 – 0,77 для навчальних і тестових наборів. Для кількісної оцінки активності сполук проти *S. aureus* була використана консенсусна модель, яка є середнім значенням для обох моделей. Дисперсії окремих передбачень консенсусної моделі були використані для калібрування помилок передбачення та оцінки області їх застосування.

3.2.2 Прогнозування активності віртуального набору сполук

Антимікробна активність будь-якої сполуки може бути передбачена за допомогою QSAR моделі базуючись на розрахованих дескрипторах. Проте, якщо структура нової сполуки значно відрізняється від сполук із навчального набору, то такий прогноз не можна вважати достовірним. Щоб попередити сумнівний прогноз, для кожної моделі визначають область використання (applicability domain, AD). Такий підхід дозволяє відібрати ряд сполук з найбільш реалістичними прогнозами активностей та підвищити точність їх прогнозування.

Віртуальний набір похідних хіноліну був створений у вигляді комбінаторної бібліотеки, що включає 22 сполуки з різними схемами заміщення. Усі сполуки пройшли за попередньо опублікованою моделлю консенсусної класифікації проти *E. coli* [149]. Сім сполук, передбачених як «активні», але за межами області використання моделі, були виключені. 15 сполук були відібрані для подальшої оцінки і були перевірені за допомогою моделі консенсусної регресії щодо *S. aureus*. Для подальшої оцінки було відібрано 12 сполук, які, за прогнозами, є найбільш активними в області застосування. 8 похідних 2(4)-гідразинохіноліну з найвищою прогнозованою активністю були в подальшому експериментально досліджені (табл. 3.6).

Таблиця 3.6 – Прогнозування активності сполук за допомогою консенсусної моделі, розробленої щодо *E. coli* та *S. aureus*

Comp. №	<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>		
	Activity	Estimated accuracy	AD	log(MIC), mol/L	CONSENSUS-STD	AD
3	Active	0,99	TRUE	-3,80	0,16	TRUE
4	Active	0,98	TRUE	-3,98	0	TRUE
5	Active	0,98	TRUE	-3,98	0	TRUE
6	Active	0,98	TRUE	-3,98	0	TRUE
9	Inactive	0,92	FALSE	-4,09	0,18	TRUE
19	Active	0,94	TRUE	-3,97	0,06	TRUE
30	Active	0,92	TRUE	-4,16	0,05	TRUE
32	Active	0,96	TRUE	-4,01	0	TRUE

Примітки: AD (applicability domain) – область застосування. MIC – мінімальна інгібуюча концентрація, значення MIC в моль/л; CONSENSUS-STD – стандартне відхилення прогнозів, отримане з ансамблю моделей;

3.2.3 Антимікробна активність щодо штамів *E. coli* та *S. aureus* (*in vitro*)

Результати антибактеріальної активності фіксували шляхом вимірювання діаметра зони інгібування росту досліджуваних 2(4)-гідразинопхідних хіноліну. Деривати були випробувані як проти поширених, так і проти умовно-патогенних штамів *E. coli* та *S. aureus*. Результати проведеного дослідження показали, що 2- та 4-гідразинопхідні хіноліну є препаратами, які чинять пригнічувальну дію на бактерії (табл. 3.7).

Таблиця 3.7 – Антибактеріальна активність 2(4)-гідразинопохідних хінолінів *in vitro* щодо штамів бактерій за діаметром росту зони інгібування (мм) ($P < 0,05$)

Досліджені сполуки	Діаметр росту зони інгібування				
	<i>S. aureus</i> ATCC ^a	<i>S. aureus</i> AMPR ^b	<i>E. coli</i> ATCC ^c	<i>E. coli</i> CRBR ^d	<i>E. coli</i> MDR ^e
3	30	25	26	26	26
4	15	12	20	12	20
5	21	15	21	11	20
6	23	18	19	15	20
9	21	15	18	12	14
19	25	13	14	10	17
30	24	18	20	14	20
32	20	15	19	17	15
Ампіцилін (10 мкг) ^f	27 – 35	–	16 – 22	–	–
Карбеніцилін (100 мкг) ^f	–	–	23 – 29	–	–
Цефтазидим (30 мкг) ^f	16 – 20	–	25 – 32	–	–
Офлоксацин (5мкг) ^f	24 – 28	–	29 – 33	–	–
Канаміцин (30мкг) ^f	19 – 26	–	17 – 25	–	–
Цефтриаксон (30 мкг) ^f	22 – 28	–	29 – 35	–	–
Нітроксолін (30 мкг) ^f	18 – 28	–	16 – 24	–	–

Примітки: ^aАмериканська колекція культур (штам 25923Е). ^bАмпіцилін-резистентний клінічний ізолят. ^cАмериканська колекція культур (штам 25922). ^dКарбеніцилін-резистентний клінічний ізолят гемолітичного штаму *E. coli*. ^eАмпіцилін, Цефтазидим, Офлоксацин, Канаміцин, Цефтриаксон резистентний клінічний ізолят *E. coli*. ^fВідповідно до сертифікату якості препарату

Дані, представлені в таблиці 3.7, демонструють, що всі 2(4)-гідразинопхідні хіноліну з високою прогнозованою активністю показали високий антибактеріальний потенціал *in vitro* проти обох стандартних бактеріальних штамів грампозитивного *S. aureus* (ATCC 25923) і грамнегативної *E. coli* (ATCC 25922) та проти їх штамів, стійких до антибіотиків.

Відповідно до сформованих діаметрів інгібуючих зон, активність сполук реєструвалася в діапазоні від 15 до 30 мм щодо грампозитивного штаму *S. aureus* ATCC і в нижньому діапазоні (приблизно на 10% менше) від 14 до 26 мм щодо грамнегативного штаму ATCC *E. coli*.

Стійкі до антибіотиків штами *S. aureus* і *E. coli* були менш чутливими до досліджуваних гідразинопхідних хіноліну. Зони інгібування росту цих бактеріальних культур були приблизно на 20% нижчими і становили від 10 до 26 мм.

Гідразонопохідна хіноліну (3) (2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)бутандіова кислота) виявила найвищий потенціал активності проти всіх бактеріальних культур, які використовувалися в експерименті.

3.3 Визначення впливу сполук на поділ та ріст рослинних клітин (рістстимулююча/цитотоксична дія)

За умов збільшення ефективності сільськогосподарського виробництва, продуктивності рослинництва, її стабільне зростання все більше потребує застосування хімічних засобів захисту та стимуляторів росту.

Більшість хімічних сполук, що використовують в сільськогосподарському виробництві, безпосередньо викликають у рослин стрес і пригнічують їх гормональну активність. Побічні ефекти від застосування окремих засобів захисту рослин призводять до порушення гомеостазу обмінних процесів рослинних організмів.

Вплив шкідливих факторів на рослини порушує роботу клітинних компонентів і викликає порушення стабільності та впорядкованості біохімічних процесів у клітинах рослин. Все це викликає у рослини стрес.

Шляхом проникнення біоречовин у рослину, перш за все є коренева система. Ці речовини розчиняються в ліпідах, тому можуть погано розчинятися у воді, але вони проникають в рослину через кореневу систему. Із збільшенням норми споживання збільшується надходження шкідливих речовин через коріння, тому є доцільним вивчити вплив сполук різної концентрації на кореневу систему, щоб визначити їх фітотоксичну дію.

Цитотоксичний вплив похідних 2(4)-гідразинохіноліну та їх структурних аналогів, досліджували на огірках сорту «Конкурент» (*Cucumis sativus L.*). Результати випробування показали різний вплив дериватів на проростання насіння та ріст головних коренів (табл. 3.8), що залежить від структури та їх концентрації. Контроль (дистильована вода) прийнято за нуль.

Таблиця 3.8 – Вплив похідних 2(4)-гідразинохіноліну на ріст головного кореня проростків *Cucumis sativus L*

Шифр сполуки / препарат порівняння	Концентрація, мкг/мл				
	1,0	5,0	20,0	100,0	500,0
	Довжина головного кореня, % до контролю				
1	2	3	4	5	6
1	-1,5 ± 0,5	-6,0 ± 3,0	14,3 ± 3,2	-26,3 ± 2,3	-4,7 ± 1,5
2	16,8 ± 1,0	54,1 ± 2,4	-12,2 ± 3,9	-32,2 ± 4,3	-79,0 ± 3,8
3	5,9 ± 1,6	12,9 ± 0,7	36,6 ± 2,9	58,3 ± 2,4	-45,6 ± 3,6
4	21,2 ± 2,3	68,3 ± 1,4	110,9 ± 1,2	19,0 ± 3,5	-37,5 ± 1,1
16	-2,0 ± 3,4	-7,1 ± 1,6	10,5 ± 0,6	-25,3 ± 1,9	-3,2 ± 1,4
34	42,2 ± 1,2	39,2 ± 2,5	5,5 ± 1,4	18,8 ± 1,9	7,3 ± 0,8

Продовж. табл.3.8

1	2	3	4	5	6
2-((хінолін-4-іл)тіо)етанова кислота	244,8 ± 3,85	71,9 ± 2,84	153,9 ± 1,49	39,5 ± 2,65	-99,0 ± 0,86
Гіберелін	33,5 ± 2,4	68,3 ± 2,3	60,7 ± 1,1	28,6 ± 0,7	32,1 ± 2,8

Примітка: * - показники, що достовірно відрізняються від контролю ($p < 0,05$).

Рістстимулююча активність 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)етанової кислоти (рис. 3.7) проявляється по трьох показниках при концентрації від 1 до 5 мкг/мл. Довжина зони бічних коренів та їх кількість досягають максимуму при 500 мкг/мл. Довжина гіпокотилу домінує при концентрації 100 мкг/мл, а при збільшенні дози до 500 мкг/мл зменшується та приходить до норми. Довжина головного кореня має обернений вплив до довжини гіпокотилу. Цитотоксичний ефект знаходиться за межою 20 мкг/мл. Мінливий вплив сполуки **1** на ріст та розвиток головного кореня досягає свого максимуму при концентрації 20 мкг/мл. Концентрація 100 мкг/мл надає 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)етановій кислоті токсичних властивостей при впливі на ріст головного кореня.

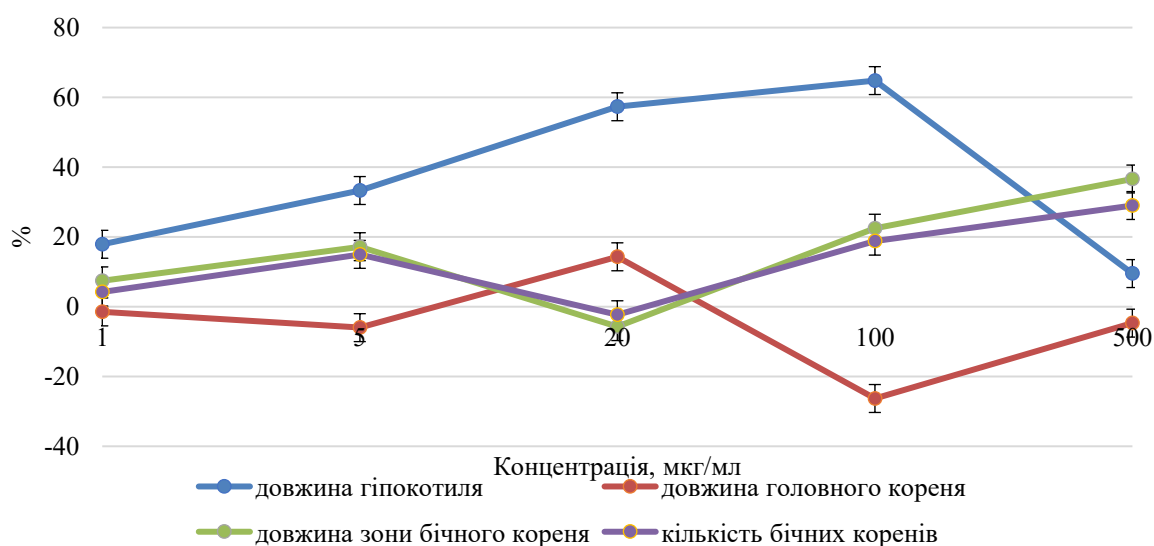


Рисунок 3.7 – Цитотоксична дія 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)етанової кислоти (сполука **1**), ($P < 0,05$)

На рис. 3.8 зображена ріст регулювальна активність 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пропанової кислоти (сполука **2**). Рістстимулювальна дія проявлялася за кожним із параметрів та змінювалась пропорційно дозі – чим вища доза, тим більша інгібувальна активність. У межах 20 – 500 мкг/мл стимулювальна дія змінювалась на пригнічуючу (фітотоксичну). Максимального ефекту за всім показниками було досягнуто за концентрації 5 мкг/мл. Довжина головного кореня на 54 % перевищувала показники контролю, довжина гіпокотелю та кількість бічних коренів на 85 %, а довжина зони бічного кореня на 125 %. Це дає можливість використовувати сполуку **2** в агрономії в якості рістстимулятора. Адже, застосування препарату при низькій концентрації та високій його ефективності дає економічно вигідний результат.

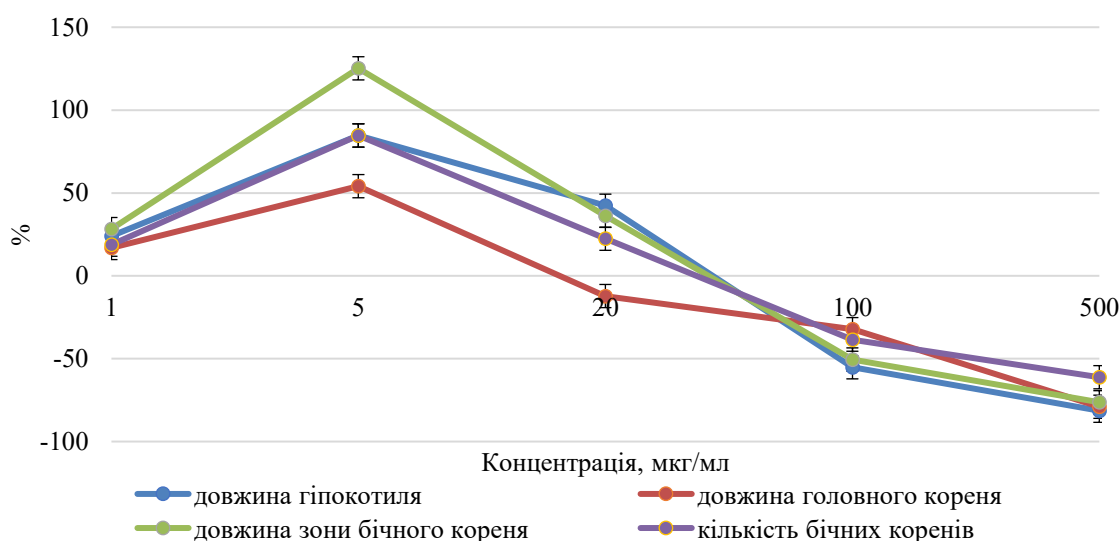


Рисунок 3.8 – Цитотоксична дія 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пропанової кислоти (сполука **2**), ($P < 0,05$)

На рис. 3.9 зображена ріст регулювальна активність 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)бутандіової кислоти. У досліді з дозами 1 та 5 мкг/мл сполука майже неактивна, при збільшенні концентрації до 20 мкг/мл спостерігається максимум стимулювального ефекту для довжини гіпокотеля та зони росту бокових коренів та їх кількості. Максимум довжини кореня спостерігали при

концентрації 100 мкг/мл. Дози більше 100 мкг/мл володіють інгібувальною дією для усіх показників.

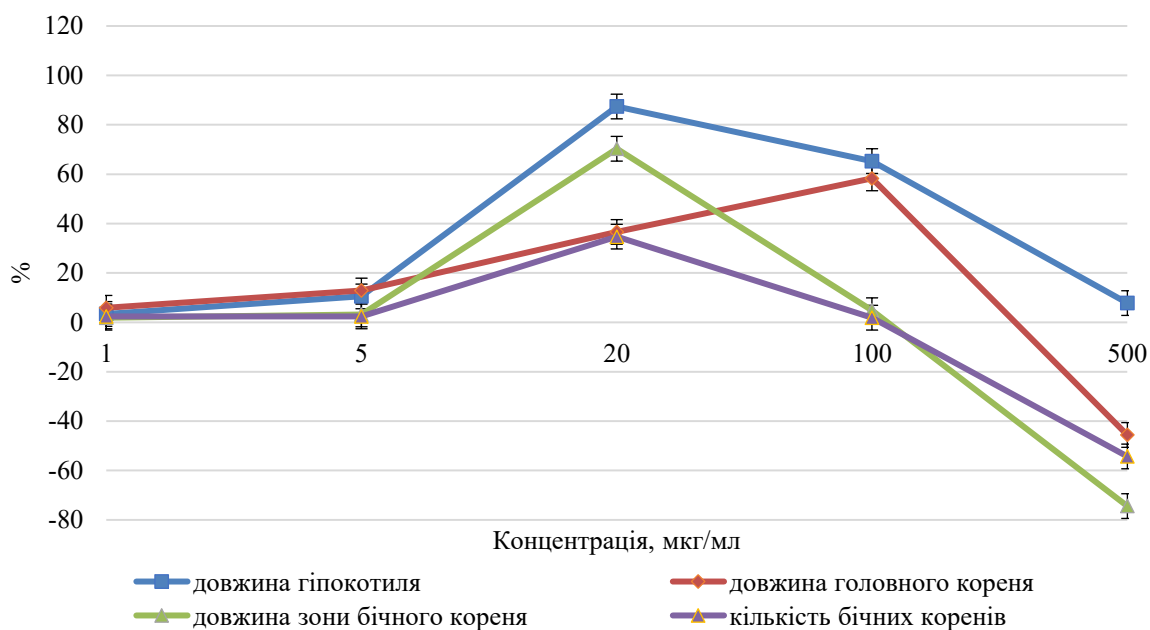


Рисунок 3.9 — Цитотоксична дія 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)бутандіової кислоти (сполука 3), ($P < 0,05$)

На рис. 3.10 зображена ріст регулювальна активність 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіової кислоти. Дана сполука проявляє найбільшу цитокінову активність, лише вона показала ріст довжини зони росту бічних коренів $188,1 \pm 4,6$ % у порівнянні з контролем, $132,6 \pm 2,7$ % довжини гіпокотилу та $110,9 \pm 1,2$ % довжини кореня. Цікаво, що перехід від ріст стимулювальної дії до цитотоксичної на всіх трьох показниках відбувається приблизно при концентрації 200 мкг/мл. Найефективнішого комплексного впливу сполука 4 (2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіова кислота) досягає при концентрації 20 мкг/мл, що значно економить витрати препарату при обробці посівного матеріалу.

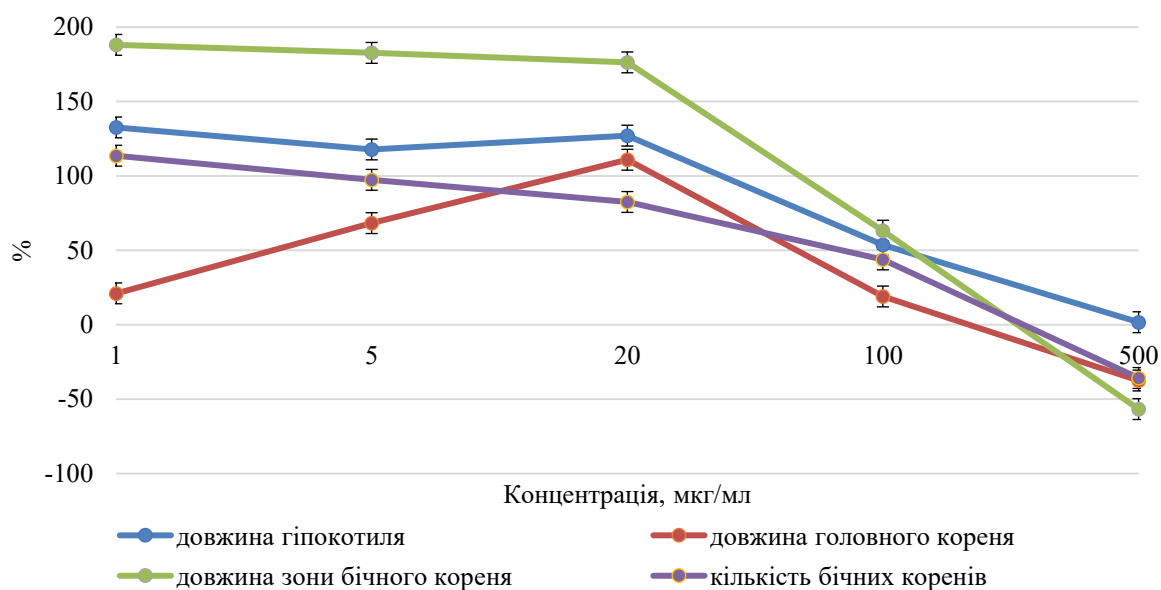


Рисунок 3.10 – Цитотоксична дія 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіової кислоти (сполука 4), ($P < 0,05$)

Сполука 16 (рис. 3.11) проявляє себе неодноково щодо різних частин рослини. Рістстимулювальної активність гарно виражена щодо довжини гіпокотилля і досягає свого максимуму при концентрації 100 мкг/мл. Подібний фітотоксичний ефект здійснюється на довжину зони та кількість бічних коренів при концентрації 20 мкг/мл.

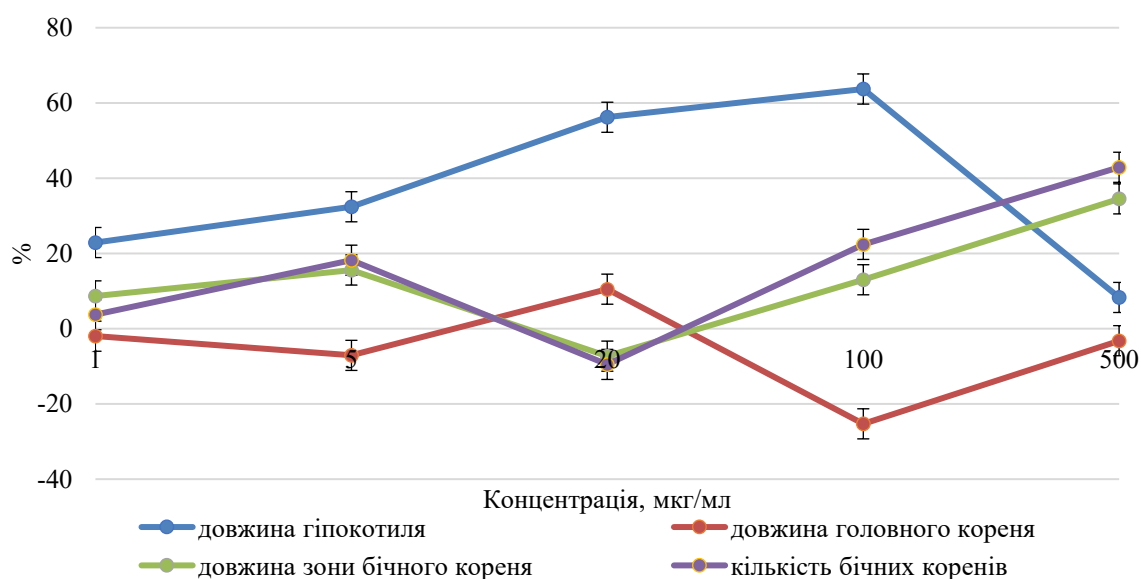


Рисунок 3.11 – Цитотоксична дія 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)етанової кислоти (сполука 16), ($P < 0,05$)

2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)бутандіова кислота (рис. 3.12) взагалі не демонструє цитотоксичного ефекту. У порівнянні з контролем, при концентрації 5 мкг/мл з'являється ефективний рістстимулювальний вплив на зону бокових коренів (67,1 %) та їх кількість (32,6 %), зменшення ефекту відбувається при концентрації 20 мкг/мл. Навпаки відбувається з довжиною гіпокотилу: максимально можливий прояв росту спостерігається при концентрації 20 мкг/мл, що на 88,7 % перевищує ефект у контрольній групі.

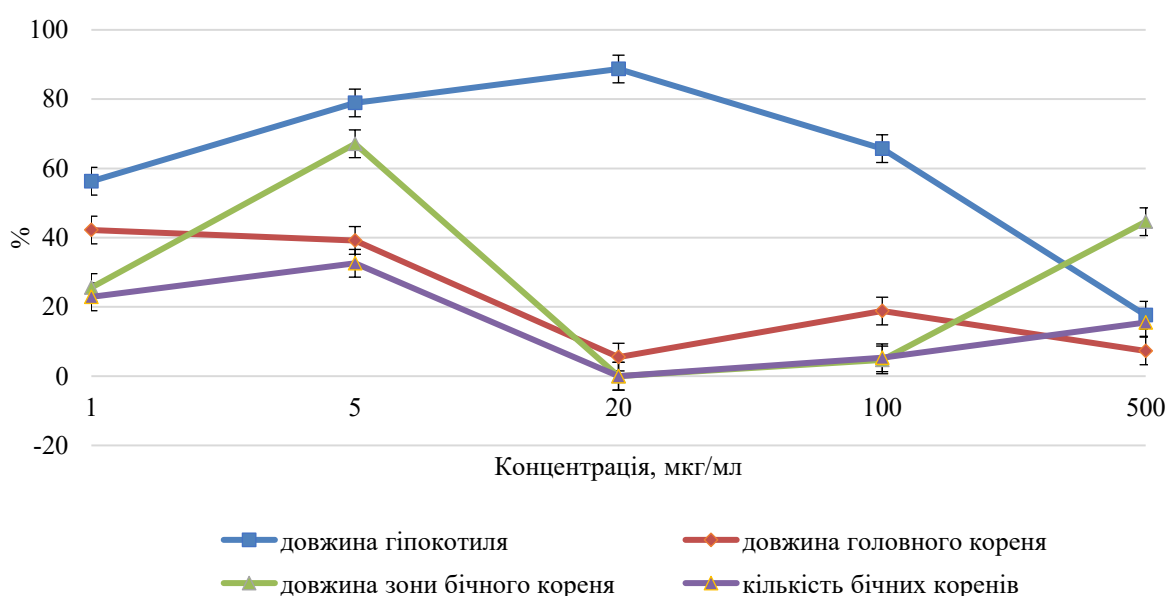


Рисунок 3.12 – Цитотоксична дія 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)бутандіової кислоти (сполука **34**), ($P < 0,05$)

При дослідженні цитотоксичної активності похідних 2(4)-гідразінохіноліну результати дослідження порівнювали із референс-сполукою 2-(2-(хінолін-4-іл)тіо)етановою кислотою (рис. 3.13). Дана сполука стимулює ріст кореня при концентрації 1 мкг/мл та 20 мкг/мл, а починаючи з концентрації 100 мкг/мл дана речовина проявляє цитотоксичний ефект за всіма показниками. Такі показники, як довжина гіпокотилу, довжина зони росту бічних коренів та їх кількість досягають максимального ефекту при концентрації 20 мкг/мл. Ефект, який здійснює 2-(2-(хінолін-4-іл)тіо)етанова кислота на ріст та

поділ клітин, аналогічний до впливу похідних 2(4)-гідразинохіноліну, які є активними при невисоких концентраціях.

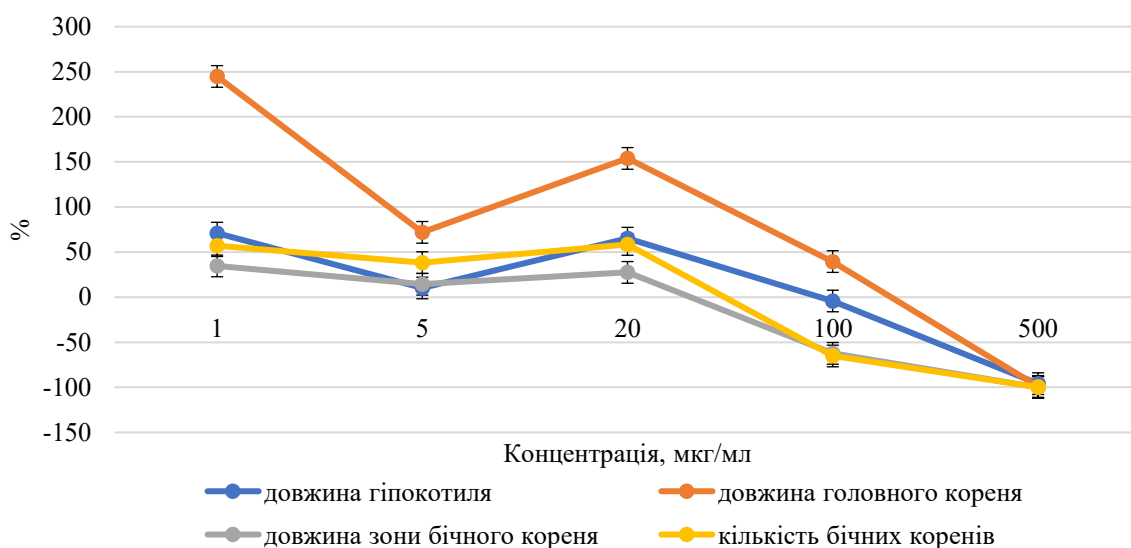


Рисунок 3.13 – Цитотоксична дія 2-((хінолін-4-іл)тіо)етанової кислоти, ($P < 0,05$)

3.4 Дослідження гострої токсичності похідних 2(4)-гідразинохіноліну

За останні роки виробництво синтетичних медичних препаратів у всьому світі різко зросло. Постійне збільшення штучно створених речовин є першочерговою проблемою для навколишнього середовища та безпеки людини. Необхідно провести токсикологічні тести, щоб визначити, які з цих препаратів є безпечними, а які потенційно можуть забруднювати навколишнє середовище та викликати токсичність. На перших етапах токсикологічних випробувань, дослідження гострої токсичності часто використовується для класифікації речовини з точки зору потенційної небезпеки для здоров'я людини. Гостра токсичність описує несприятливі токсикологічні ефекти хімічної речовини, які виникають або внаслідок одноразового впливу, або внаслідок повторного впливу протягом короткого періоду часу (зазвичай менше 24 годин) [150].

Середня летальна доза (LD_{50}) є основою для токсикологічної класифікації хімічних речовин згідно з різними нормативними актами щодо хімічної

небезпеки. LD₅₀ – це летальна доза речовини, яка вбиває 50 % досліджуваних тварин/організмів протягом 24 годин після впливу досліджуваної речовини

3.4.1 Віртуальний скринінг гострої токсичності (LD₅₀)

Встановлення взаємозв'язку між хімічною будовою сполук і характером прояву їх біологічної активності є основою цілеспрямованого пошуку нових хімічних речовин зі заданим комплексом біологічної дії.

Встановлення гострої токсичності (LD₅₀) *in silico* методом, забезпечує прогнозування для щурів з використанням п'яти шляхів введення (пероральний, внутрішньовенний, внутрішньоочеревний, підшкірний та інгаляційний). Даний прогноз базується на навчальній вибірці, створеній на основі даних SYMYX MDL Toxicity Database, яка містить інформацію про приблизно 10000 хімічних сполук з даними про гостру токсичність для щурів. Крім того, для кожного шляху введення зазначається клас токсичності досліджених похідних 2(4)-гідразинохіноліну.

У багатьох похідних хінолін-2(4)-ілгідразонів простежують залежність «будова – дія». Здійснений віртуальний скринінг дав можливість визначити ряд факторів, що впливають на ступінь токсичної дії похідних 2(4)-гідразинохінолінів і напями створення найбільш нетоксичних сполук [151].

Базуючись на результатах віртуального скринінгу та QSAR аналізу проаналізовано шляхи проведення перспективних експериментальних біологічних досліджень та виявлено найбільш перспективні сполуки з широким спектром потенційних біовластивостей та низьким рівнем токсичності.

Результати віртуальних досліджень гострої токсичності наведено у таблицях 3.9, 3.10.

Похідні 2-гідразинохіноліну (табл. 3.9) при внутрішньоочеревному введенні знаходиться в межах 52,4 – 847,1 мг/кг, при внутрішньовенному введенні – в межах 55,5 – 189,1 мг/кг, при оральному введенні – в межах 473,2 – 3917,0 мг/кг, при підшкірному введенні – в межах 59,85 – 1909,0 мг/кг. Найбільш токсичною

сполукою в ряду похідних 2-гідразінохіноліну виявився калію 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентадіоат (сполука **6**), і відноситься вона до III класу токсичності – помірно токсичні сполуки.

Таблиця 3.9 – Токсичність *in silico* похідних 2-гідразінохіноліну (шлях уведення, LD₅₀, мг/кг)

Сполука	TEST		GUSAR			
	Oral rat Log10 (моль/кг)	Oral rat	В/о введення	Внутрішньо венне введення	Оральне	Підшкірне
1	2,9	289,4	142,0	154,3	933,7	296,7
2	—	—	136,3	117,8	1684,0	315,2
3	—	—	154,5	189,1	1549,0	302,6
4	—	—	183,1	148,4	831,4	354,0
5	—	—	323,1	55,5	674,8	227,2
6	—	—	52,4	65,2	473,2	59,85
7	—	—	564,4	100,6	780,1	1390,0
8	1,8	4149,6	749,8	168,8	1422,0	1616,0
9	2,58	929,42	804,1	125,9	3917,0	1210,0
10	2,55	1064,6	734,8	102,7	1830,0	1105,0
11	2,0	2945,9	809,9	112,8	1288,0	228,3
12	2,4	1216,8	795,0	120,5	1466,0	280,0
13	—	—	585,3	126,4	774,2	820,9
14	2,4	1501,5	847,1	127,5	1052,0	1650,0
15	2,67	694,23	585,7	83,2	2166,0	1909,0

Похідні 4-гідразінохіноліну (табл. 3.10) при внутрішньочеревному введенні знаходиться в межах 73,0 – 1003,0 мг/кг, при внутрішньовенному введенні – в межах 62,1 – 382,7 мг/кг, при оральному введенні – в межах

292,8 – 3917,0 мг/кг, при підшкірному введенні – в межах 59,85 – 1513,0 мг/кг. Найвищу токсичність за внутрішньоочеревним введенням серед дериватів 4-гідразинохіноліну в досліджуваному ряді сполук продемонструвала сполука **46** (калію 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)пентадіоат). Даний дериват відноситься до помірно токсичних сполуки (III клас токсичності за К.К. Сидоровим).

Таблиця 3.10 – Токсичність *in silico* похідних 4-гідразинохіноліну (шлях уведення, LD₅₀, мг/кг)

Сполука	TEST		GUSAR			
	Oral rat Log10 (моль/кг)	Oral rat	В/о введення	Внутрішньо венне введення	Оральне	Підшкірне
1	2	3	4	5	6	7
16	2,9	304,5	89,8	239,1	576,3	440,9
17	2,7	503,9	104,0	232,4	490,0	896,5
18	–	–	97,0	174,5	816,8	497,5
19	2,31	1436,0	973,4	318,2	787,2	2412,0
20	2,3	1755,1	895,5	180,0	637,5	2388,0
21	2,5	1172,9	193,9	219,6	637,9	1318,0
22	–	–	261,0	229,5	736,9	1352,0
23	–	–	936,0	237,9	546,8	1908,0
24	–	–	1003,0	170,5	559,2	1388,0
25	2,3	1887,3	740,7	165,6	403,2	1636,0
26	2,4	1565,9	918,9	149,8	531,7	1248,0
27	2,6	1005,5	732,9	143,3	1431,0	2095,0
28	2,3	2168,9	667,3	195,8	529,7	1649,0
29	2,4	1624,2	693,7	201,4	501,7	2869,0
30	2,0	3065,5	454,9	257,6	604,9	864,7

Продовж. табл.3.10

1	2	3	4	5	6	7
31	—	—	225,2	382,7	661,0	830,7
32	—	—	200,6	369,5	618,9	1003,0
33	—	—	213,0	78,5	493,5	291,5
34	—	—	137,4	255,5	951,8	521,6
35	—	—	133,6	224,1	535,8	532,6
36	—	—	102,2	85,6	430,2	223,8
37	—	—	521,7	100,5	431,6	306,2
38	—	—	199,0	62,1	352,6	337,2
39	—	—	231,0	161,5	1513,0	1005,0
40	—	—	208,7	94,9	629,0	368,9
41	—	—	171,6	78,9	883,0	625,2
42	2,17	2262,7	226,6	336,6	1219,0	737,4
43	—	—	100,5	92,2	1017,0	206,6
44	—	—	102,8	67,6	738,4	75,7
45	—	—	151,4	90,38	489,6	218,1
46	—	—	73,0	89,7	292,8	79,2

Віртуальні дослідження похідних 2(4)-гідразинохіноліну показали, що токсичність залежить від природи замісничової компоненти в гідразиногрупі та шляхом введення, тому ці похідні найбільш токсичні при внутрішньоочеревному (в/о) та внутрішньовенному (в/в) введенні.

Наступним етапом дослідження похідних 2(4)-гідразинохіноліну стало вивчення токсичної дії на ссавцях.

3.4.2 Експериментальне дослідження гострої токсичності (LD₅₀)

У багатьох похідних 2(4)-гідразинохіноліну простежується залежність «будова – дія». Вивчення гострої токсичності (рис. 3.14, додаток В) показало, що

2,4-гідразінохіноліни малотоксичні сполуки.

Отримані дані свідчать про зростання токсичності в ряду $H < K < Na$, що ми пов'язуємо зі зростанням розчинності у вищезгаданих сполуках. Також, токсична дія залежить від довжини карбонового ланцюга в залишку кислоти, так найбільш токсична етанова кислота, яка за класифікацією К.К. Сидорова (11 – 100 мг/кг) відноситься до помірно токсичних сполук. Далі з подовженням карбонового ланцюга токсичність зменшується в ряду 2-пропанова, 2-бутандіова, 2-пентандіова. Встановлено, що 2-гідразінопохідні хіноліну більш токсичні, ніж їх 4-гідразіноаналоги хіноліну. Виключенням стали тільки хіноліл-2(4)-гідразони піридоксалю, які володіють приблизно однаковою токсичністю.

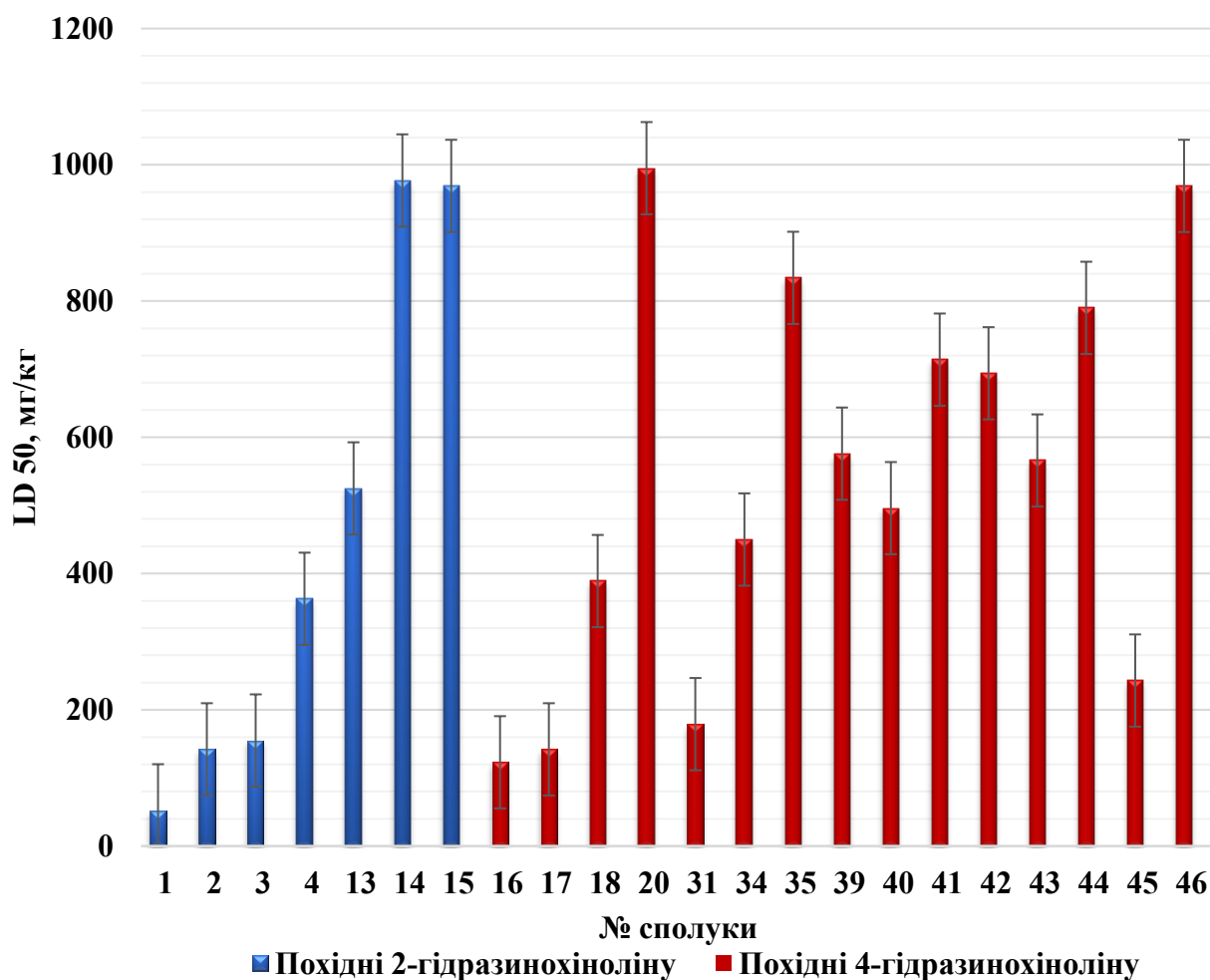


Рисунок 3.14 – Середня летальна доза похідних 2(4)-гідразінохіноліну на мишах (в/о шлях уведення, ЛД₅₀, мг/кг)

Гостра токсичність похідних 2(4)-гідразинохіноліну знаходиться, в основному, в інтервалі 100 – 1000 мг/кг, що дозволило віднести їх за класифікацією К.К. Сидорова [152] до малотоксичних сполук. Виключенням стала сполука **1** (2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)етанова кислота), яку віднесено до помірно токсичних речовин ($LD_{50} = 52,5$ мг/кг).

3.5 Визначення антирадикальної активності на моделі аутоокиснення адреналіну

Різноманітні похідні хіноліну викликають інтерес у науковців через знайдену велику кількість біоактивних молекул, що впливають на процеси ВРО [153].

Процес ВРО має місце в клітинному метаболізмі як при патологічних станах так і в нормі. ВРО є незамінною ланкою низки біологічних процесів: проліферація та диференціація клітин, фагоцитоз, метаболізм лікарських препаратів, транспорт електронів у дихальному ланцюзі, синтез простагландинів, метаболізм катехоламінів [154].

За стандартних умов велика кількість молекулярного кисню використовується в клітині мітохондріальним ферментом цитохромоксидазою, яка приєднує чотири електрони до O_2 і каталізує утворення двох молекул H_2O . У процесі одноелектронного відновлення утворюється ВР – супероксид-аніон-радикал – $O_2^{\cdot-}$ (СОР) [155].

Сам по собі СОР кисню не володіє високою реакційною здатністю, однак, за певних умов він є джерелом більш токсичних вільних радикалів. При нормальному метаболізмі ВР не накопичуються у клітинах. При підвищенні швидкості утворення радикалів, відповідно знижується можливість клітин нейтралізувати ВР, тому вони можуть акумулюватись. Стабільне збільшення ВР у клітинах і є умовою для окиснювального стресу [156].

Дослідження проводили на моделі, яка дозволяє оцінити АРА сполук за рівнем стабільних молекул адренохрому у порівнянні зі зразком без додавання

антиоксидантів (контрольний зразок), інтактним зразком (без генерації ВР), зразками з досліджуваними сполуками, та зразками зі стандартними для використаної моделі еталонами порівняння.

Дослідження АРА похідних хіноліну на моделі аутоокиснення адреналіну дала можливість провести пошук антиоксидантів супероксиданіону, що діяли на початкових етапах ВРО [157]. Дану методику реалізували шляхом впливу похідних 2(4)-гідразинохінолінів на інгібування СОР у реакції аутоокиснення адреналіну в адренохром у лужному середовищі, що призводить до утворення АФК [158]. В реакції зі сполуками, що мали високу АРА, аутоокиснення адреналіну відбувалось менше і утворювалась менша кількість продукту окиснення – адренохрому. Як референс-речовину використовували вже відомий антиоксидант – Цистеїн.

Так, на моделі інгібування $O_2^{\bullet-}$ всі досліджені сполуки виявили різного ступеня АРА (табл. 3.11). Приєднання фенілацетатного залишку до гідразиногрупи в 2-му положенні (сполука **10**) призвело до зниження антиоксидантних властивостей та активації прооксидантної дії.

Таблиця 3.11 – АРА похідних 2(4)-гідразинохіноліну (25 мкМ) *in vitro* (n = 3) за інгібуванням СОР ($O_2^{\bullet-}$) ($M \pm m$)

Сполука	Інтакт	Контроль	1	3	6	9	10	34	Цистеїн
Оптична щільність,	0,020	0,330	0,282	0,288	0,311	0,309	0,341	0,296	0,300
$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$	$\pm$
Δ	0,001	0,001	0,002*	0,001*	0,004*	0,002*	0,002*	0,003*	0,009
АРА, %	—	—	14,65	12,63	5,86	6,36	-3,28	10,4	13,0

Примітка: $P < 0,05$ у порівнянні з контролем.

Протилежну направленість спостерігали при введенні залишків карбонових кислот. Так, 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразино)етанова кислота (**1**) та 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразино)бутандіова кислота (**3**) проявили АО властивості на рівні препарату порівняння Цистеїну. Сполуки **6**, **9** та **34** за інгібуванням СОР поступались референс-сполуці (рис. 3.15).

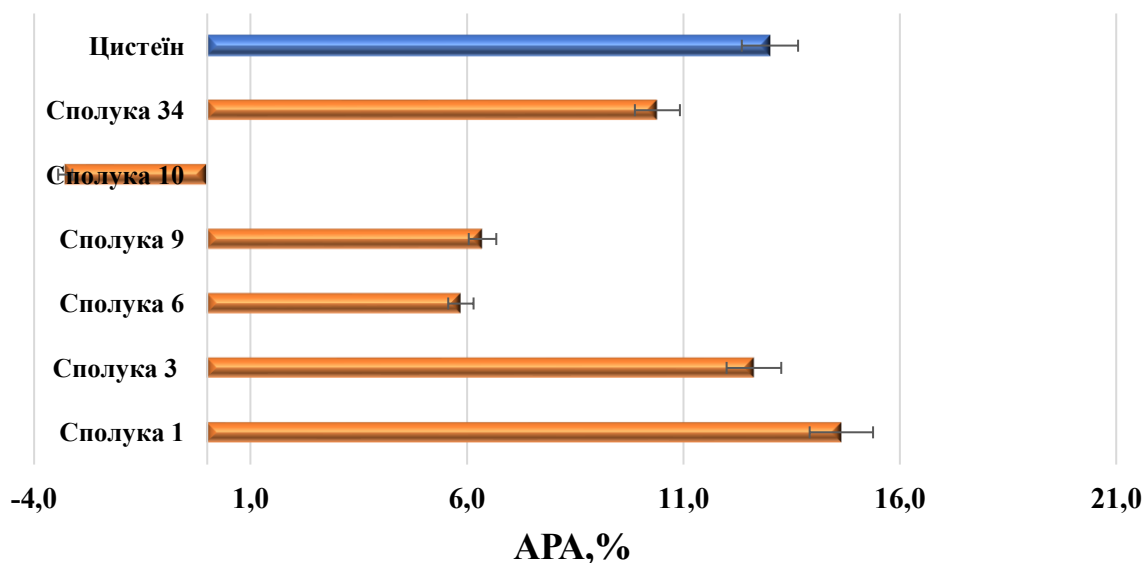


Рисунок 3.15 – АРА похідних 2(4)-гідразинохіноліну за інгібуванням СОР

3.6 Оцінка ступеня захисту сперматозоїдів чоловіків від H_2O_2 -індукованого оксидативного стресу

У сучасному суспільстві якість еякуляту у чоловіків знижується, і існуючі проблеми потребують ретельного вивчення. Одним із факторів, що сприяє зниженню чоловічої фертильності, є надмірне вироблення активних форм кисню (АФК) [159].

Присутність АФК у спермі в надлишковій кількості ініціює хворобливі стани сперматозоїдів, зумовлюючи окисне руйнування клітинних оболонок, білків і ДНК. Дані зміни були названі оксидативним (окиснювальним) стресом (ОС) сперматозоїдів [160]. Окиснювальний стрес в еякуляті створює дисбаланс між активними формами кисню і антиоксидантними речовинами. Відчуваючи нестачу ензимів АО захисту в своїй цитоплазмі, сперматозоїди не здатні відновити пошкодження, спричинене ОС. Але властивість сперматозоїдів до репарації робить їх унікальними в сприйнятливості до ОС [161, 162].

Значною мірою пошук нових високоефективних і малотоксичних цитопротекторів із селективними механізмами АО дії здійснюється на основі гетероциклів. Серед них важливе місце займає нітрогеновмісна гетероциклічна

хінолінова система (Q), похідні якої відомі як синтони в органічному синтезі та молекулярному дизайні, а також відомі як ефективні фізіологічно активні речовини (ФАР) [163]. У сучасному арсеналі лікувальні препарати на основі хіноліну посідають важливе місце і широко використовуються в медицині та ветеринарії [164, 165].

Гідразинохіноліни досить відомі як перспективні антиоксиданти. Дослідження АОА 2(4)-іліденгідразинопхідних хіноліну на 2-ох моделях ініціації вільнорадикального окиснення показало, що дія цих речовин значною мірою визначається природою іліденового фрагмента в залишку оксосполуки і меншою мірою залежить від замісників хінолінового циклу. Похідні хінолін-2-іл гідразонокарбонових кислот показали незначну АО дію, що пов'язують з їх низькою розчинністю в ліпофільних та гідрофільних середовищах. Вважають, що перехід до їх водорозчинних форм (солей) призводить до підвищення АО ефекту. Останнє пояснюють більш вираженою можливістю солей утворювати хелатні комплекси з металами змінної валентності – прооксидантами [166].

Для достовірного відбору перспективних БАР доцільно використовувати методами *in silico*, *in vitro* та *in vivo*. Ряд програмних розробок дають можливість встановити необхідність синтезу нових хімічних структур та комбінацій за допомогою проведення віртуального скринінгу (VS, дослідження *in silico*). Такі методики, як QSAR аналіз, PASS (група європейських країн), GUSAR (ФРН), TEST (США), AdmetSAR (КНР) дозволяють створити точні моделі «структура – дія», «структура – токсичність» та спрогнозувати ймовірну біодію сполук [61].

З точки зору хімічних перетворень і потенційних БАР, привертає увагу поєднання в одній молекулі синтонів гетероциклу (7-хлорохінолін, 2-метилхінолін) та залишку гідразонокарбонової кислоти з потенційно високими відновлюючими, антирадикальними та антиоксидантними властивостями. Такі сполуки донині залишаються мало дослідженими і становлять перспективу для створення нових біорегуляторів.

ОС є основним етіологічним фактором пошкодження генетичного матеріалу статевих клітин. ОС виникає в умовах зниження резервів антиоксидантної системи і супроводжується підвищенням вмісту АФК у спермі та збільшенням кількості молекул ДНК з порушеною структурою [167]. Підвищені рівні АФК були виявлені у 40 % досліджених зразків сперми, взятих у чоловіків зі зниженою фертильністю. До того ж сперматозоїди мають обмежені можливості для відновлення цілісності ДНК, а репарація може відбуватися тільки на деяких етапах сперматогенезу при достатній кількості ферментів АО захисту в своїй цитоплазмі. Така властивість чоловічих статевих клітин робить їх унікальними у сприйнятливості до ОС [168].

Для дослідження впливу ОС на концентрацію і рух сперматозоїдів було проведено досліди *in vitro*. ОС створювали в клітинах за допомогою 3-відсоткового пероксиду водню. Для захисту від ОС, викликаного перекисом водню, було використано (2-(хінолін-4-іл)гідразоно)карбонові кислоти та препарати порівняння, що володіють АО властивостями (АК та АЦЦ) і використовуються для захисту клітин від ОС. В основі дослідження лежить оцінка ступеню захисту сперматозоїдів чоловіків від H_2O_2 -індукованого ОС *in vitro* за допомогою (2-(хінолін-4-іл)гідразоно)карбонових кислот. Роботи в цьому напрямку серед даного класу сполук невідомі.

Результати, представлені на рис. 3.16, 3.17 та в додатку Г показують, що досліджені сполуки виявляють захисну дію щодо сперматозоїдів чоловіків. За такими показниками спермограми, як прогресивна рухливість, рухливість швидка і прогресивна, концентрація функціональних сперматозоїдів, в цілому, сполуки показали непоганий результат і знаходилися на рівні контролю. Речовини **17** (2-(2-(7-хлорохінолін-4-іл)гідразоно)етанова кислота), **32** (2-(2-(7-хлорохінолін-4-іл)гідразоно)пентандіова кислота) та **38** (натрію 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)пентадіоат) за показниками концентрації функціональних сперматозоїдів перевищували контроль, але поступалися препаратам порівняння АК та АЦЦ (рис. 3.16).

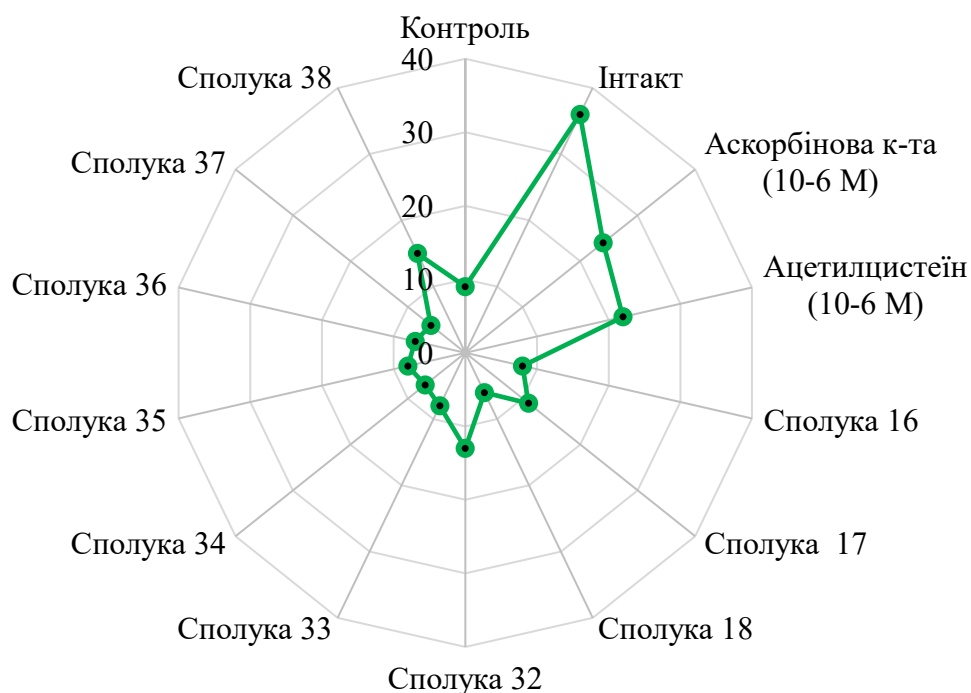


Рисунок 3.16 – Концентрація функціональних сперматозоїдів за дії (2-(хінолін-4-іл)гідразоно)карбонових кислот під час H_2O_2 -індукованого ОС *in vitro*

Відповідно до статистичних даних, 40 % безплідних шлюбів стикається з захворюванням, що має назву астенозооспермія – це стан, при якому знижується швидкість рухомих сперматозоїдів. Для встановлення діагнозу проводиться спермограма – аналіз еякуляту із дослідженням під мікроскопом. Кількість прогресивно рухливих та непрогресивних клітин вказується у відсотках. Діагноз «астенозооспермія» можна встановити, якщо рухомих сперматозоїдів менше 25%. Швидкість рухомих сперматозоїдів є одним із важливих факторів вдалого запліднення яйцеклітини, тому було досліджено вплив похідних гідразинохіноліну саме на цей показник.

Результати дослідження середньої швидкості рухомих сперматозоїдів свідчать, що сполуки **16** та **38**, що мають в структурі молекули залишок оцтової та пентандіової кислот, перевищували препарати порівняння. Дериват **16** (2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)етанова кислота) на 8 – 10% продемонстрував сильніший ефект, ніж препарат порівняння АЦЦ, а подвійна натрієва сіль 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)пентадіової кислоти (**38**) має перевагу над рівнем дії АК на 15% (рис. 3.17).

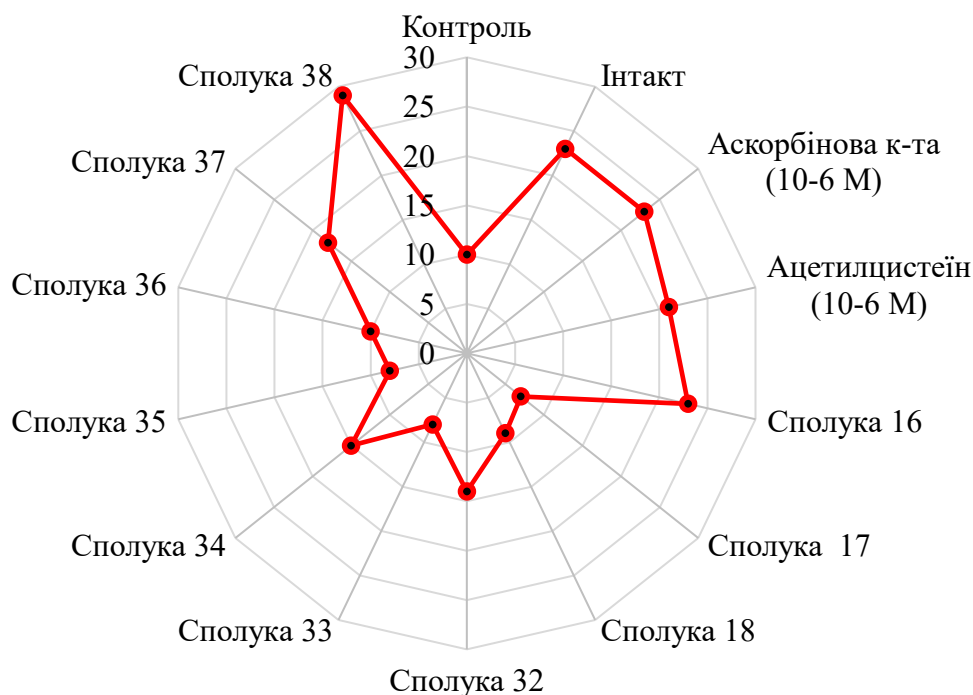


Рисунок 3.17 – Середня швидкість рухомих сперматозоїдів ((A+B), мкм/сек) за дії (2-(хінолін-4-іл)гідразано)карбонових кислот під час H₂O₂-індукованого ОС *in vitro*

Похідні (2-(хінолін-4-іл)гідразано)карбонових кислот за умов H₂O₂-індукованого ОС в цілому поступались препаратам порівняння АК та АЦЦ (рис. 3.16, 3.17).

3.7 Фагоцитарна активність у дослідях *in vitro*

Імунна система – це складна мережа, що складається з органів, тканин, спеціальних клітин і білків, які спільно функціонують для захисту організму від чужорідних вторгнень, таких як токсини, паразити та мікроби. Основні імунні фактори антиген-специфічної імунної відповіді включають Т-лімфоцити (такі як цитотоксичні Т-клітини, Т-супресорні клітини та Т-хелпери -клітини) та їхні цитокіни [169].

Скоординована взаємодія цих молекул та імунних клітин викликає імунну відповідь [170]. Ці імунні відповіді організму людини проти будь-якого

чужорідного антигену було розділено на дві взаємопов'язані підсистеми: вроджений імунітет, який опосередковує початковий захист від інфекцій, і адаптивний імунітет. Було виявлено, що останній розвивається поступово і спеціально проти вторгнення патогенів і характеризується наявністю клітинних ліній «пам'яті», які підсилюють реакцію на повторний вплив того самого антигену [171]. Основні клітинні компоненти вродженої імунної системи включають фагоцити, в тому числі нейтрофіли та макрофаги, які розпізнають і поглинають мікроби для внутрішньоклітинного вбивства.

Першою імунною відповіддю організму на вторгнення чужорідних антигенів, які проникають в організм у складі бактеріальних клітин, вірусних частинок або у вигляді високомолекулярного білка або полісахариду є фагоцитоз. Фагоцитозом називають активний біологічний процес захоплення та поглинання і розчинення клітиною частинок, видимих в мікроскоп. Фагоцитоз – це одна з найважливіших реакцій організму, що забезпечує природну опірність організму [173].

Нейтрофільні гранулоцити – один з видів лейкоцитів, що мають гранули всередині цитоплазми. При бактеріальних чи інфекційних хворобах нейтрофіли беруть участь у захисних реакціях організму людини та хребетних. Нейтрофіли перші клітини, які мігрують до місця збудника і за допомогою синтезу цитокінів залучають до цього місця інші імунокомпетентні клітини. Через кілька секунд після поглинання антигену та утворення фагосом, лізосоми зливаються з фагосомами. Завдяки невеликому об'єму фагосоми концентрація білків, виділених із гранул, може бути дуже високою. Цей механізм сприяє знищенню мікроорганізмів гранулоцитами, в процесі їх фагоцитозу не синтезується активний кисень. Кожний нейтрофіл здатний тільки до одного фагоцитарного циклу. Виконуючи свою основну функцію – фагоцитоз, нейтрофіли розчиняють дрібні частинки або клітини, і після їх руйнування гинуть [174].

Порушення фагоцитозу на різних фазах призводять до розвитку багатьох патологій. Фагоцитарна активність нейтрофілів крові є важливим діагностичним

критерієм та може використовуватися для оцінки імунокоригувальної дії ліків і розробки скринінгових тест-систем.

Оцінюючи дію нових похідних гідразінохіноліну на поглинальну функцію нейтрофілів периферичної крові, здатних до фагоцитозу *in vitro* серед досліджених хінолін-4-іл гідразонокарбонових кислот та їх солей, виявлено, що всі полуки виявляли біологічну активність щодо фагоцитозу. Це підтверджують результати вивчення імуотропної активності (додаток Д).

Досліджені сполуки продемонстрували фагоцитарну активність на рівні контролю, з невеликими коливаннями як в позитивному, так і в негативному напрямках. В порівнянні з контролем, позитивний вплив на загальну кількість нейтрофільних гранулоцитів, що беруть участь у процесі фагоцитозу виявили похідні 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)етанова кислота (**16**), натрію 2-(2-(7-хлорохінолін-4-іл)гідразоно)пентадіоат (**33**) та 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)бутандіова кислота (**34**) (рис. 3.18).

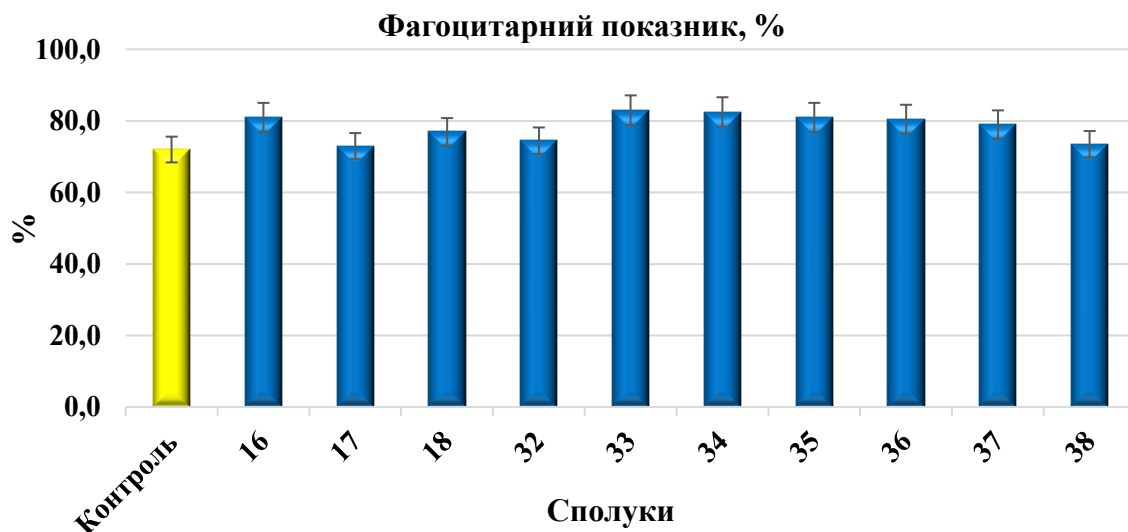


Рисунок 3.18 – Оцінка впливу похідних гідразінохіноліну на фагоцитарний показник

Фагоцитарна активність нейтрофілів, як і інших фагоцитів, відіграє важливу роль протягом запального процесу, що веде аж до регенерації пошкоджених тканин. Проте, зниження фагоцитарної функції нейтрофілів може викликати хронічні запальні процеси, які переходять з гомеостазу в

імунопатологічні процеси, підтримуючи, наприклад, алергічні або аутоімунні процеси внаслідок порушення здатності фагоцитів руйнувати та виводити з організму імунні комплекси. Фагоцитарне число є одним із важливих показників у комплексній оцінці і діагностиці імунодефіцитних станів при часто рецидивуючих гнійно-запальних процесах, алергічних, аутоімунних хворобах, післяопераційних ускладненнях та ін.

Фагоцитарне число при проведенні дослідження, не набуло кардинальних змін, лише сполуки **33** (натрію 2-(2-(7-хлорохінолін-4-іл)гідразано)пентадіоат) та **34** (2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразано)бутандіова кислота) проявили незначний стимулюючий ефект (рис. 3.19). В свою чергу, сполука **17** (2-(2-(7-хлорохінолін-4-іл)гідразано)етанова кислота) пригнічувала здатність нейтрофілів до фагоцитозу.

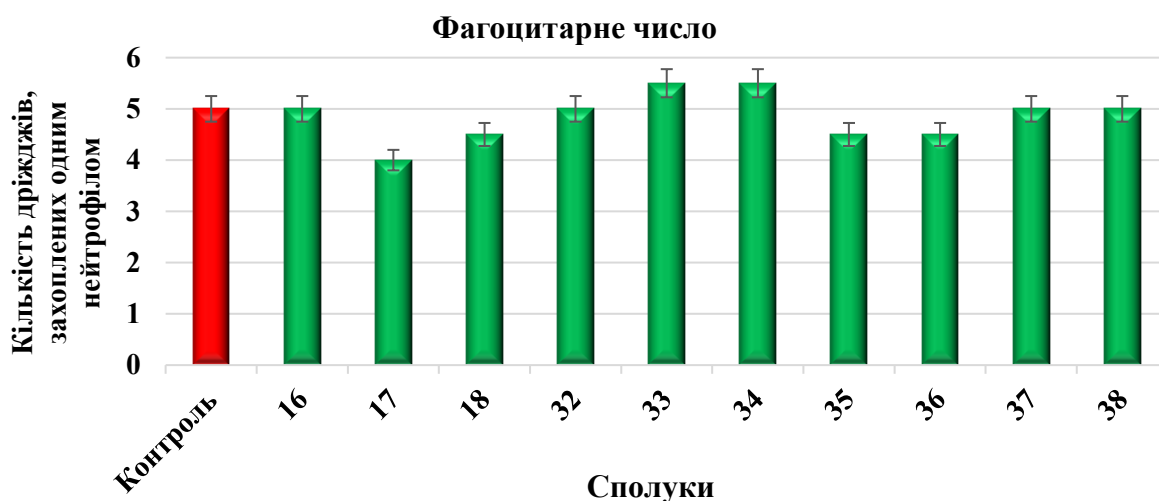
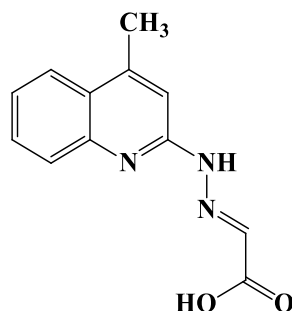


Рисунок 3.19 – Оцінка впливу похідних гідразинохіноліну на фагоцитарне число

Після проведених комплексних хеометричних та експериментальних досліджень БА 2(4)-гідразинопхідних хіноліну запропоновано дві високоактивні сполуки (hit-compounds) – 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразано)етанова кислота (**1**) з перспективною антиоксидантною активністю та 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразано)бутандіова кислота (**3**) з вираженою антибактеріальною дією (рис. 3.20).

Сполука 1

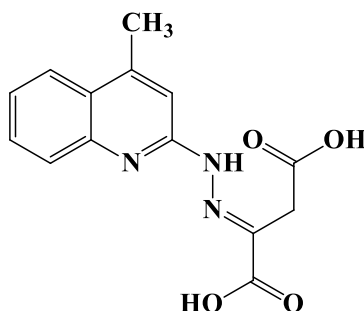


Mol. Wt. = 229,24

Clog P = 1,197

Log D (pH 7.2) = -1,14

Сполука 3



Mol. Wt. = 287,28

Clog P = 1,45

Log D (pH 7.2) = -3,35

Рисунок 3.20 – Структури активних сполук (hit-compounds)

За результатами роботи із вивчення БА опубліковано наступні роботи [58, 60, 84, 85, 86, 87, 121, 143, 175].

3.8 Молекулярний докінг найбільш активних сполук з антимікробною дією щодо *E. Coli* та *S. aureus*.

Молекулярний докінг стає все більш важливим інструментом для відкриття ліків. Підходи молекулярного докінгу можна використовувати для моделювання взаємодії між малими молекулами та білками на атомному рівні та для характеристики поведінки малих молекул у місці зв'язування білків-мішеней, а також, щоб з'ясувати фундаментальні біохімічні процеси. Процес стикування включає два основні етапи: прогнозування конформації ліганду та його положення та орієнтації в цих сайтах (зазвичай це називається позою) та оцінка афінності зв'язування. Знання розташування місця зв'язування перед процесами стикування значно підвищує ефективність стикування. У багатьох випадках сайт зв'язування дійсно відомий до того, як докінгують до нього ліганди [176].

Для підтвердження молекулярного докінгу була проведена процедура повторного докінгу. Молекулярне стикування метотрексату та активних центрів дигідрофолатредуктази (ДГФР) *S. aureus* і *E. coli* показало прогнозовану енергію зв'язування -9,0 ккал/моль і -8,7 ккал/моль. Середньоквадратичне значення для всіх атомів дорівнює 0,39 Å. На рис. 3.21 показано локалізацію метотрексату в активному центрі ДГФР *E. coli*.

Найбільш значущими амінокислотами, що утворюють активний центр, є LYS32, ARG52, ARG57, LEU28, ILE50, ASP27, ILE5, ILE94 і TYR100.

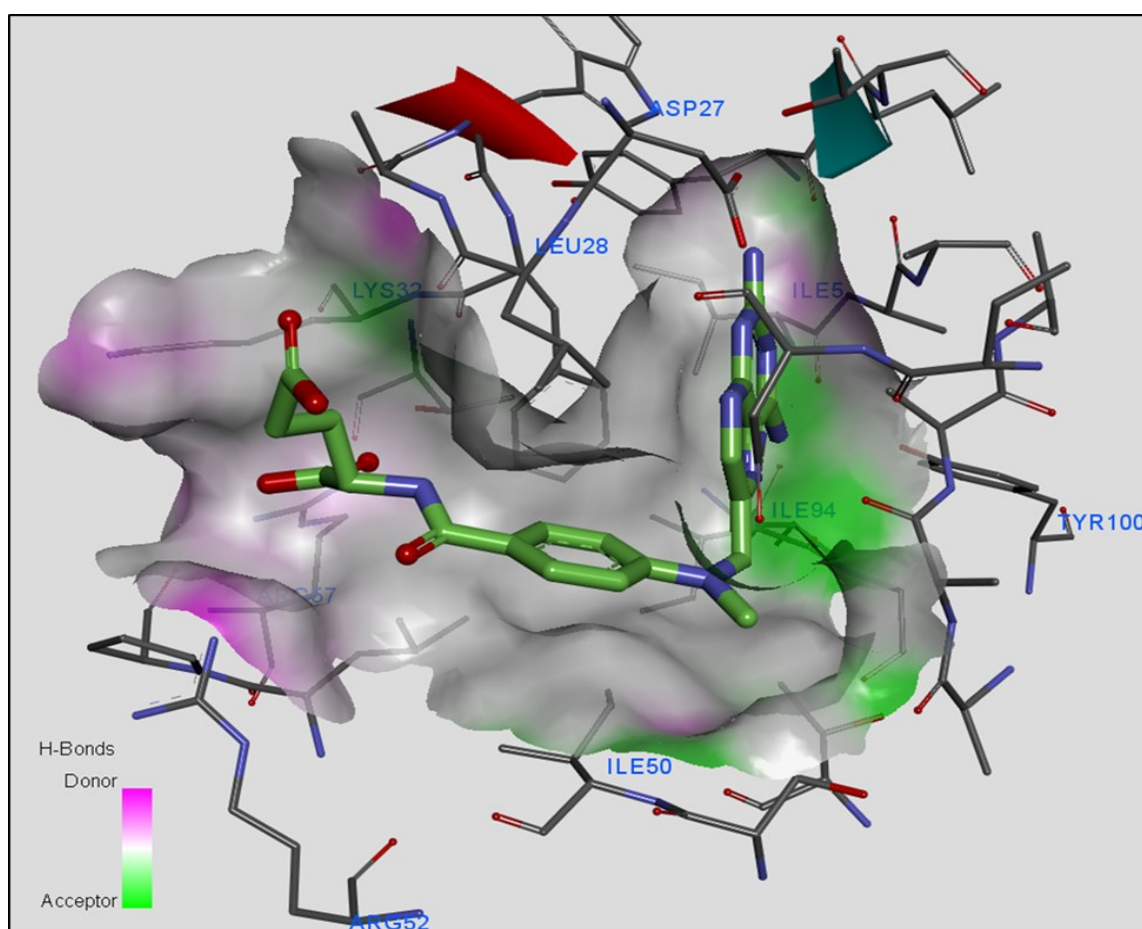


Рисунок 3.21 – Локалізація метотрексату в активному центрі ДГФР (1RG7); зелений – інгібітор метотрексат

Для аналізу особливостей взаємодії 2(4)-гідразинових похідних хіноліну з ДГФР був проведений молекулярний докінг. Результати стикування досліджуваних сполук наведені в таблиці 3.12.

Результати докінгу (табл. 3.12) показують утворення ліганд-білкових комплексів *S. aureus* ДГФР з розрахунковими енергіями зв'язування в діапазоні від -8,5 до -9,2 ккал/моль і *E. coli* ДГФР з енергією зв'язування від -8,4 до -9,4 ккал/моль.

Сполука **3** має найвищу спорідненість до зв'язування в обох випадках і становить від -9,2 до -9,4 ккал/моль. Генерація ліганд-білкових комплексів сполуками (**4, 5, 6, 9, 32, 30, 19**) супроводжується утворенням 2 – 4 водневих зв'язків.

Таблиця 3.12 – Основні фактори взаємодії ліганду з активним центром ДГФР

Сполука	ДГФР, <i>S. aureus</i>		ДГФР, <i>E. coli</i>	
	ΔG , ккал/моль	Водневі зв'язки	ΔG , ккал/моль	Водневі зв'язки
3	-9.2	2	-9.4	4
4	-8.6	1	-8.6	2
5	-8.7	2	-8.7	3
6	-8.8	2	-8.5	2
9	-8.6	2	-8.7	3
32	-8.9	1	-8.6	2
30	-8.6	2	-8.5	2
19	-8.5	1	-8.4	3
Метотрексат*	-9.1	4	-8.9	5

Примітка: * на основі результатів повторного стикування

Молекулярне стикування та міжмолекулярні взаємодії ліганду (**3**) представлені на рис. 3.22, 3.23.

Ліганд-білковий комплекс, що представлений на рис. 3.22 стабілізується 4 водневими зв'язками (2,06 – 2,86Å) з амінокислотами ARG52 і ARG57, двома електростатичними взаємодіями (1,96 – 2,12Å) з ARG52 і ARG57 і шістьма

гідрофобними взаємодіями ($3.89 - 5.33 \text{ \AA}$) з амінокислотними залишками ILE50 і LEU28.

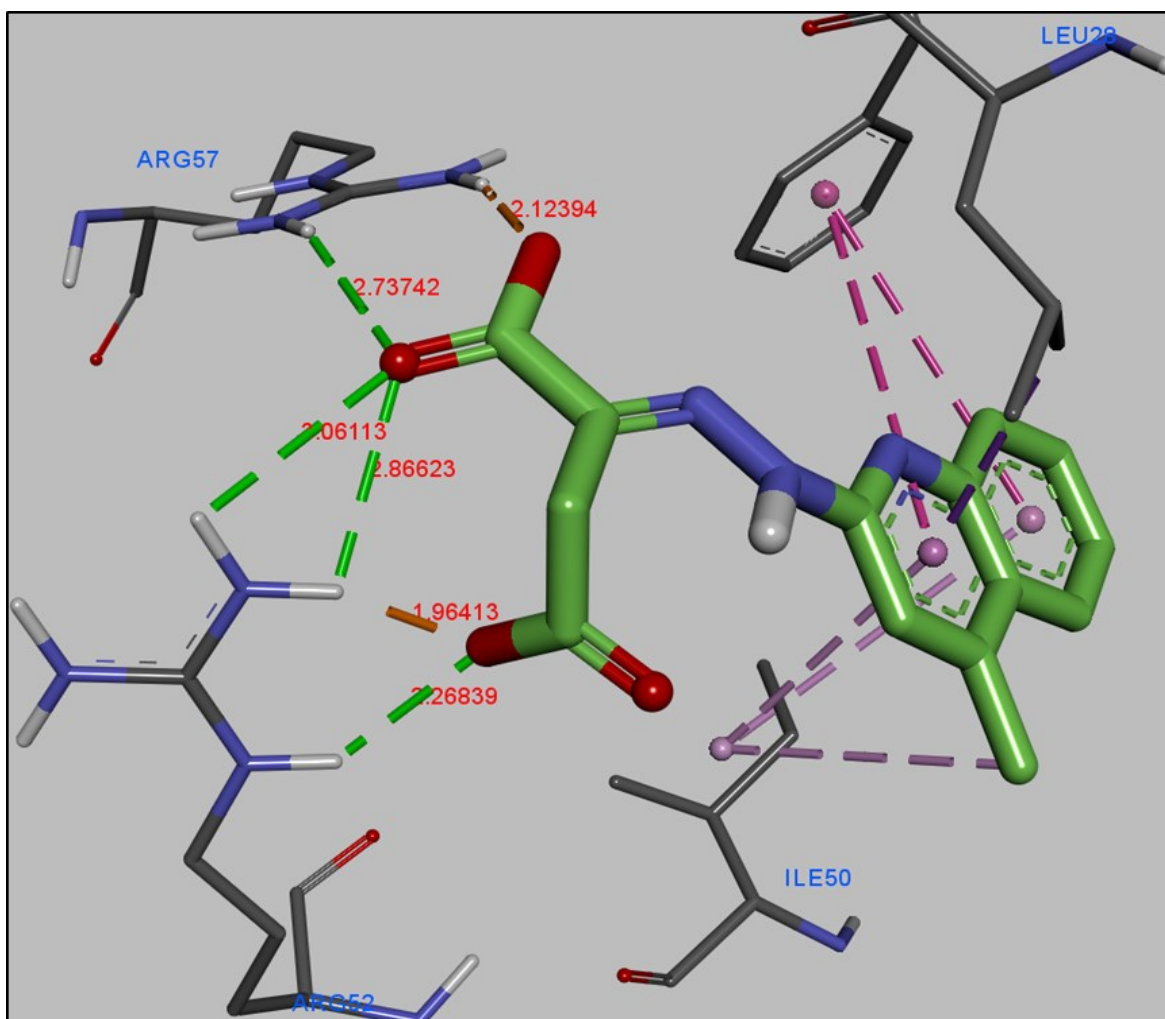


Рисунок 3.22 – Докінг ліганду **3** в активний центр ДГФР *E. coli*

Ліганд-білковий комплекс на рис. 3.23 стабілізується двома водневими зв'язками ($2,37 - 3,23 \text{ \AA}$) з амінокислотою ARG57 і сімома гідрофобними взаємодіями ($4,52 - 5,49 \text{ \AA}$) з амінокислотними залишками LEU28, ILE50, LEU20 і VAL31.

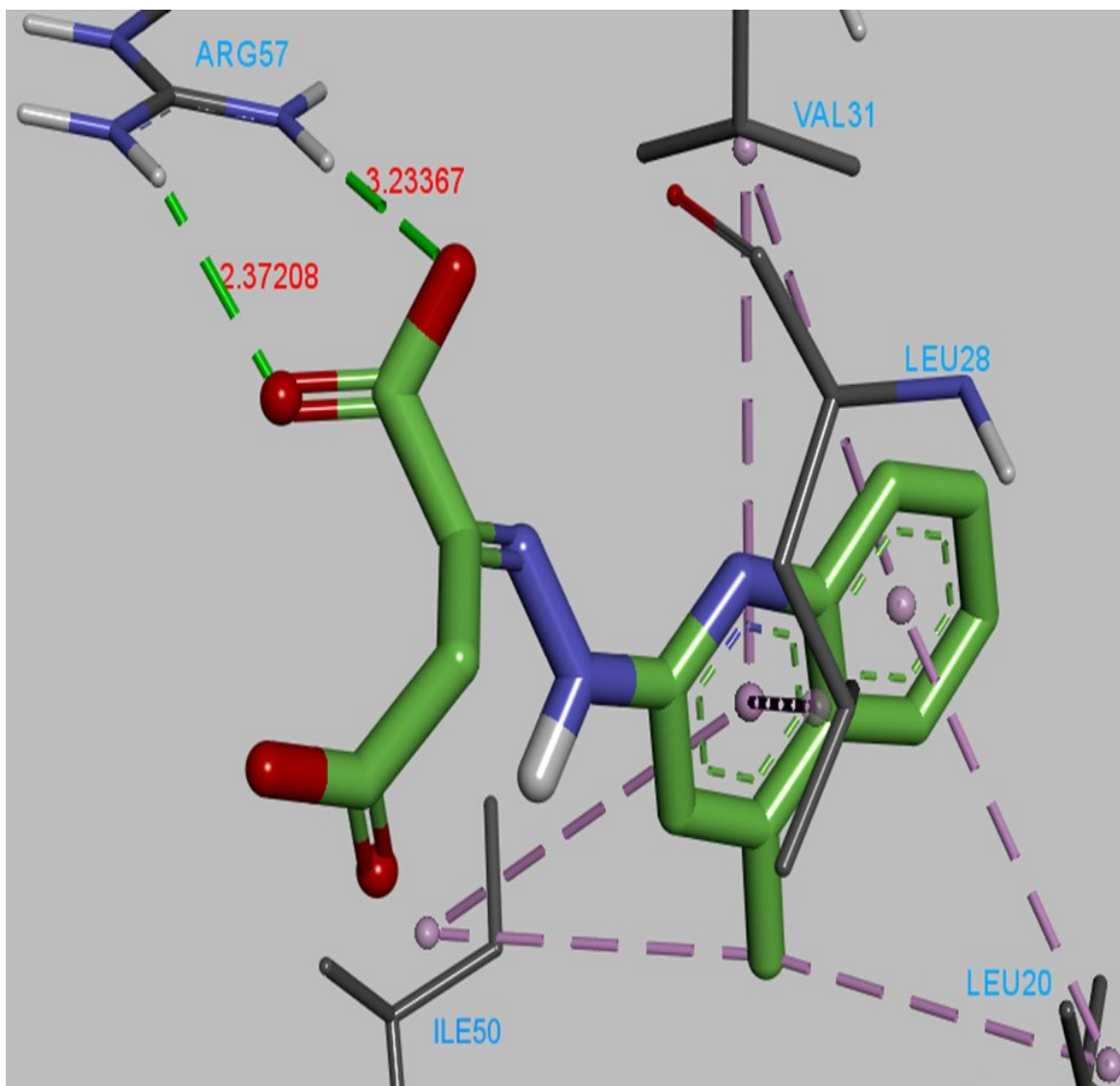


Рисунок 3.23 – Приєднання ліганду **3** до каталітичного домену ДГФР *S. Aureus*

Зв'язування лігандів **3**, **4**, **5**, **6**, **9**, **32**, **30**, **19** в активному центрі ДГФР подібне до інгібітора метотрексату. Найважливішими амінокислотами в комплексоутворенні є LYS32, ARG52 і ARG57. Гідрофобні взаємодії здійснюють амінокислоти LEU28, ILE50, LEU20 і VAL31.

Молекулярний докінг показав утворення ліганд-білкових комплексів з розрахованою енергією зв'язування в діапазоні від -8,4 до -9,4 ккал/моль. Амінокислоти LYS32, ARG52, ARG57, LEU28, ILE50, LEU20 і VAL31 відіграють ключову роль у формуванні ліганд-білкових комплексів. Висока афінність зв'язування сполуки **3** з активним центром ДГФР *S. aureus* та *E. coli*

(від -9,2 до -9,4 ккал/моль) узгоджується з отриманими експериментальними результатами. Через високу антибактеріальну активність досліджуваних 2(4)-гідразинопохідних хіноліну, включаючи активність проти антибіотикорезистентних ізолятів, ці сполуки можна розглядати як ефективні антибактеріальні засоби та сполуки-кандидати для участі в подальших дослідженнях.

3.9 Антирадикальна та антиоксидантна активність найбільш активних сполук у дослідях *in vitro*

Одним із важливих радикалів є нітроген (II) оксид ($\text{NO}\bullet$) з одним неспареним електроном. Нітроген (II) оксид також реагує з молекулярним Оксигеном і Нітрогеном з утворенням нітроген (IV) оксиду або нітроген (III) оксиду, токсичних окислювачів і нітروزуючих агентів [177]. Нітроген (II) оксид утворюється в біологічних тканинах за допомогою специфічних синтаз оксиду нітрогену, шляхом реакції H_2O_2 з аргініном або розпаду S-нітрозотіолів у присутності іонів металів [178]. Слід підкреслити, що $\text{NO}\bullet$ є універсальним регулятором метаболічних процесів у клітинах тварин та людини [179]. Нітроген (II) оксид бере участь у процесах нейротрансмісії, розслаблення гладкої мускулатури, розширення судин і регуляція артеріального тиску, експресія генів, захисні механізми, функція клітин і регуляція запальних та імунних механізмів, а також у патологічних процесах такі як нейродегенеративні розлади та хвороби серця [180].

Хімічна реакційна здатність $\text{NO}\bullet$ досить обмежена, і, отже, його пряма токсичність менша, ніж у АФК. Однак він реагує з $\text{O}_2\bullet^-$, утворюючи пероксинітрит-аніон ($\text{ONOO}\bullet^-$), дуже шкідливий вид для білків, ліпідів і ДНК [181]. Пероксинітрит-аніон дуже токсичний і може безпосередньо реагувати з CO_2 , утворюючи інші високореакційноздатні нітрозопероксокарбоксилати (ONOOCO_2^-) або пероксинітратну кислоту (ONOOH), які можуть піддаватися подальшому гомолізу з утворенням $\bullet\text{OH}$ і $\text{NO}_2\bullet$ або перегруповуватися з

утворенням NO_3 [182]. Пероксинітрит легко дифундує через клітинні мембрани та може окиснювати ліпіди, залишки метіоніну та тирозину в білках і ДНК до нітрогуаніну. Він діє як окисник подібно до гідроксильного радикалу. Залишки нітротирозину вважаються маркерами пошкодження клітин, викликаного пероксинітритом, і пов'язані зі старінням тканин. Пероксинітрит викликає пошкодження тканин і окислює ліпопротеїни низької щільності [183, 184].

Малоновий діальдегід (МДА) є одним із кінцевих продуктів перекисного окиснення поліненасичених жирних кислот у клітинах. Збільшення вільних радикалів викликає надмірне виробництво МДА. Рівень малонового діальдегіду широко відомий як маркер окиснювального стресу та антиоксидантного статусу у хворих осіб [185].

TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) є найпоширенішим методом визначення перекисного окиснення ліпідів, особливо завдяки його простоті та дешевизні. Як випливає з назви цього методу, він заснований на здатності малонового діальдегіду, який є одним із вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів, реагувати з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) в кислих умовах і при підвищенні температури утворюється рожевий комплекс МДА-(ТБК)₂. (рис. 3.24). МДА-(ТБК)₂ можна кількісно визначити спектрофотометрично при 532 нм [186].

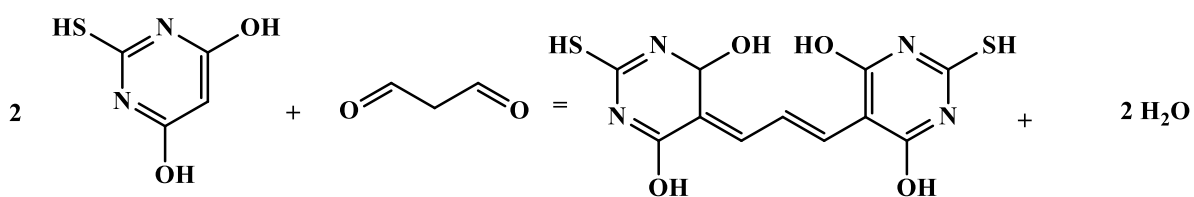


Рисунок 3.24 – Хромофор, отриманий шляхом конденсації МДА з ТБК

Майже на всіх етапах перебігу ВРО утворює продукти, які є результатом взаємодії ВР між собою, з низькомолекулярними речовинами та з біологічними макромолекулами [187].

Наслідки вільнорадикальних процесів проявляються як в біології так і в медицині. Вільні радикали накопичуються через дисбаланс між

антиоксидантами та окиснювачами, які пошкоджують макромолекули, такі як нуклеїнові кислоти, білки та ліпіди, викликаючи аномальну експресію генів, порушення активності рецепторів, проліферацію клітин, порушення імунітету, мутагенез, пошкодження тканин та різні захворювання [188]. Багато клінічних розладів були пов'язані з вільними радикалами, включаючи цукровий діабет, запальні захворювання, нейродегенеративні захворювання (хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона і Хантінгтона), латеральна аміотрофія і розсіяний склероз, рак (молочної залози, простати і легенів), серцево-судинні захворювання (атеросклероз і гіпертонія), катаракта, ревматоїдний артрит, астма та старіння [189, 190].

Враховуючи вищевикладене, результати комп'ютерного прогнозу «хімічна будова – біологічна активність» та результати дослідження АРА на моделі аутоокиснення адреналіну, для аргументації АОА синтезованих сполук було застосовано комплекс методів *in vitro*, що є тотожними розвитку ВР процесів у живому організмі.

У дослідженні використовували методи оцінки АОА сполук з різними механізмами ініціювання, субстратами окиснення та маркерними продуктами [191]:

- оцінка АОА (АРА) за інгібуванням $\text{NO}^\bullet$;
- дослідження АОА на моделі неферментативного ініціювання ВРО.

Дослідження проводили на моделях, які дозволяють оцінити АОА (АРА) сполук за рівнем молекул малонового діальдегіду – кінцевого продукту гідропероксидів ліпідів та інших метаболітів процесів ВРО. Порівняння проводили зі зразками в які не вносили антиоксидант (контрольна проба), інтактними зразками, зразками в які додавали досліджувані речовини та зі стандартними зразками еталонів порівняння.

3.9.1 Визначення антирадикальної активності за інгібуванням NO•-радикалу

Модель оцінки АРА гідразинопохідних хіноліну здійснювали шляхом визначення їх впливу на утворення NO•-радикалу [192]. NO•-радикал є необхідним для нормального функціонування багатьох органів, однак при деяких патологічних станах індукцйбельна NO-синтаза активується і утворюються великі кількості радикалів NO. Реакція NO радикалу з вільними перекисними радикалами супроводжується утворенням ONOO•, який є реакційноздатним і призводить до ушкодження окремих біологічних структур за рахунок їх нітрузування або окиснення. Більш того, при розкладанні ONOO• утворюється не менш токсичний радикал OH•. Враховуючи вищенаведені методи, які базуються на реєстрації інгібування активних форм нітроген (II) оксиду, є перспективними для визначення АРА певних БАР.

Результати дослідження АРА на моделі ініціації NO•-радикалу (рис. 3.25, додаток Е) показали, що найактивнішим дериватом виявилась 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)бутандіова кислота (**3**).

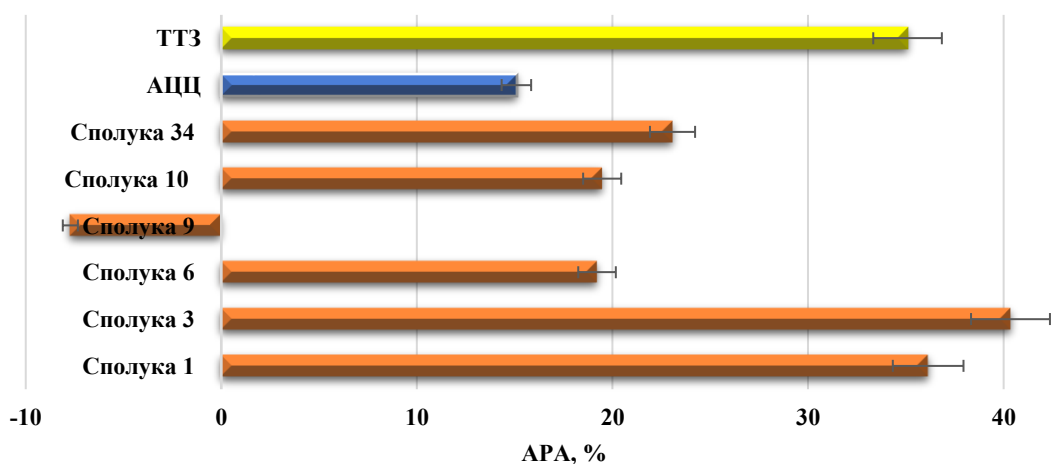


Рисунок 3.25 – АРА похідних 2(4)-гідразинохіноліну за інгібуванням монооксиду азоту (NO•)

Похідна **3** демонструвала перевагу над референс-препаратами АЦЦ та ТТЗ, на 25% та 15% відповідно. 4-метил-2-(2-(3,4,5-

триметоксибензиліден)гідразиніл)хінолін (9) проявив прооксидантні властивості (8%), що притаманно для сполук даного ряду з фенільною групою в якості радикалу.

АРА препарату порівняння АЦЦ поступалась сполукам 1, 6, 10, та 34, що дає підстави говорити про їх перспективність в якості антиоксидантів.

3.9.2 Визначення антиоксидантної активності

Модель неферментативного ініціювання ВРО характеризує антиоксидантні властивості речовин на одній із ланок ВРОЛ [193]. ВРО моделювали у суспензії яєчних ліпопротеїдів, додаючи сіль Fe (II).

На моделях НФІ активність визначали спектрофотометрично за вмістом кінцевого продукту окиснення ліпідів – МДА. Кількісна оцінка МДА широко використовується для визначення швидкості перебігу процесу перекисної окиснення і ступеня інгібування антиоксидантами. МДА при взаємодії з ТБК утворює забарвлений триметиновий комплекс (максимум поглинання при 532 нм) – це і є методом кількісної оцінки концентрації МДА [194].

Дані дослідження АOA на моделі ініціювання ВРО *in vitro* корелюють з даними комп'ютерного прогнозу. Серед 2-заміщених похідних найбільшу дію показав 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразино)етанової кислоти (1) (рис. 3.26), його властивості підтверджуються АРА (рис. 3.17 та рис. 3.14).

ВРО бере активну участь у знешкодженні клітин, що завершили свій життєвий цикл, запобігає злоякісному перетворенню клітин. Також, ВРО регулює проліферацію та диференціацію клітин, коригує бар'єрну здатність клітинних мембран, активує руйнування ушкоджених хромосом, забезпечує дію інсуліну, продукує внутрішньоклітинні бактерицидні та противірусні фактори, особливо у клітинному ядрі. Тому, ВРО необхідне для нормального функціонування організму.

При дослідженні АOA 2(4)-гідразинопохідних хіноліну на моделі неферментативного ініціювання ВРО сполуки 9 (4-метил-2-(2-(3,4,5-

триметоксибензиліден)гідразиніл)хінолін) та **10** (2,6-диметокси-4-((2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)метил)феніл)ацетат) проявляють прооксидантні властивості, максимум активності деривату **9** досягнув при 35% (рис. 3.26, додаток E). Такі ж властивості спостерігались і в дослідженні АРА, що ще раз підтверджує здатність даних сполук до активації окиснення вільних радикалів.

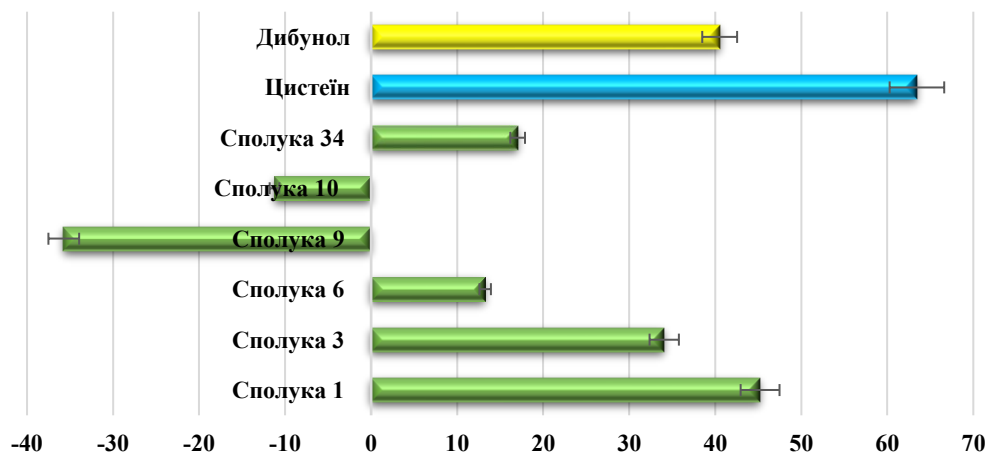


Рисунок 3.26 – АOA похідних хіноліну на моделі НФІ ВРО

Проаналізувавши дані АРА та АOA за всіма моделями дослідження, можна зробити висновок про здатність 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)етанової кислоти (сполука **1**) інгібувати ВРО. В дослідженнях дана похідна проявила ефективний вплив на зменшення швидкості реакцій окиснення вільних радикалів. Результати дослідження АOA показали, що Цистеїн, АЦЦ, ТТЗ та Дибунол, які були використані як референс-препарати, поступались своїми властивостями 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)етановій кислоті. Це дає підстави для подальших досліджень сполуки **1** та перспективність її використання в якості потужного антиоксиданта.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі узагальнені теоретичні дані, а також результати комплексних віртуальних (*in silico*) та експериментальних біологічних досліджень (*in vitro* та *in vivo*), що дозволили визначити шляхи пошуку ефективних біорегуляторів серед 2(4)-гідразинопохідних хіноліну. В результаті проведених досліджень знайдено сполуки-лідери, що виявляють перспективні антиоксидантні та протимікробні властивості.

Під час виконання дисертаційної роботи досягнута мета та виконані всі поставлені завдання.

1. Розроблено комбінаторну бібліотеку, що містить 154 сполуки, серед яких 31 похідна 2-гідразинохіноліну та 123 похідні 4-гідразинохіноліну.

2. Проведено хеометричні дослідження (PASS-прогноз, TEST-прогноз, SAR та QSAR-аналіз) 2(4)-гідразинопохідних хіноліну як потенційних біорегуляторів. Виходячи з результатів *in silico* досліджень здійснено планування наукового експерименту. Відібрано найбільш перспективні масиви сполук для подальших біологічних випробувань, експериментально досліджено 46 сполук даного ряду.

3. Досліджено 2(4)-гідразинопохідні хіноліну як біорегулятори, що виявляють антибактеріальну активність. Серед усіх досліджуваних сполук 2-гідразинопохідні хіноліну показали більшу антибактеріальну активність ніж похідні 4-гідразинохіноліну, а збільшення карбонового ланцюга знижує антибактеріальні властивості сполук. Найбільш перспективною серед похідних в умовах експерименту виявилась 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)бутандіова кислота, яка утримує діаметр зони бактеріального інгібування на рівні 30 мм. Дану сполуку рекомендовано для подальших скринінгових досліджень протибактеріальної дії.

4. Виявлено, що серед дериватів 2(4)-гідразинохіноліну краща рістстимулювальна активність проявляється 4-гідразинопохідних хіноліну, а саме у двохосновних кислотах. Найбільш перспективним препаратом-цитокіном

є 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіова кислота. Перехід її дії від рїстстимулювальної до цитотоксичної відбувається приблизно при концентрації 200 мкг/мл.

5. З'ясовано, що гостра токсичність похідних 2(4)-гідразинохіноліну залежить як від природи замісників у хіноліновому гетероциклі, так і від залишку карбонової кислоти, та знаходиться у діапазоні 52,5 – 995 мг/кг, що дозволяє віднести їх до класу помірнотоксичних та малотоксичних сполук. Отримані дані свідчать про зростання токсичності в ряду $H < K < Na$, що ми пов'язуємо зі зростанням розчинності у вищезгаданих сполуках. Також, токсична дія залежить від довжини карбонового ланцюга в залишку кислоти, так найбільш токсична етанова кислота, яка за класифікацією К.К. Сидорова (11 – 100 мг/кг) відноситься до помірно токсичних сполук. Далі з подовженням карбонового ланцюга токсичність зменшується в ряду 2-пропанова, 2-бутандіова, 2-пентандіова. Встановлено, що 2-гідразинопохідні хіноліну більш токсичні, ніж їх 4-гідразиноаналоги хіноліну. Виключенням стали тільки хіноліл-2(4)-гідразони піридоксалю, які володіють приблизно однаковою токсичністю.

6. Показано, що найбільш активним антиоксидантом серед досліджених речовин є 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)етанова кислота, яка за дією перевищує референс-препарати. Встановлено, що в процесі вільнорадикального окиснення даний дериват набуває властивостей «пастки» супероксид-аніону, перехоплює гідроксил-радикал, знижує рівень пероксидів і гальмує утворення монооксиду азоту. Приєднання фенілацетатного залишку до гідразоногрупи в 2-му положенні призвело до зниження антиоксидантних властивостей та активації прооксидантної дії.

7. Досліджено ступінь захисту похідних 2-(2-(хінолін-4-іл)гідразоно)карбонових кислот щодо сперматозоїдів чоловіків в умовах H_2O_2 -індукованого оксидативного стресу, оцінено основні показники фертильності сперми (концентрація, рух). Результати дослідження середньої швидкості

рухомих сперматозоїдів свідчать, що сполуки, що мають в структурі молекули залишок оцтової та пентандіової кислот, перевищували препарати порівняння.

Встановлено, що похідні 2-(2-(хінолін-4-іл)гідразоно)карбонових кислот проявляють сприятливі антиоксидантні властивості і є перспективними протекторами сперматозоїдів в умовах ОС.

8. Вперше проведено експериментальне дослідження *in vitro* впливу похідних хіноліну на фагоцитарну активність та встановлено, що 4-гідразинопохідні хіноліну, які в якості радикалу мають залишок дикарбонової кислоти є кращими стимуляторами фагоцитозу в порівнянні зі сполуками із залишок монокарбонової кислоти в якості радикалу. Стимулювальний вплив (9 – 11%) на поглинальну функцію нейтрофілів периферичної крові, здатних до фагоцитозу виявили похідні 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)етанова кислота, натрію 2-(2-(7-хлорохінолін-4-іл)гідразоно)пентадіоат та 2-(2-(2-метилхінолін-4-іл)гідразоно)бутандіова кислота.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Chen, Y.-L.; Fang, K.-C.; Sheu, J.-Y.; Hsu, S.-L.; Tzeng, C.-C. Synthesis and Antibacterial Evaluation of Certain Quinolone Derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry* **2001**, 44 (14). <https://doi.org/10.1021/jm0100335>.
2. Roma, G.; Di Braccio, M.; Grossi, G.; Mattioli, F.; Ghia, M. 1,8-Naphthyridines IV. 9-Substituted N,N-Dialkyl-5-(Alkylamino or Cycloalkylamino) [1,2,4]Triazolo[4,3-a][1,8]Naphthyridine-6-Carboxamides, New Compounds with Anti-Aggressive and Potent Anti-Inflammatory Activities. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2000**, 35 (11). [https://doi.org/10.1016/s0223-5234\(00\)01175-2](https://doi.org/10.1016/s0223-5234(00)01175-2).
3. Dillard, R. D.; Pavey, D. E.; Benslay, D. N. Synthesis and Antiinflammatory Activity of Some 2,2-Dimethyl-1,2-Dihydroquinolines. *Journal of Medicinal Chemistry* **1973**, 16 (3). <https://doi.org/10.1021/jm00261a019>.
4. Davis, S. E.; Rauckman, B. S.; Chan, J. H.; Roth, B. 2,4-Diamino-5-Benzylpyrimidines and Analogs as Antibacterial Agents. 11. Quinolylmethyl Analogs with Basic Substituents Conveying Specificity. *Journal of Medicinal Chemistry* **1989**, 32 (8). <https://doi.org/10.1021/jm00128a041>.
5. Jones, C. P.; Anderson, K. W.; Buchwald, S. L. Sequential Cu-Catalyzed Amidation-Base-Mediated Camps Cyclization: A Two-Step Synthesis of 2-Aryl-4-Quinolones from O-Halophenones. *The Journal of Organic Chemistry* **2007**, 72 (21). <https://doi.org/10.1021/jo701384n>.
6. Kumar, A.; Salahuddin; Mazumder, A.; Yar, M. S.; Kumar, R.; Ahsan, M. J. The Synthesis and Anticancer Potentials of Quinoline Analogues: A Review of Literature. *Mini-Reviews in Organic Chemistry* **2021**, 18 (6). <https://doi.org/10.2174/1570193x17999201012182001>.
7. Sinha, R. K. Ab Initio and NBO Studies of Methyl Internal Rotation in 1-Methyl-2(1H)-Quinolinone: Effect of Aromatic Substitution to 1-Methyl-2(1H)-Pyridone. *Journal of Molecular Modeling* **2020**, 26 (5). <https://doi.org/10.1007/s00894-020-04358-9>.

8. Li, S.; Hu, L.; Li, J.; Zhu, J.; Zeng, F.; Huang, Q.; Qiu, L.; Du, R.; Cao, R. Design, Synthesis, Structure-Activity Relationships and Mechanism of Action of New Quinoline Derivatives as Potential Antitumor Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2019**, *162*. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.11.048>.
9. Ping F. W; Keong C. C; Bandyopadhyay A. Effects of Acute Supplementation of Panax Ginseng on Endurance Running in a Hot & Humid Environment. *The Indian journal of medical research* **2011**, *133* (1).
10. Грищук Л.В. Синтез 2,3,4,6 – заміщених хінолінів та їх біологічні властивості. *Вісник ОНУ*. 2007. Том 12, №2.
11. Eckstein, O. Ueber Chinolin-Chlorhydrat Und Die Einwirkung von Säurechloriden Auf Chinolin. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1906**, *39* (2). <https://doi.org/10.1002/cber.190603902173>.
12. Бражко , О. Біологічна активність похідних 2-метил(феніл)заміщених (хінолін-4-ілтіо)карбонових кислот . Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук, **2016**. http://www.bpci.kiev.ua/rada/diss/Brazhko/Brazhko_diss.pdf.
13. Янченко, В. О.; Демченко, А. М.; Смольський, О. С. *Основи хімії гетероциклічних сполук*; Чернігівський національний педагогічний університет імені Т.Г. Шевченка: Чернігів, **2010**. <http://erpub.chnpu.edu.ua:8080/jspui/bitstream/123456789/14/1/Гетероцикли.pdf>.
14. Aguiar, A. C. C.; Murce, E.; Cortopassi, W. A.; Pimentel, A. S.; Almeida, M. M. F. S.; Barros, D. C. S.; Guedes, J. S.; Meneghetti, M. R.; Krettli, A. U. Chloroquine Analogs as Antimalarial Candidates with Potent in Vitro and in Vivo Activity. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* **2018**, *8* (3). <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2018.10.002>.
15. Schrezenmeier, E.; Dörner, T. Mechanisms of Action of Hydroxychloroquine and Chloroquine: Implications for Rheumatology. *Nature Reviews. Rheumatology* **2020**, *16* (3). <https://doi.org/10.1038/s41584-020-0372-x>.
16. Colson, P.; Rolain, J.-M.; Lagier, J.-C.; Brouqui, P.; Raoult, D. Chloroquine and Hydroxychloroquine as Available Weapons to Fight COVID-19.

<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105932>.

17. Pham, T. D. M.; Ziora, Z. M.; Blaskovich, M. A. T. Quinolone Antibiotics. *MedChemComm* **2019**, *10*. <https://doi.org/10.1039/c9md00120d>.
18. Sopková-de Oliveira Santos, J.; Verhaeghe, P.; Lohier, J.-F.; Rathelot, P.; Vanelle, P.; Rault, S. Quinoline Derivatives: Potential Antiparasitic and Antiviral Agents. *Acta Crystallographica Section C Crystal Structure Communications* **2007**, *63* (11). <https://doi.org/10.1107/s0108270107046550>.
19. Borsoi, A. F.; Paz, J. D.; Abbadi, B. L.; Macchi, F. S.; Sperotto, N.; Pissinate, K.; Rambo, R. S.; Ramos, A. S.; Machado, D.; Viveiros, M.; Bizarro, C. V.; Basso, L. A.; Machado, P. Design, Synthesis, and Evaluation of New 2-(Quinoline-4-Yloxy)Acetamide-Based Antituberculosis Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* **2020**, *192*. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112179>.
20. Taha, M.; Sultan, S.; Imran, S.; Rahim, F.; Zaman, K.; Wadood, A.; Ur Rehman, A.; Uddin, N.; Mohammed Khan, K. Synthesis of Quinoline Derivatives as Diabetic II Inhibitors and Molecular Docking Studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2019**, *27* (18). <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.07.035>.
21. Gao, P.; Wang, L.; Zhao, L.; Zhang, Q.; Zeng, K.; Zhao, M.; Jiang, Y.; Tu, P.; Guo, X. Anti-Inflammatory Quinoline Alkaloids from the Root Bark of *Dictamnus Dasycarpus*. *Phytochemistry* **2020**, *172*. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112260>.
22. Aly, A. A.; Mohamed, A. H.; Ramadan, M. Synthesis and Colon Anticancer Activity of Some Novel Thiazole/-2-Quinolone Derivatives. *Journal of Molecular Structure* **2020**, *1207*. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.127798>.
23. Sloboda, A. E.; Powell, D.; Poletto, J. F.; Pickett, W. C.; Gibbons, J. J.; Jr, Bell, D. H.; Oronsky, A. L.; Kerwar, S. S. Antiinflammatory and Antiarthritic Properties of a Substituted Quinoline Carboxylic Acid: CL 306,293. *The Journal of rheumatology* **1991**, *18* (6).
24. Boteva, A. A.; Fefilova, I. V.; Triandafilova, G. A.; Maslova, V. V.; Solodnikov, S. Yu.; Krasnykh, O. P. Synthesis and Analgesic Activity of [B]-

Annelated 4-Quinolones. *Pharmaceutical Chemistry Journal* **2019**, 53 (7).
<https://doi.org/10.1007/s11094-019-02048-2>.

25. Abou-Dobara, M. I.; Omar, N. F.; Diab, M. A.; El-Sonbati, A. Z.; Morgan, Sh. M.; Salem, O. L.; Eldesoky, A. M. Polymer Complexes. LXXV. Characterization of Quinoline Polymer Complexes as Potential Bio-Active and Anti-Corrosion Agents. *Materials Science and Engineering: C* **2019**, 103.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.05.012>.

26. Nalin Abeydeera; Benin, B. M.; Mudarmah, K. I.; Pant, B. D.; Chen, G.-Y.; Woo Shik Shin; Kim, M.; Huang, S. D. Harnessing the Dual Antimicrobial Mechanism of Action with Fe(8-Hydroxyquinoline)₃ to Develop a Topical Ointment for Mupirocin-Resistant MRSA Infections. *Antibiotics* **2023**, 12 (5).
<https://doi.org/10.3390/antibiotics12050886>.

27. Verma, S.; Lal, S.; Narang, R.; Sudhakar, K. Quinoline Hydrazone/Hydrazone Derivatives: Recent Insights on Antibacterial Activity and Mechanism of Action. *ChemMedChem* **2023**.
<https://doi.org/10.1002/cmdc.202200571>.

28. T G, S.; Subramanian, S.; Eswaran, S. Design, Synthesis and Study of Antibacterial and Antitubercular Activity of Quinoline Hydrazone Hybrids. *Heterocyclic Communications* **2020**, 26 (1). <https://doi.org/10.1515/hc-2020-0109>.

29. Elebiju, O. F.; Ajani, O. O.; Oduselu, G. O.; Ogunnupebi, T. A.; Adebiyi, E. Recent Advances in Functionalized Quinoline Scaffolds and Hybrids—Exceptional Pharmacophore in Therapeutic Medicine. *Frontiers in Chemistry* **2023**, 10.
<https://doi.org/10.3389/fchem.2022.1074331>.

30. Celik, I.; Erol, M.; Puskullu, M. O.; Uzunhisarcikli, E.; Ince, U.; Kuyucuklu, G.; Suzen, S. *In Vitro* and *in Silico* Studies of Quinoline-2-Carbaldehyde Hydrazone Derivatives as Potent Antimicrobial Agents. *Polycyclic Aromatic Compounds* **2020**, 42 (4). <https://doi.org/10.1080/10406638.2020.1821230>.

31. Suvarapu, L. N.; Seo, Y. K.; Baek, S.-O.; Ammireddy, V. R. Review on Analytical and Biological Applications of Hydrazones and Their Metal Complexes. *E-Journal of Chemistry* **2012**, 9 (3). <https://doi.org/10.1155/2012/534617>.

32. Lidak, M. Yu.; Sukhova, N. M. A New Method for Obtaining Derivatives of 4-[N, N-Bis(2-Chloroethyl)Hydrazino]-Quinoline. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* **1972**, 5 (3). <https://doi.org/10.1007/bf00471172>.
33. Savini, L.; Chiasserini, L.; Gaeta, A.; Pellerano, C. Synthesis and Anti-Tubercular Evaluation of 4-Quinolylhydrazones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2002**, 10 (7). [https://doi.org/10.1016/s0968-0896\(02\)00071-8](https://doi.org/10.1016/s0968-0896(02)00071-8).
34. Bartolucci, C.; Cellai, L.; Filippo, P. D.; Brizzi, V.; Pellerano, C.; Savini, L.; Benedetto, A.; Elia, G. Quinolinehydrazones as Inhibitors of Retroviral Reverse Transcriptase. *Farmaco* **1992**, 47 (6).
35. Duval, A. R.; Carvalho, P. H.; Soares, M. C.; Gouvêa, D. P.; Siqueira, G. M.; Lund, R. G.; Cunico, W. 7-Chloroquinolin-4-Yl Arylhydrazone Derivatives: Synthesis and Antifungal Activity. *The Scientific World JOURNAL* **2011**, 11. <https://doi.org/10.1100/tsw.2011.141>.
36. Бражко О.А.; Омелянчик Л.О.; Коваленко Д.С.; Завгородній М.П. Біологічна активність похідних 2- і 4-гідразинохінолінів. *Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки* **2004**, 2.
37. Duval, A. R.; Carvalho, P. H.; Soares, M. C.; Gouvêa, D. P.; Siqueira, G. M.; Lund, R. G.; Cunico, W. 7-Chloroquinolin-4-Yl Arylhydrazone Derivatives: Synthesis and Antifungal Activity. *The Scientific World JOURNAL* **2011**, 11. <https://doi.org/10.1100/tsw.2011.141>.
38. Fattorusso, C.; Campiani, G.; Kukreja, G.; Persico, M.; Butini, S.; Romano, M. P.; Altarelli, M.; Ros, S.; Brindisi, M.; Savini, L.; Novellino, E.; Nacci, V.; Fattorusso, E.; Parapini, S.; Basilico, N.; Taramelli, D.; Yardley, V.; Croft, S.; Borriello, M.; Gemma, S. Design, Synthesis, and Structure–Activity Relationship Studies of 4-Quinoliny- and 9-Acrydinyldhydrazones as Potent Antimalarial Agents. *Journal of Medicinal Chemistry* **2008**, 51 (5). <https://doi.org/10.1021/jm7012375>.
39. Ferreira, M. de L.; Gonçalves, R. S. B.; Cardoso, L. N. de F.; Kaiser, C. R.; Candéa, A. L. P.; Henriques, M. das G. M. de O.; Lourenço, M. C. S.; Bezerra, F. A. F. M.; de Souza, M. V. N. Synthesis and Antitubercular Activity of Heteroaromatic

Isonicotinoyl and 7-Chloro-4-Quinolinyll Hydrazone Derivatives. *The Scientific World Journal* **2010**, *10*. <https://doi.org/10.1100/tsw.2010.124>.

40. Gemma, S.; Savini, L.; Altarelli, M.; Tripaldi, P.; Chiasserini, L.; Coccone, S. S.; Kumar, V.; Camodeca, C.; Campiani, G.; Novellino, E.; Clarizio, S.; Delogu, G.; Butini, S. Development of Antitubercular Compounds Based on a 4-Quinolylhydrazone Scaffold. Further Structure–Activity Relationship Studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2009**, *17* (16). <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.06.051>.

41. Thomas, J.; Berkoff, C. E.; Flagg, W. B.; Gallo, J. J.; Haff, R. F.; Pinto, C. A.; Pellerano, C.; Savini, L. Cheminform Abstract: Antiviral Quinolinedhydrazones, A Modified Free-Wilson Analysis. *Chemischer Informationsdienst* **1975**, *6* (26). <https://doi.org/10.1002/chin.197526269>.

42. Alam, M.; Verma, G.; Shaquiquzzaman, M.; Marella, A.; Akhtar, M.; Ali, M. A Review Exploring Biological Activities of Hydrazones. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences* **2014**, *6* (2), 69. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.129170>.

43. Gombar, V. Structure-Activity Relationship Studies of Antiviral N-Quinoln-4-Yl-N'-Benzylidenehydrazine Derivatives by Discriminant Analysis. *Arzneimittelforschung*. **1985**, *35* (11).

44. Aggarwal, S.; Paliwal, D.; Kaushik, D.; Gupta, G. K.; Kumar, A. Synthesis, Antimalarial Evaluation and SAR Study of Some 1,3,5-Trisubstituted Pyrazoline Derivatives. *Letters in Organic Chemistry* **2019**, *16* (10). <https://doi.org/10.2174/1570178616666190212145754>.

45. Singh, M.; Raghav, N. Biological Activities of Hydrazones: A Review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **2011**, *3* (4).

46. Rytsky O.F., Kovalenko D.S., Omeljanchik L.O., Brazhko O.A., Kornet M.M. Researching of biological activity of some derivatives of quinoline. Bulletin of Zaporizhzhya National University: *Collection of scientific articles. Physical and mathematical sciences. Biological Sciences*, **2005**, *1*.

47. Бражко, О. А.; Рильський, О. Ф.; Завгородній, М. П.; Коваленко, Д. С. Пошук біологічно активних речовин з антимікробною активністю серед 4-N-

і-S-похідних хінольдину . *Питання біоіндикації та екології* **2002**, 7 (1).

48. Сухова, Н. М.; Медак, М. Ю.; Зідерманс, А. А. 44. Синтез, протипухлинна та протимікробна активність N-заміщених нітрофурилвініл-4-гідразинохінолінів. *Хіміко-фармацевтичний журнал* **1989**, 10.

49. Singh, S.; Kaur, G.; Mangla, V.; Gupta, M. K. Quinoline and Quinolones: Promising Scaffolds for Future Antimycobacterial Agents. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* **2014**, 30 (3).
<https://doi.org/10.3109/14756366.2014.930454>.

50. Chitre, T. S.; Asgaonkar, K. D.; Vikhe, A. B.; Patil, S. M.; Garud, D. R.; Khedkar, V. M.; Sarkar, D.; Nawale, L. U.; Yeware, A. In Silico Studies, Synthesis and Antitubercular Activity of Some Novel Quinoline - Azitidinone Derivatives. *Current Computer-Aided Drug Design* **2021**, 17 (1).
<https://doi.org/10.2174/1573409916666200129095952>.

51. Ferreira, M. de L.; Gonçalves, R. S. B.; Cardoso, L. N. de F.; Kaiser, C. R.; Candéa, A. L. P.; Henriques, M. das G. M. de O.; Lourenço, M. C. S.; Bezerra, F. A. F. M.; de Souza, M. V. N. Synthesis and Antitubercular Activity of Heteroaromatic Isonicotinoyl and 7-Chloro-4-Quinolinyll Hydrazone Derivatives. *The Scientific World JOURNAL* **2010**, 10. <https://doi.org/10.1100/tsw.2010.124>.

52. Mahgoub, S. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Some Novel Quinoline Derivatives Bearing Pyrazole and Pyridine Moieties. *Egyptian Journal of Chemistry* **2018**. <https://doi.org/10.21608/ejchem.2018.3941.1345>.

53. Луганська, О.; Омелянчик, Л.; Коваленко, Д.; Синяєва, Н. Спосіб кількісного визначення динатрієвої солі 2-метилхінолін-4-іл-гідразон α -кетоглутарової кислоти, Квітень 26, 2011.

54. Рильський, О. Ф.; Коваленко, Д. С.; Омелянчик, Л. О.; Бражко, О. А. Дослідження біологічної активності деяких похідних хіноліну. *Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки*. **2005**, 1.

55. Бражко, О. А.; Рильський, О. Ф.; Завгородній, М. П.; Коваленко, Д. С. Пошук біологічно активних речовин серед хінольдин-4-ілгідразонів α -кетоглутарової кислоти. *Питання біоіндикації та екології* **2003**.
56. Омелянчик, Л. О.; Федоряк, Д. М.; Коваленко, Д. С.; Бражко, О. А. Дилітієва сіль 2-метилхінолін-4-ілгідразону α -кетоглутарової кислоти, що проявляє депримируючу активність. 78456, 2007. <https://uapatents.com/3-78456-dilitiehva-sil-2-metilkhinolin-4-ilgidrazonu-a-ketoglutarovo-kisloti-shho-proyavlyach-deprimiruyuchu-aktivnist.html>
57. E. Karpierz; Leszek Niedzicki; Trzeciak, T.; Zawadzki, M.; Maciej Dranka; Zachara, J.; G.Z. Żukowska; Bitner-Michalska, A.; Wieczorek, W. Ternary Mixtures of Ionic Liquids for Better Salt Solubility, Conductivity and Cation Transference Number Improvement. *Scientific Reports* **2016**, 6 (1). <https://doi.org/10.1038/srep35587>.
58. Романенко, Я. І.; Лагрон, А. В. Похідні 4-гідразінохіноліну та їх біологічна активність (Огляд літератури). *Біорізноманіття, екологія та експериментальна біологія* **2019**, No. 21. <https://doi.org/10.34142/2708-583x.2019.21.01>.
59. Maltarollo, V. G.; Resende, M. F. de; Kronenberger, T.; Lino, C. I.; Sampaio, M. C. P. D.; Pitta, M. G. da R.; Rêgo, M. J. B. de M.; Labanca, R. A.; Oliveira, R. B. de. In Vitro and in Silico Studies of Antioxidant Activity of 2-Thiazolylhydrazone Derivatives. *Journal of Molecular Graphics and Modelling* **2019**, 86. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2018.10.007>.
60. Brazhko, A.; Zavgorodniy, M.; Karpun, E.; Brazhko, E.; Romanenko, Y.; Bogdan, A. Chemometric Methods for Research of Biological Activity of Quinoline Derivatives. *ScienceRise* **2019**, 1 (1). <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2019.155424>.
61. Brazhko, O. A.; Zavgorodniy, M. P. *Modern Aspects of Creating of Drugs Based QuS-Program Development*; LAP LAMBERT Academic Publishing: Estonia, **2018**.

62. Бражко, О. Загальна характеристика комп'ютерної системи прогнозу спектра біологічної активності хімічних сполук. У «Молода наука - 2011», Збірник наукових праць за результатами IV університетської науково-практичної конференції студентів, аспірантів і молодих вчених, 12 - 14 квітня 2011, Запоріжжя, Україна; Просвіта: Запоріжжя, 2011.

63. Яременко, В.; Страшненко, Ю. Використання методів *in silico* при розробці потенційних афі на основі магнію галогенантранілатів. Proceedings of the 7th International scientific and practical conference "Science and technology: problems, prospects and innovations", April 13-15, 2023, Osaka, Japan; CPN Publishing Group: Osaka, Japan, 2023.
<https://dspace.uzhnu.edu.ua/jspui/bitstream/lib/51665/1/SCIENCE-AND-TECHNOLOGY-PROBLEMS-PROSPECTS-AND-INNOVATIONS-13-15.04.23.pdf>

64. Doytchinova, I. Drug Design – Past, Present, Future. *Molecules* **2022**, 27 (5). <https://doi.org/10.3390/molecules27051496>.

65. Drboglav, V. V.; Golubovich, V. P.; Ukhova, L. I.; Akhrem, A. A.; Golender, V. E.; Rozenblum, A. B. A Statistical Study of the Information File on Biologically Active Compounds. V. A Test of the Prediction of the Biological Activity of Decahydroquinolines. *Pharmaceutical Chemistry Journal* **1982**, 16 (5). <https://doi.org/10.1007/bf00762060>.

66. Добродуб, І. Біологічна Активність (2-Метил(Феніл)Хінолін-4-Ілтіо)Карбонових Кислот Та Їх Похідних. Дисертація на здобуття кандидата біологічних наук, Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України, 2020. https://bpci.kiev.ua/wp-content/uploads/2020/11/Dobrodub_dis.pdf

67. Filimonov , D. A.; Poroikov, V. V. Bioactive Compound Design: Possibilities for Industrial Use. *BIOS* **1996**.

68. Poroikov , V. V.; Filimonov, D. A. QSAR and Molecular Modelling Concepts, Computational Tools and Biological Applications. *Barcelona: Prous Science Publishers* **1996**.

69. Бражко, О. Біологічна Активність Похідних 2-метил(феніл)заміщених (хінолін-4-ілтіо)карбонових Кислот. Дисертація На Здобуття Наукового Ступеня Кандидата Біологічних Наук, Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України, 2016.
http://www.bpci.kiev.ua/rada/diss/Brazhko/Brazhko_diss.pdf
70. Stepanchikova, A.; Lagunin, A.; Filimonov, D.; Poroikov, V. Prediction of Biological Activity Spectra for Substances: Evaluation on the Diverse Sets of Drug-like Structures. *Current Medicinal Chemistry* **2003**, *10* (3).
<https://doi.org/10.2174/09298670333368510>.
71. Poroikov, V.; Akimov, D.; Shabelnikova, E.; Filimonov, D. Top 200 Medicines: Can New Actions Be Discovered through Computer-Aided Prediction? *SAR and QSAR in Environmental Research* **2001**, *12* (4).
<https://doi.org/10.1080/10629360108033242>.
72. Anbazhakan, K.; Praveena, R.; Sadasivam, K. Prediction of Biological Activities of Phytoestrogen and Its Derivative – a Insilico Study. *Advances In Basic Science (Icabs 2019)* **2019**. <https://doi.org/10.1063/1.5122635>.
73. Filz, O. A.; Lagunin, A. A.; Filimonov, D. A.; Poroikov, V. V. In Silico Fragment-Based Drug Design Using a PASS Approach. *SAR and QSAR in Environmental Research* **2012**, *23* (3-4).
<https://doi.org/10.1080/1062936x.2012.657238>.
74. Kwon, S.; Bae, H.; Jo, J.; Yoon, S. Comprehensive Ensemble in QSAR Prediction for Drug Discovery. *BMC Bioinformatics* **2019**, *20* (1).
<https://doi.org/10.1186/s12859-019-3135-4>.
75. Kianpour, M.; Mohammadinasab, E.; Esfahani, T. M. Prediction of Oral Acute Toxicity of Organophosphates Using QSAR Methods. *Current Computer-Aided Drug Design* **2019**, *16*. <https://doi.org/10.2174/1573409916666191227093237>.
76. Nitta, F.; Kaneko, H. Two- and Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationship Models Based on Conformer Structures. *Molecular Informatics* **2020**. <https://doi.org/10.1002/minf.202000123>.

77. Hu, S.; Chen, P.; Gu, P.; Wang, B. A Deep Learning-Based Chemical System for QSAR Prediction. *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics* **2020**, *24* (10). <https://doi.org/10.1109/jbhi.2020.2977009>.
78. T, Martin.; Williams, A.; Tkachenko, V. Prediction of Toxicity and Comparison of Alternatives Using WebTEST (Web-Services Toxicity Estimation Software Tool). 18th International Conference on QSAR, Bled, N/A, SLOVENIA, June, **2018**.
79. Martin, T; Williams, A; Tkachenko, V. Prediction of toxicity using WebTEST (Web-services Toxicity Estimation Software Tool) Abstracts of Papers of the American Chemical Society, **2019**.
80. Morris, C. J.; Corte, D. D. Using Molecular Docking and Molecular Dynamics to Investigate Protein-Ligand Interactions. *Modern Physics Letters B* **2021**, *35* (08) . <https://doi.org/10.1142/s0217984921300027>.
81. Potemkin, V.; Grishina, M. Grid-Based Technologies for in Silico Screening and Drug Design. *Current Medicinal Chemistry* **2018**, *25* (29). <https://doi.org/10.2174/0929867325666180309112454>.
82. Fan, J.; Fu, A.; Zhang, L. Progress in Molecular Docking. *Quantitative Biology* **2019**, *7* (2). <https://doi.org/10.1007/s40484-019-0172-y>.
83. McNutt, A. T.; Francoeur, P.; Aggarwal, R.; Masuda, T.; Meli, R.; Ragoza, M.; Sunseri, J.; Koes, D. R. GNINA 1.0: Molecular Docking with Deep Learning. *Journal of Cheminformatics* **2021**, *13* (1). <https://doi.org/10.1186/s13321-021-00522-2>.
84. Romanenko, Y. PASS Prediction of Biological Activity of 4-Hydrazinoquinoline Derivatives. In *Topical Issues of the Development of Modern Science*, Abstracts of II International Scientific and Practical Conference, Sofia, Bulgaria, October 16 – 18, 2019; ACCENT: Sofia, 2019.
85. Romanenko, Y., Lagron, A Investigation of 4-Hydrazinoquinolines by in Silico Methods. У Осінні наукові читання, Тези доповідей XXIII Міжнародної Науково-Практичної Інтернет-конференції, Тернопіль, Україна, 27 листопада 2019; ГО «НОК»: Дніпро, 2019.

86. Богдан, А.; Романенко, Я.; Бражко, О. Актуальні дослідження біологічної активності похідних хіноліну хеометричними методами. У *Сучасні проблеми біології, екології та хімії*, Матеріали VI Міжнародної Науково-Практичної Конференції Присвячена 90-річчю Заснування Запорізького Національного Університету, Запоріжжя, Україна, 16 - 17 жовтня 2020; СоруАрт: Запоріжжя, 2020.

87. Романенко, Я.; Богдан, А. Молекулярний Докінг в Аналізі Механізмів Біологічної Дії Похідних Хіноліну. In *Emerging Trends in Academic Research*, Conference Proceedings of the 1st International Conference, Dublin, Ireland, February 10 – 12, 2021; Primedia elaunch LLC: 2021

88. *Management of Animal Care and Use Programs in Research, Education, and Testing*; Weichbrod, R. H., Thompson, G. A. (Heidbrink), Norton, J. N., Eds.; CRC Press: Second edition. Boca Raton: Taylor & Francis, **2018.**, 2017. <https://doi.org/10.1201/9781315152189>.

89. Резников, О. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. *Ендокринологія* **2003**, 8 (1).

90. Національний Комітет з питань біоетики при Президії НАН України; Комітет з біоетики при Президії АМН України ; Інститут фармакології і токсикології АМН України; Державний фармакологічний центр МОЗ України. *Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах. Методичні рекомендації.* ; 2006.

91. Про захист тварин від жорстокого поводження, Закон України № 3447-IV, 21 лютого 2006 (Україна). <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>.

92. Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів, Наказ Міністерства охорони здоров'я України № 944, 14 грудня 2009 (Україна). <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0053-10#Text>.

93. Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах, Наказ Міністерства освіти і науки, молоді

та спорту України № 249, 1 березня 2012 (Україна). <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12#Text>.

94. *National Institutes of Health (1985) Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. NIH Publication Number 85-23, US Department of Health, Education and Welfare, Bethesda, MD. - References - Scientific Research Publishing. www.scirp.org.*

95. Parasuraman, S. Prediction of Activity Spectra for Substances. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* **2011**, 2 (1). <https://doi.org/10.4103/0976-500x.77119>.

96. Kulkarni, M.; Basanagouda, M.; Jadhav, V.; Rao, Rn. Computer Aided Prediction of Biological Activity Spectra: Study of Correlation between Predicted and Observed Activities for Coumarin-4-Acetic Acids. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2011**, 73 (1). <https://doi.org/10.4103/0250-474x.89764>.

97. Iryna Drapak. In Silico Screening of Drug-like Molecules for the Treatment of Cardiovascular Diseases on the Basis of Five-Membered Privileged Heterocycles. *Farmatsevychny zhurnal* **2019**, No. 4. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.4.19.07>.

98. Sushko, I.; Novotarskyi, S.; Körner, R.; Pandey, A. K.; Rupp, M.; Teetz, W.; Brandmaier, S.; Abdelaziz, A.; Prokopenko, V. V.; Tanchuk, V. Y.; Todeschini, R.; Varnek, A.; Marcou, G.; Ertl, P.; Potemkin, V.; Grishina, M.; Gasteiger, J.; Schwab, C.; Baskin, I. I.; Palyulin, V. A. Online Chemical Modeling Environment (OCHEM): Web Platform for Data Storage, Model Development and Publishing of Chemical Information. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **2011**, 25 (6). <https://doi.org/10.1007/s10822-011-9440-2>.

99. Karpov, P.; Godin, G.; Tetko, I. V. Transformer-CNN: Swiss Knife for QSAR Modeling and Interpretation. *Journal of Cheminformatics* **2020**, 12 (1). <https://doi.org/10.1186/s13321-020-00423-w>.

100. Tetko, I. V.; Karpov, P.; Bruno, E.; Kimber, T. B.; Godin, G. Augmentation Is What You Need! *Artificial Neural Networks and Machine Learning*

– ICANN 2019: Workshop and Special Sessions **2019**. https://doi.org/10.1007/978-3-030-30493-5_79.

101. Eklund, M.; Norinder, U.; Boyer, S.; Carlsson, L. Choosing Feature Selection and Learning Algorithms in QSAR. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2014**, 54 (3). <https://doi.org/10.1021/ci400573c>.

102. Zheng, S.; Yan, X.; Yang, Y.; Xu, J. Identifying Structure–Property Relationships through SMILES Syntax Analysis with Self-Attention Mechanism. **2019**, 59 (2). <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.8b00803>.

103. Tetko, I. V.; Sushko, I.; Pandey, A. K.; Zhu, H.; Tropsha, A.; Papa, E.; Öberg, T.; Todeschini, R.; Fourches, D.; Varnek, A. Critical Assessment of QSAR Models of Environmental Toxicity Against *Tetrahymena Pyriformis*: Focusing on Applicability Domain and Overfitting by Variable Selection. *Journal of Chemical Information and Modeling* **2008**, 48 (9). <https://doi.org/10.1021/ci800151m>.

104. Sushko, I.; Novotarskyi, S.; Körner, R.; Pandey, A. K.; Rupp, M.; Teetz, W.; Brandmaier, S.; Abdelaziz, A.; Prokopenko, V. V.; Tanchuk, V. Y.; Todeschini, R.; Varnek, A.; Marcou, G.; Ertl, P.; Potemkin, V.; Grishina, M.; Gasteiger, J.; Schwab, C.; Baskin, I. I.; Palyulin, V. A. Online Chemical Modeling Environment (OCHEM): Web Platform for Data Storage, Model Development and Publishing of Chemical Information. *Journal of Computer-Aided Molecular Design* **2011**, 25 (6). <https://doi.org/10.1007/s10822-011-9440-2>

105. Sushko, I.; Novotarskyi, S.; Körner, R.; Pandey, A. K.; Kovalishyn, V. V.; Prokopenko, V. V.; Tetko, I. V. Applicability Domain for in Silico Models to Achieve Accuracy of Experimental Measurements. *Journal of Chemometrics* **2010**, 24 (3-4). <https://doi.org/10.1002/cem.1296>.

106. OCHEM Introduction - OCHEM user's manual - OCHEM docs. docs.ochem.eu. <http://docs.ochem.eu//display/MAN.html> (accessed 2023-09-14).

107. Gschwend, D. A.; Good, A. C.; Kuntz, I. D. Molecular Docking towards Drug Discovery. *Journal of molecular recognition* **1996**, 9 (2). [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1352\(199603\)9:2%3C175::AID-JMR260%3E3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1352(199603)9:2%3C175::AID-JMR260%3E3.0.CO;2-D).

108. Lohning, A. E.; Levonis, S. M.; Williams-Noonan, B.; Schweiker, S. S. A Practical Guide to Molecular Docking and Homology Modelling for Medicinal Chemists. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2017**, *17* (18). <https://doi.org/10.2174/1568026617666170130110827/>
109. Reeve, S. M.; Wright, D. L. Staphylococcus Aureus Dihydrofolate Reductase in Complex with NADPH and Methotrexate. **2019**. <https://doi.org/10.2210/pdb6p9z/pdb>
110. Sawaya, M. R.; Kraut, J. DIHYDROFOLATE REDUCTASE COMPLEXED with METHOTREXATE. **1997**. <https://doi.org/10.2210/pdb1rg7/pdb>
111. Sanner, M. F. Python: A Programming Language for Software Integration and Development. *Journal of molecular graphics & modelling* **1999**, *17* (1).
112. ChemAxon - Software Solutions and Services for Chemistry & Biology. Chemaxon.com. <https://www.chemaxon.com>.
113. Hanwell, M. D.; Curtis, D. E.; Lonie, D. C.; Vandermeersch, T.; Zurek, E.; Hutchison, G. R. Avogadro: An Advanced Semantic Chemical Editor, Visualization, and Analysis Platform. *Journal of Cheminformatics* **2012**, *4* (1). <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>.
114. Halgren, T. A. MMFF VI. MMFF94s Option for Energy Minimization Studies. *Journal of Computational Chemistry* **1999**, *20* (7). [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-987x\(199905\)20:7%3C720::aid-jcc7%3E3.0.co;2-x](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-987x(199905)20:7%3C720::aid-jcc7%3E3.0.co;2-x).
115. Trott, O.; Olson, A. J. AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *Journal of Computational Chemistry* **2009**, *31* (2), NA-NA. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>.
116. 3DPassport | Login - Dassault Systèmes. eu1.iam.3dexperience.3ds.com. <https://discover.3ds.com/>
117. Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M.; Sherris, J. C.; Turck, M. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *American Journal of Clinical Pathology* **1966**, *45* (4_ts). https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493.

118. Tang, J.; Meng, X.; Liu, H.; Zhao, J.; Zhou, L.; Qiu, M.; Zhang, X.; Yu, Z.; Yang, F. Antimicrobial Activity of Sphingolipids Isolated from the Stems of Cucumber (*Cucumis Sativus* L.). *Molecules* **2010**, *15* (12). <https://doi.org/10.3390/molecules15129288>.
119. Петруша, Ю.Ю.; Омелянчик, Л.О. Пошук ростостимуляторів сільськогосподарських культур серед піридинзаміщених меркаптокислот. *Біологічний вісник МДПУ ім. Б. Хмельницького*. **2013**, 3.
120. Корнет, М.М. Цитотоксична активність похідних S-(2-метилхінолін-4-іл) цистеаміну. *Питання біоіндикації та екології*. **2014**, 19(2).
121. Kozyr, A.; Romanenko, Y. Cytotoxic Activity of 7-R-4-Substituted Quinoline. *Reports of Vinnytsia National Medical University* **2022**, 26 (3). [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26\(3\)-02](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26(3)-02).
122. Prozorovsky, V. B. Tabular express method for determining average effective measures of impact on biological objects. *Toxicological Bulletin*. **1998** 1.
123. Stefanov O. V., editor. Pre-clinical study of drugs (methodical recommendation). Kyiv: Avitsena; **2001** Ukrainian.
124. Munteanu, I. G.; Apetrei, C. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences* **2021**, 22 (7). <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>.
125. Bolann, B. J.; Ulvik, R. J. Improvement of a Direct Spectrophotometric Assay for Routine Determination of Superoxide Dismutase Activity. *PubMed* **1991**, 37 (11).
126. Reznikov, O. H.; Polumbryk, O. M.; Balion, Y. H.; Polumbryk, M. O. Pro- And Antioxidant Systems and Pathological Processes in Humans. *Visnik Nac. Akad. Nauk Ukrai'ni* **2014**, (10), 17–29. <https://doi.org/10.15407/visn2014.10.017>
127. Stepanova, Y.; Kolpakov, I.; Poznysh, V.; Vdovenko, V.; Zygalo, V.; Alekhina, S. Comparative Analysis of the State of Pro- and Antioxidant Systems in Children under the Influence of Stress Factors of Radiation and Psychogenic Origin. *Environment & Health* **2019**, 4 (93), 38–43. <https://doi.org/10.32402/dovkil2019.04.038>

128. Корнет, М. Біологічна активність похідних S-(хінолін-4-іл)-L-цистеїну та їх структурних аналогів. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук, Національна академія наук України, Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України, 2012.
129. Бражко, О.; Омелянчик, Л.; Завгородній, М.; Мартиновський, О. *Хімія та біологічна активність 2(4)-тіохінолінів і 9-тіоакридинів: монографія*; ЗНУ: Запоріжжя, 2012.
130. Беленічев, І.; Губський, Ю.; Дунаєв, В.; Коваленко, С. *Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільно-радикальних процесів у дослідях in Vitro: Метод. реком.*; "ДФЦ" МОЗ України: Київ, 2002.
131. Левіч, С.; Красовська, Н.; Александрова, К.; Сінченко, Д. Вивчення антиоксидантних властивостей похідних 3-г-2,6-діоксопурин-7-ілетанових кислот. *Український біофармацевтичний журнал* **2015**, 5 (40).
132. Gubskiy, Y. I.; Seredynska, N. M.; Buchtiarova, T. A.; Babenko, L. P. Antioxidant Properties of Hidazepam and Amitriptyline with Pain Syndrome of Rats. *Farmatsevtichnyi zhurnal* **2019**, No. 4. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.4.19.10>.
133. Щербак, М.; Каплаушенко, А.; Лук'янчук, В. Застосування 2-(4-аміно-5-(4-нітрофеніл)-4н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти як антиоксидантного засобу. 108689, 2015.
134. Про затвердження Порядку проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань і Типового положення про комісії з питань етики, Наказ Міністерства охорони здоров'я України № 690, 23 вересня 2009 (Україна). <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1010-09#Text>.
135. Гельсінська декларація Всесвітньої медичної асоціації "Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження", Декларація Всесвітньої медичної асоціації, 1 червня 1964. https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/990_005#Text.
136. Donnelly, E. T. The Effect of Ascorbate and Alpha-Tocopherol Supplementation in Vitro on DNA Integrity and Hydrogen Peroxide-Induced DNA

Damage in Human Spermatozoa. *Mutagenesis* **1999**, 14 (5).
<https://doi.org/10.1093/mutage/14.5.505>.

137. Huang, W.; Percie du Sert, N.; Vollert, J.; Rice, A. S. C. General Principles of Preclinical Study Design. *Good Research Practice in Non-Clinical Pharmacology and Biomedicine* **2019**, 257. https://doi.org/10.1007/164_2019_277.

138. Yang, F.; Zhang, F.; Yang, L.; Li, H.; Zhou, Y. Establishment of the Reference Intervals of Whole Blood Neutrophil Phagocytosis by Flow Cytometry. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* **2021**. <https://doi.org/10.1002/jcla.23884>.

139. Бражко, О. Біологічно активні похідні хіноліну та акридину з азото- та сірковмісними функціональними групами Дисертація на здобуття доктора біологічних наук, Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України, **2005**.

140. Spina, D. Statistics in Pharmacology. *British Journal of Pharmacology* **2009**, 152 (3). <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707371>.

141. Wang, D.; Hensman, J.; Ginte Kutkaite; Toh, T. S.; Galhoz, A.; Lightfoot, H.; Yang, W.; Soleimani, M.; Syd Barthorpe; Mironenko, T.; Beck, A.; Richardson, L.; Lleshi, E.; Hall, J.; Tolley, C.; Barendt, W.; Dry, J. R.; Saez-Rodriguez, J.; Garnett, M. J.; Menden, M. P. A Statistical Framework for Assessing Pharmacological Responses and Biomarkers Using Uncertainty Estimates. **2020**, 9. <https://doi.org/10.7554/elife.60352>.

142. Jinnah, H. A.; Sabina, R. I.; Van Den Berghe, G. Metabolic Disorders of Purine Metabolism Affecting the Nervous System. *Handbook of Clinical Neurology* **2013**. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-59565-2.00052-6>.

143. Romanenko, Y.; Kozyr, A. Toxicity and Antioxidant Activity of 4-Hydrazinoquinoline Derivatives. *Reports of Vinnytsia National Medical University* **2022**, 26 (4). [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26\(4\)-01](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26(4)-01).

144. І.С. Чекман. Клінічна фармакологія, клінічна фармація та доказова медицина - основи раціональної фармакотерапії. *Фармацевтичний часопис* **2014**, No. 1. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2008.1.3056>.

145. Bisacchi, G. S. Origins of the Quinolone Class of Antibacterials: An Expanded “Discovery Story.” *Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, 58 (12). <https://doi.org/10.1021/jm501881c>.
146. Romanenko, Y.; Klimova, O.; Brazhko, O. Assessment of the Biological Effects of 4-Hydrazinoquinoline Derivatives. *Vіsник Zaporiz'kogo nacіonal'nogo unіversitetu. Biologіchnі nauki* **2019**, 1. <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2019-1-06>
147. Коваленко, Д. С.; Панасенко, Т. В.; Омелянчик, Л. О.; Бражко, О. А.; Завгородній, М. П.; Фашук, Ю. С. Визначення констант іонізації похідних 2(4)-гідразинохіноліну. *Запорозький медичинський журнал* **2010**, No. 12, № 2.
148. *Statistical parameters - OCHEM user's manual - OCHEM docs*. docs.ochem.eu. <https://docs.ochem.eu/display/MAN/Statistical+parameters.html>. (accessed 2023-10-06).
149. Metelytsia, L.; Hodyna, D.; Dobrodub, I.; Semenyuta, I.; Zavorodnii, M.; Blagodatny, V.; Kovalishyn, V.; Brazhko, O. Design of (Quinolin-4-Ylthio)Carboxylic Acids as New Escherichia Coli DNA Gyrase B Inhibitors: Machine Learning Studies, Molecular Docking, Synthesis and Biological Testing. *Computational Biology and Chemistry* **2020**, 85. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2020.107224>.
150. Gadaleta, D.; Vuković, K.; Toma, C.; Lavado, G. J.; Karmaus, A. L.; Mansouri, K.; Kleinstreuer, N. C.; Benfenati, E.; Roncaglioni, A. SAR and QSAR Modeling of a Large Collection of LD₅₀ Rat Acute Oral Toxicity Data. *Journal of Cheminformatics* **2019**, 11 (1). <https://doi.org/10.1186/s13321-019-0383-2>.
151. Kyhoiesh, H. A. K.; Al-Hussainawy, M. K.; Waheeb, A. S.; Al-Adilee, K. J. Synthesis, Spectral Characterization, Lethal Dose (LD50) and Acute Toxicity Studies of 1,4-Bis(Imidazolylazo)Benzene (BIAB). *Heliyon* **2021**, 7 (9). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07969>.
152. Sidorov, K. *On the Classification of Toxicity of Poisons in Parenteral Routes of Administration. Toxicology of New Industrial Chemicals.*; **1973**; Vol. 13.
153. Sharma, N. Free Radicals, Antioxidants and Disease. *Biology and Medicine* **2014**, 06 (03). <https://doi.org/10.4172/0974-8369.1000214>.

154. Zarkovic, N. Antioxidants and Second Messengers of Free Radicals. *Antioxidants* **2018**, 7 (11). <https://doi.org/10.3390/antiox7110158>.
155. Marnett, L. J. Oxyradicals and DNA Damage. *Carcinogenesis* **2000**, 21 (3). <https://doi.org/10.1093/carcin/21.3.361>.
156. Genestra, M. Oxyl Radicals, Redox-Sensitive Signalling Cascades and Antioxidants. *Cellular Signalling* **2007**, 19 (9). <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2007.04.009>.
157. Ferrous Iron Binding to Epinephrine Promotes the Oxidation of Iron and Impedes Activation of Adrenergic Receptors. *Free Radical Biology and Medicine* **2020**, 148. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.01.001>.
158. Sirota, T. V. A Chain Reaction of Adrenaline Autoxidation Is a Model of Quinoid Oxidation of Catecholamines. *Biophysics* **2020**, 65 (4). <https://doi.org/10.1134/s0006350920040223>.
159. Unuofin, J. O.; Lebelo, S. L. Antioxidant Effects and Mechanisms of Medicinal Plants and Their Bioactive Compounds for the Prevention and Treatment of Type 2 Diabetes: An Updated Review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2020**, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/1356893>.
160. Sikka, S. Relative Impact of Oxidative Stress on Male Reproductive Function. *Current Medicinal Chemistry* **2001**, 8 (7). <https://doi.org/10.2174/0929867013373039>.
161. Sanocka, D.; Kurpysz, M. Reactive Oxygen Species and Sperm Cells. *Reproductive Biology and Endocrinology* **2004**, 2 (1), 12. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-2-12>.
162. Sharif, K. Reclassification of Azoospermia: The Time Has Come? *Human Reproduction* **2000**, 15 (2). <https://doi.org/10.1093/humrep/15.2.237>.
163. Zeleke, D.; Eswaramoorthy, R.; Belay, Z.; Melaku, Y. Synthesis and Antibacterial, Antioxidant, and Molecular Docking Analysis of Some Novel Quinoline Derivatives. *Journal of Chemistry* **2020**, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/1324096>.
164. Hu, Y.-Q.; Gao, C.; Zhang, S.; Xu, L.; Xu, Z.; Feng, L.-S.; Wu, X.; Zhao, F. Quinoline Hybrids and Their Antiplasmodial and Antimalarial Activities. *European*

<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.07.061>.

165. Kang, S. K.; Woo, J.; Cho, S.; Lee, S. E.; Kim, Y. K.; Yoon, S. S. Synthesis of Benzo[G]Quinoline Derivatives and Their Electroluminescent Properties. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* **2019**, 19 (8). <https://doi.org/10.1166/jnn.2019.16687>.

166. Salman, G. A.; Zinad, D. S.; Mahal, A. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of New Quinoline-Based Heterocyclic Derivatives as Novel Antibacterial Agents. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* **2020**, 151 (10). <https://doi.org/10.1007/s00706-020-02686-3>.

167. Aktan, G.; Doğru-Abbasoğlu, S.; Küçükgergin, C.; Kadioğlu, A.; Özdemirler-Erata, G.; Koçak-Toker, N. Mystery of Idiopathic Male Infertility: Is Oxidative Stress an Actual Risk? *Fertility and Sterility* **2013**, 99 (5). <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2012.11.045>.

168. Ukrainka, S. I.; Lytvynenko, A. P.; Kaleinikova, O. M. Effect of Antioxidants on Sperm DNA Fragmentation. *Bulletin of Problems Biology and Medicine* **2020**, 1 (1). <https://doi.org/10.29254/2077-4214-2020-1-155-58-61>.

169. Gierlikowska, B.; Stachura, A.; Gierlikowski, W.; Demkow, U. Phagocytosis, Degranulation and Extracellular Traps Release by Neutrophils—the Current Knowledge, Pharmacological Modulation and Future Prospects. *Frontiers in Pharmacology* **2021**, 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.666732>.

170. Tsibizova, A. A.; Ozerov, A. A.; Novikov, M. S.; Само́трье́ва, М. А.; Ясе́нявская, А. Л.; Tyurenkov, I. N. Synthesis and Immunotropic Activity of New Quinazoline Derivatives in Mice. *Pharmaceutical Chemistry Journal* **2021**, 54 (10). <https://doi.org/10.1007/s11094-021-02311-5>.

171. Baatarkhuyag, G.; Bataa, B.; Jagj, G.; Dugar, D.; Pelden, B. Results of Study on Immunotropic Activity of Immune Supporting Drugs. *Mongolian Journal of Agricultural Sciences* **2020**, 29 (1). <https://doi.org/10.5564/mjas.v29i1.1371>.

172. Meinderts, S. M.; Baker, G.; van Wijk, S.; Beuger, B. M.; Geissler, J.; Jansen, M. H.; Saris, A.; ten Brinke, A.; Kuijpers, T. W.; van den Berg, T. K.; van

Bruggen, R. Neutrophils Acquire Antigen-Presenting Cell Features after Phagocytosis of IgG-Opsonized Erythrocytes. *Blood Advances* **2019**, *3* (11). <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2018028753>.

173. Rungelrath, V.; Kobayashi, S. D.; DeLeo, F. R. Neutrophils in Innate Immunity and Systems Biology-Level Approaches. *WIREs Systems Biology and Medicine* **2019**, *12* (1). <https://doi.org/10.1002/wsbm.1458>.

174. Bartneck, M.; Wang, J. Therapeutic Targeting of Neutrophil Granulocytes in Inflammatory Liver Disease. *Frontiers in Immunology* **2019**, *10*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02257>.

175. Hodyna, D.; Kovalishyn, V.; Romanenko, Y.; Semenyuta, I.; Blagodatny, V.; Kachaeva, M.; Brazhko, O.; Metelytsia, L. Quinoline Hydrazone Derivatives as New Antibacterials against Multidrug Resistant Strains. *Chemistry & Biodiversity* **2023**. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202300839>.

176. Meng, X.-Y.; Zhang, H.-X.; Mezei, M.; Cui, M. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer Aided-Drug Design* **2011**, *7* (2). <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>.

177. Stuehr, D. J.; Vasquez-Vivar, J. Nitric Oxide Synthases-from Genes to Function. *Nitric Oxide* **2017**, *63*. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2017.01.005>.

178. Calabrese, V.; Mancuso, C.; Calvani, M.; Rizzarelli, E.; Butterfield, D. A.; Giuffrida Stella, A. M. Nitric Oxide in the Central Nervous System: Neuroprotection versus Neurotoxicity. *Nature Reviews Neuroscience* **2007**, *8* (10). <https://doi.org/10.1038/nrn2214>.

179. Pirahanchi, Y.; Marsidi, J. L.; Brown, K. N. *Physiology, Endothelial Derived Relaxation Factor*. PubMed. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537010/> (accessed 2023-09-13).

180. Thomas, D. D.; Ridnour, L. A.; Isenberg, J. S.; Flores-Santana, W.; Switzer, C. H.; Donzelli, S.; Hussain, P.; Vecoli, C.; Paolocci, N.; Ambs, S.; Colton, C. A.; Harris, C. C.; Roberts, D. D.; Wink, D. A. The Chemical Biology of Nitric Oxide: Implications in Cellular Signaling. *Free Radical Biology and Medicine* **2008**, *45* (1). <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.03.020>.

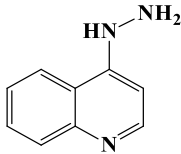
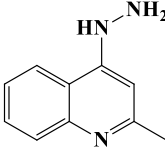
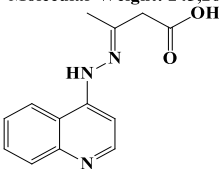
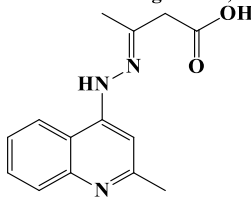
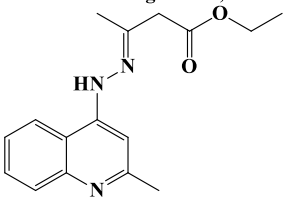
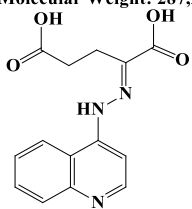
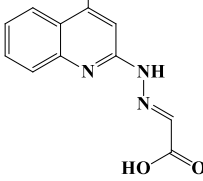
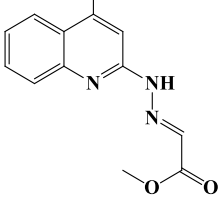
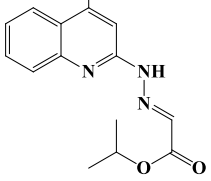
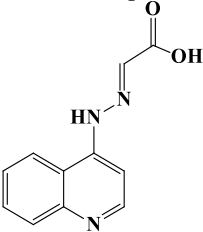
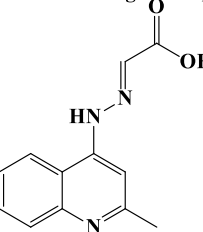
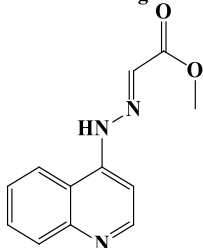
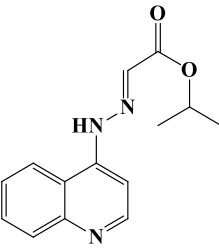
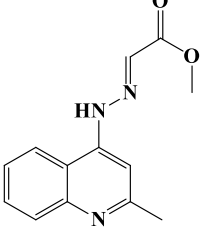
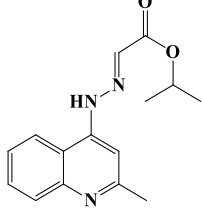
181. Ahmad, R.; Hussain, A.; Ahsan, H. Peroxynitrite: Cellular Pathology and Implications in Autoimmunity. *Journal of Immunoassay and Immunochemistry* **2019**, *40* (2). <https://doi.org/10.1080/15321819.2019.1583109>.
182. Radi, R. Oxygen Radicals, Nitric Oxide, and Peroxynitrite: Redox Pathways in Molecular Medicine. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2018**, *115* (23). <https://doi.org/10.1073/pnas.1804932115>.
183. Martemucci, G.; Costagliola, C.; Mariano, M.; D'andrea, L.; Napolitano, P.; D'Alessandro, A. G. Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. *Oxygen* **2022**, *2* (2). <https://doi.org/10.3390/oxygen2020006>.
184. Dizdaroglu, M.; Jaruga, P. Mechanisms of Free Radical-Induced Damage to DNA. *Free Radical Research* **2012**, *46* (4). <https://doi.org/10.3109/10715762.2011.653969>.
185. Keles, H.; Ince, S.; Küçükkurt, I.; Tatli, I. I.; Akkol, E. K.; Kahraman, C.; Demirel, H. H. The Effects Of Feijoa Sellowiana fruits on the Antioxidant Defense System, Lipid Peroxidation, and Tissue Morphology in Rats. *Pharmaceutical Biology* **2011**, *50* (3). <https://doi.org/10.3109/13880209.2011.608074>.
186. Papastergiadis, A.; Mubiru, E.; Van Langenhove, H.; De Meulenaer, B. Malondialdehyde Measurement in Oxidized Foods: Evaluation of the Spectrophotometric Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) Test in Various Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2012**, *60* (38). <https://doi.org/10.1021/jf302451c>.
187. Petrou, A. L.; Terzidaki, A. A Meta-Analysis and Review Examining a Possible Role for Oxidative Stress and Singlet Oxygen in Diverse Diseases. *Biochemical Journal* **2017**, *474* (16). <https://doi.org/10.1042/bcj20161058>.
188. Mahaseth, T.; Kuzminov, A. Potentiation of Hydrogen Peroxide Toxicity: From Catalase Inhibition to Stable DNA-Iron Complexes. *Mutation research* **2017**, *773* (PMC5607474). <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2016.08.006>.

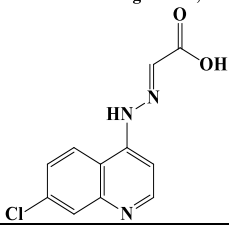
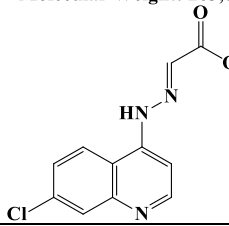
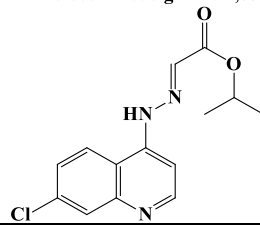
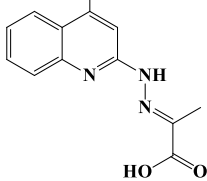
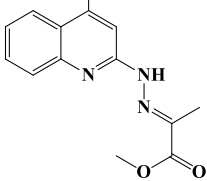
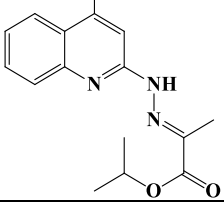
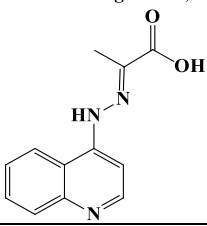
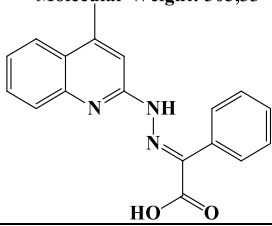
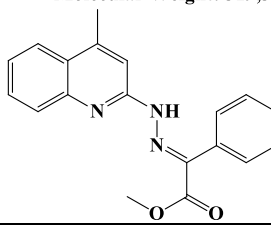
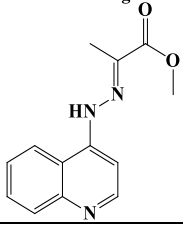
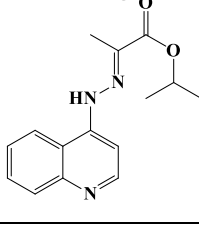
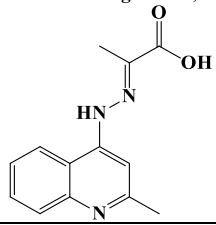
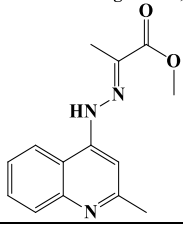
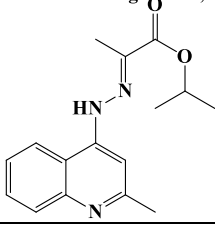
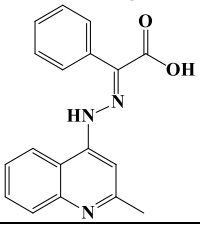
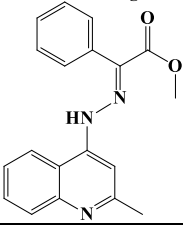
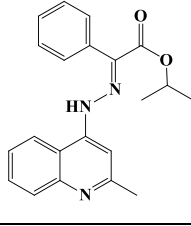
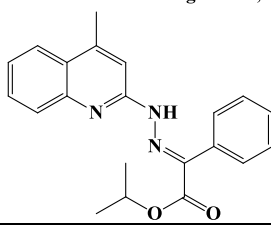
189. Khramtsov, V. V. In Vivo Electron Paramagnetic Resonance: Radical Concepts for Translation to the Clinical Setting. **2018**, 28 (15). <https://doi.org/10.1089/ars.2017.7472>.
190. Kulig, W.; Cwiklik, L.; Jurkiewicz, P.; Rog, T.; Vattulainen, I. Cholesterol Oxidation Products and Their Biological Importance. *Chemistry and Physics of Lipids* **2016**, 199. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2016.03.001>.
191. Krisko, A.; Radman, M. Protein Damage, Ageing and Age-Related Diseases. *Open Biology* **2019**, 9 (3). <https://doi.org/10.1098/rsob.180249>.
192. Piacenza, L.; Zeida, A.; Trujillo, M.; Radi, R. The Superoxide Radical Switch in the Biology of Nitric Oxide and Peroxynitrite. *Physiological Reviews* **2022**. <https://doi.org/10.1152/physrev.00005.2022>.
193. Elsayed Azab, A.; A Adwas, A.; Ibrahim Elsayed, A. S.; A Adwas, A.; Ibrahim Elsayed, A. S.; Quwaydir, F. A. Oxidative Stress and Antioxidant Mechanisms in Human Body. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering* **2019**, 6 (1). <https://doi.org/10.15406/jabb.2019.06.00173>.
194. Cherian, D.; Peter, T.; Narayanan, A.; Madhavan, S.; Achammada, S.; Vynat, G. Malondialdehyde as a Marker of Oxidative Stress in Periodontitis Patients. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences* **2019**, 11 (6). https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_17_19.

ДОДАТКИ

Додаток А

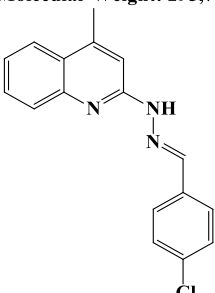
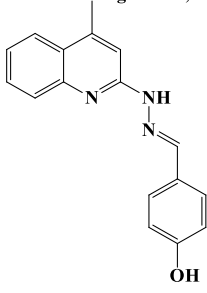
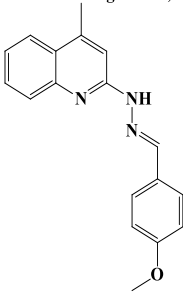
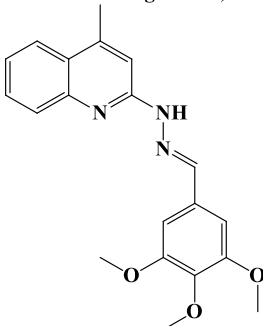
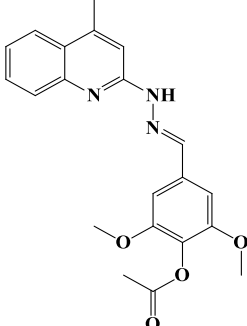
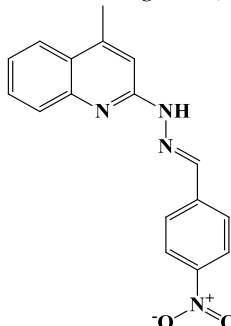
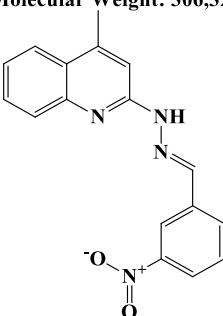
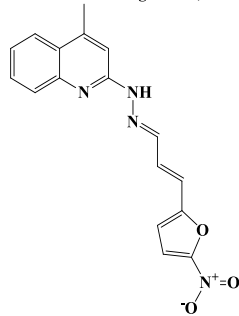
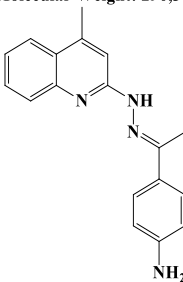
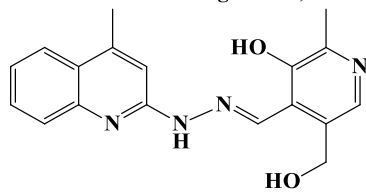
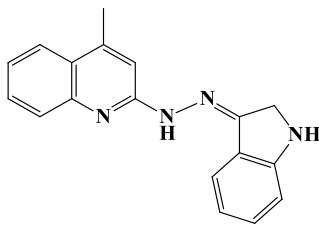
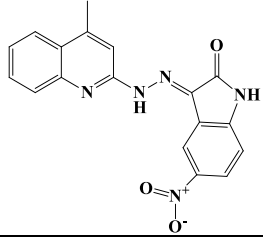
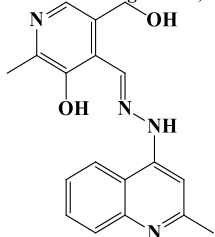
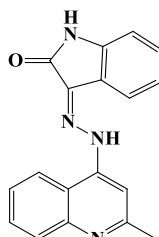
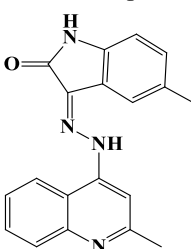
Таблиця А.1. - Кобінаторна бібліотека похідних 2(4)-гідразинохіноліну

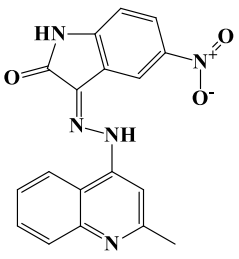
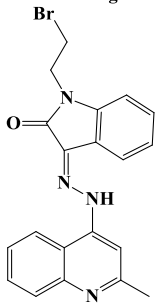
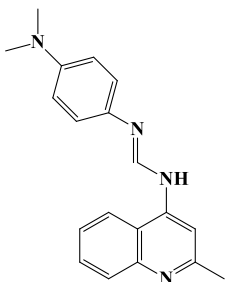
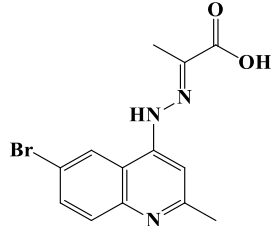
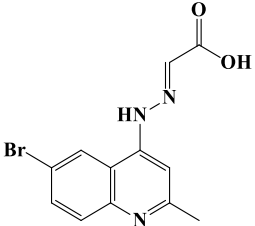
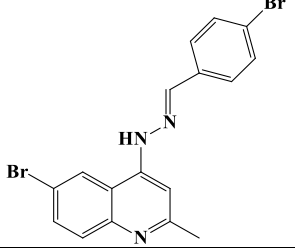
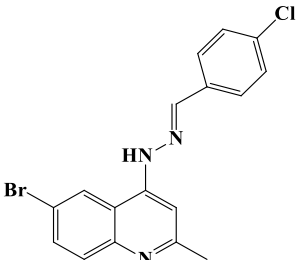
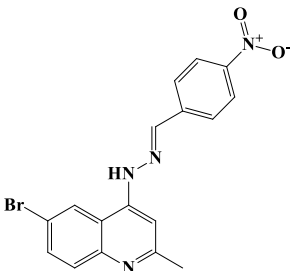
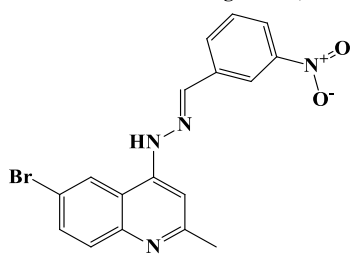
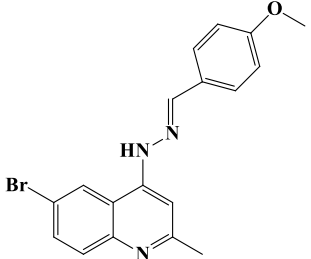
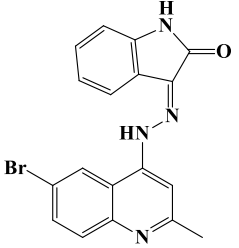
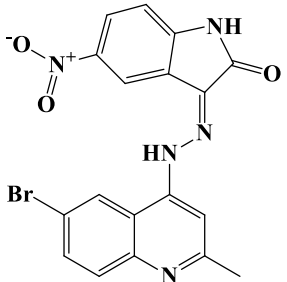
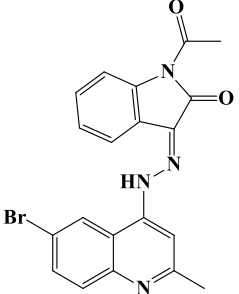
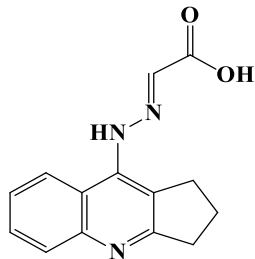
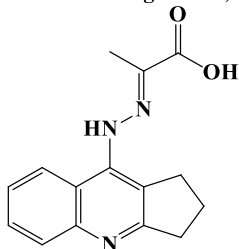
BRANE - 1 Chemical Formula: $C_9H_9N_3$ Molecular Weight: 159,19 	BRANE - 2 Chemical Formula: $C_{10}H_{11}N_3$ Molecular Weight: 173,21 	BRANE - 3 Chemical Formula: $C_{13}H_{13}N_3O_2$ Molecular Weight: 243,26 
BRANE - 4 Chemical Formula: $C_{14}H_{15}N_3O_2$ Molecular Weight: 257,29 	BRANE - 5 Chemical Formula: $C_{16}H_{19}N_3O_2$ Molecular Weight: 285,34 	BRANE - 6 Chemical Formula: $C_{14}H_{13}N_3O_4$ Molecular Weight: 287,27 
BRANE - 13 Chemical Formula: $C_{12}H_{11}N_3O_2$ Molecular Weight: 229,23 	BRANE - 14 Chemical Formula: $C_{13}H_{13}N_3O_2$ Molecular Weight: 243,26 	BRANE - 15 Chemical Formula: $C_{15}H_{17}N_3O_2$ Molecular Weight: 271,31 
BRANE - 16 Chemical Formula: $C_{11}H_9N_3O_2$ Molecular Weight: 215,21 	BRANE - 17 Chemical Formula: $C_{12}H_{11}N_3O_2$ Molecular Weight: 229,23 	BRANE - 18 Chemical Formula: $C_{12}H_{11}N_3O_2$ Molecular Weight: 229,23 
BRANE - 19 Chemical Formula: $C_{14}H_{15}N_3O_2$ Molecular Weight: 257,29 	BRANE - 20 Chemical Formula: $C_{13}H_{13}N_3O_2$ Molecular Weight: 243,26 	BRANE - 21 Chemical Formula: $C_{15}H_{17}N_3O_2$ Molecular Weight: 271,31 

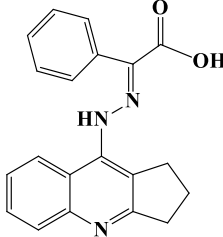
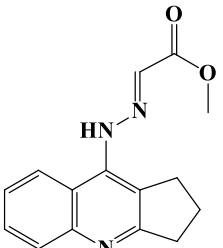
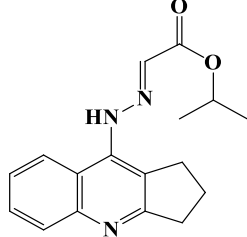
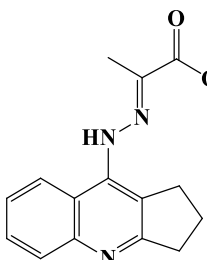
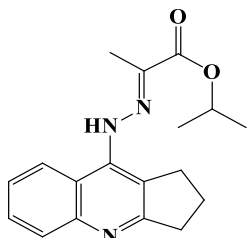
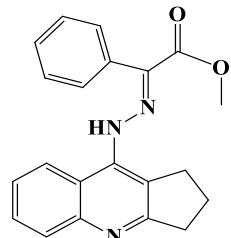
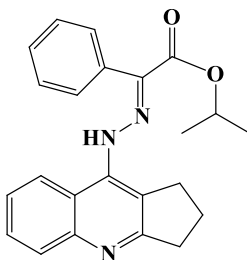
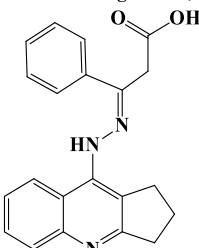
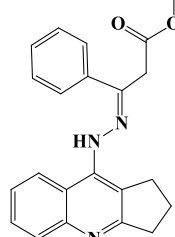
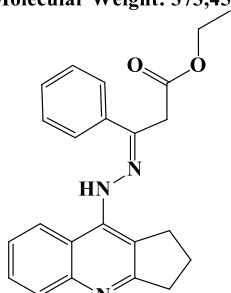
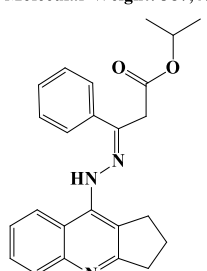
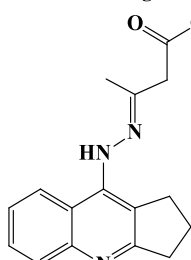
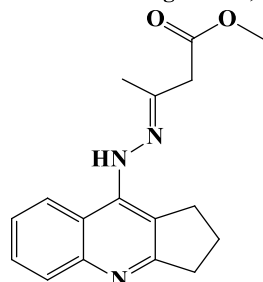
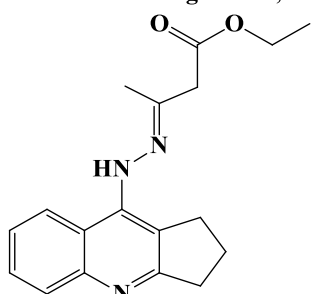
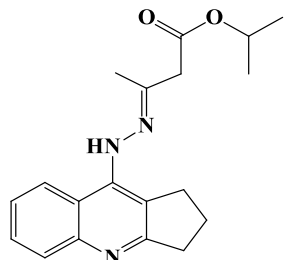
<i>Продовж. табл.А.1</i>		
BRANE - 22 Chemical Formula: $C_{11}H_8ClN_3O_2$ Molecular Weight: 249,65 	BRANE - 23 Chemical Formula: $C_{12}H_{10}ClN_3O_2$ Molecular Weight: 263,68 	BRANE - 24 Chemical Formula: $C_{14}H_{14}ClN_3O_2$ Molecular Weight: 291,73 
BRANE - 25 Chemical Formula: $C_{13}H_{13}N_3O_2$ Molecular Weight: 243,26 	BRANE - 26 Chemical Formula: $C_{14}H_{15}N_3O_2$ Molecular Weight: 257,29 	BRANE - 27 Chemical Formula: $C_{16}H_{19}N_3O_2$ Molecular Weight: 285,34 
BRANE - 28 Chemical Formula: $C_{12}H_{11}N_3O_2$ Molecular Weight: 229,23 	BRANE - 29 Chemical Formula: $C_{18}H_{15}N_3O_2$ Molecular Weight: 305,33 	BRANE - 30 Chemical Formula: $C_{19}H_{17}N_3O_2$ Molecular Weight: 319,36 
BRANE - 31 Chemical Formula: $C_{13}H_{13}N_3O_2$ Molecular Weight: 243,26 	BRANE - 32 Chemical Formula: $C_{15}H_{17}N_3O_2$ Molecular Weight: 271,31 	BRANE - 33 Chemical Formula: $C_{13}H_{13}N_3O_2$ Molecular Weight: 243,26 
BRANE - 34 Chemical Formula: $C_{14}H_{15}N_3O_2$ Molecular Weight: 257,29 	BRANE - 35 Chemical Formula: $C_{16}H_{19}N_3O_2$ Molecular Weight: 285,34 	BRANE - 36 Chemical Formula: $C_{18}H_{15}N_3O_2$ Molecular Weight: 305,33 
BRANE - 37 Chemical Formula: $C_{19}H_{17}N_3O_2$ Molecular Weight: 319,36 	BRANE - 38 Chemical Formula: $C_{21}H_{21}N_3O_2$ Molecular Weight: 347,41 	BRANE - 39 Chemical Formula: $C_{21}H_{21}N_3O_2$ Molecular Weight: 347,41 

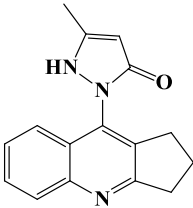
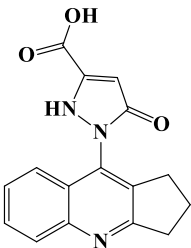
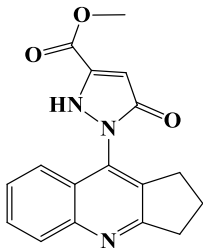
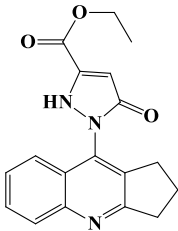
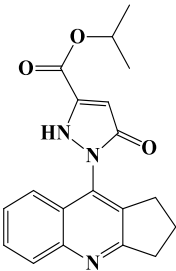
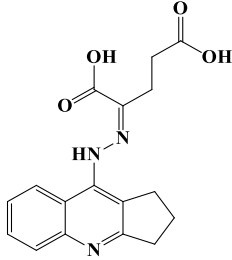
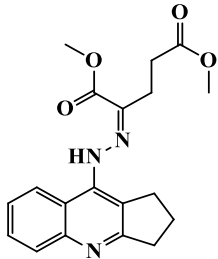
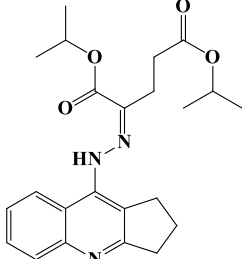
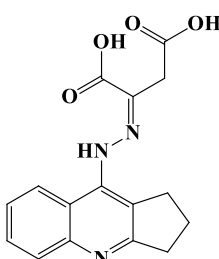
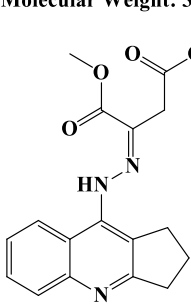
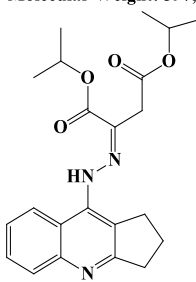
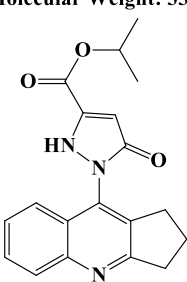
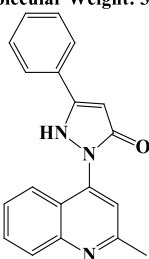
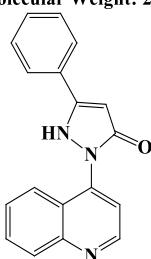
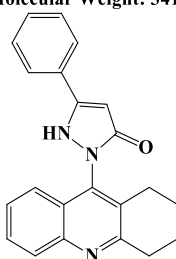
<i>Продовж. табл.А.1</i>		
BRANE - 40	BRANE - 41	BRANE - 42
Chemical Formula: $C_{17}H_{13}N_3O_2$ Molecular Weight: 291,30	Chemical Formula: $C_{18}H_{15}N_3O_2$ Molecular Weight: 305,33	Chemical Formula: $C_{20}H_{19}N_3O_2$ Molecular Weight: 333,38
BRANE - 43	BRANE - 44	BRANE - 45
Chemical Formula: $C_{17}H_{12}ClN_3O_2$ Molecular Weight: 325,75	Chemical Formula: $C_{18}H_{14}ClN_3O_2$ Molecular Weight: 339,78	Chemical Formula: $C_{20}H_{18}ClN_3O_2$ Molecular Weight: 367,83
BRANE - 46	BRANE - 47	BRANE - 48
Chemical Formula: $C_{14}H_{13}N_3O_4$ Molecular Weight: 287,27	Chemical Formula: $C_{16}H_{17}N_3O_4$ Molecular Weight: 315,32	Chemical Formula: $C_{20}H_{25}N_3O_4$ Molecular Weight: 371,43
BRANE - 49	BRANE - 49a	BRANE - 49b
Chemical Formula: $C_{15}H_{15}N_3O_4$ Molecular Weight: 301,30	Chemical Formula: $C_{15}H_{13}N_3Na_2O_4$ Molecular Weight: 345,26	Chemical Formula: $C_{15}H_{13}K_2N_3O_4$ Molecular Weight: 377,48
BRANE - 50	BRANE - 51	BRANE - 53
Chemical Formula: $C_{16}H_{17}N_3O_4$ Molecular Weight: 315,32	Chemical Formula: $C_{21}H_{27}N_3O_4$ Molecular Weight: 385,46	Chemical Formula: $C_{14}H_{15}N_3O_3$ Molecular Weight: 273,29
BRANE - 54	BRANE - 56	BRANE - 58
Chemical Formula: $C_{13}H_{13}N_3O_3$ Molecular Weight: 259,26	Chemical Formula: $C_{14}H_{15}N_3O_3$ Molecular Weight: 273,29	Chemical Formula: $C_{13}H_{12}ClN_3O_3$ Molecular Weight: 293,71

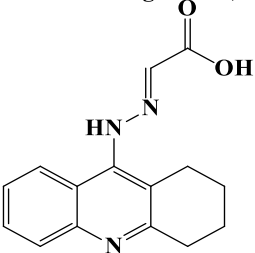
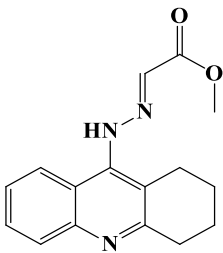
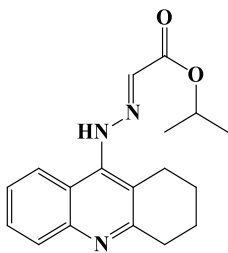
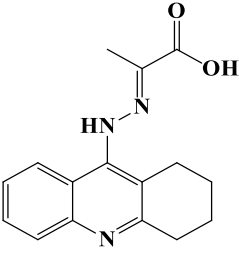
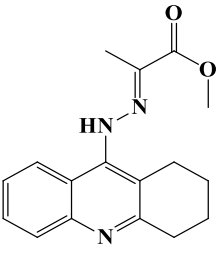
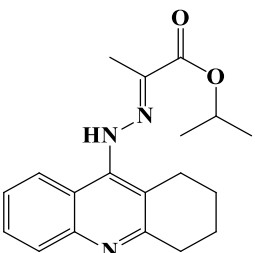
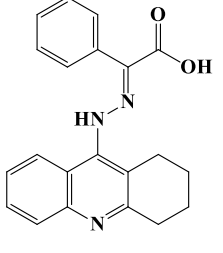
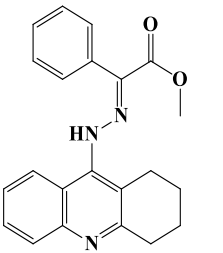
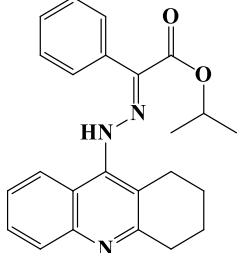
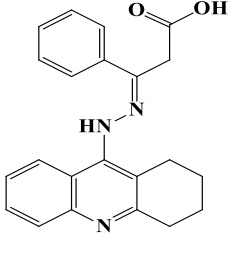
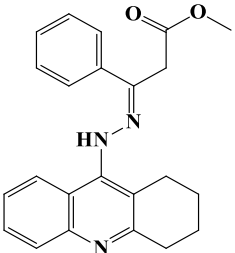
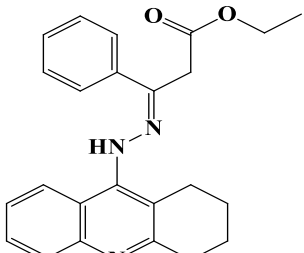
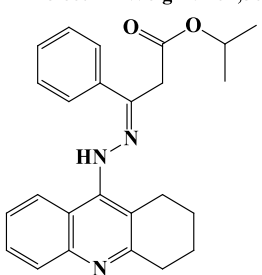
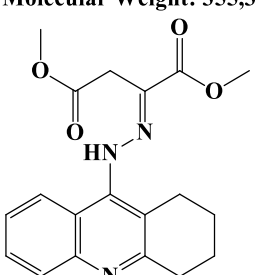
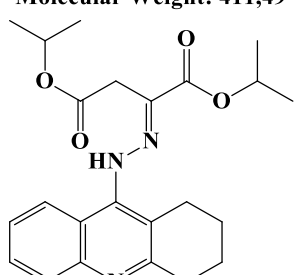
Продовж. табл.А.1

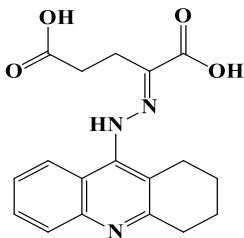
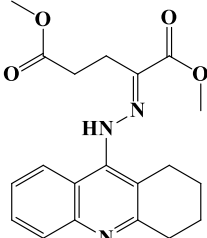
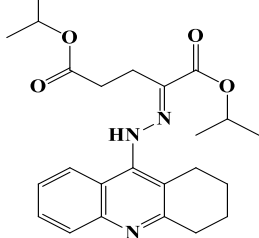
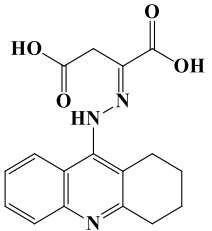
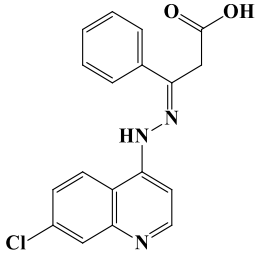
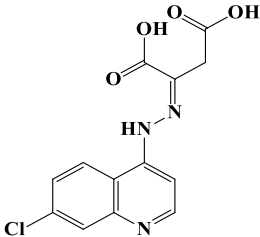
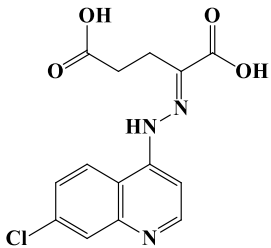
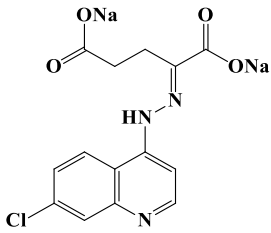
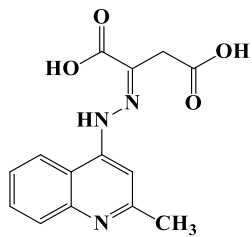
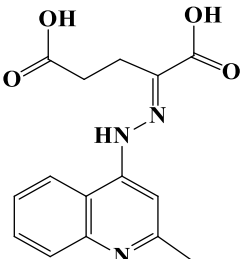
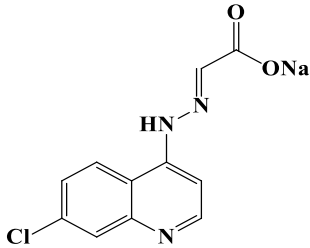
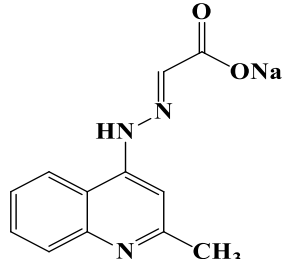
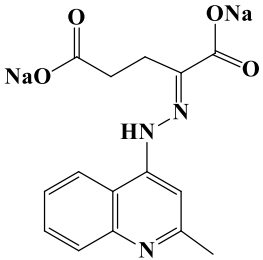
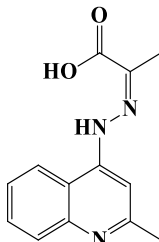
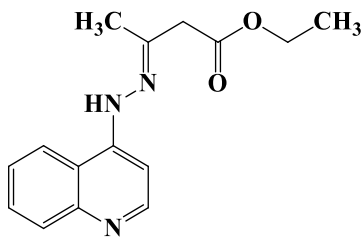
BRANE - 60	BRANE - 61	BRANE - 62
Chemical Formula: $C_{17}H_{14}ClN_3$ Molecular Weight: 295,77 	Chemical Formula: $C_{17}H_{15}N_3O$ Molecular Weight: 277,32 	Chemical Formula: $C_{18}H_{17}N_3O$ Molecular Weight: 291,35 
BRANE - 63	BRANE - 64	BRANE - 65
Chemical Formula: $C_{20}H_{21}N_3O_3$ Molecular Weight: 351,40 	Chemical Formula: $C_{21}H_{21}N_3O_4$ Molecular Weight: 379,41 	Chemical Formula: $C_{17}H_{14}N_4O_2$ Molecular Weight: 306,32 
BRANE - 66	BRANE - 67	BRANE - 68
Chemical Formula: $C_{17}H_{14}N_4O_2$ Molecular Weight: 306,32 	Chemical Formula: $C_{17}H_{14}N_4O_3$ Molecular Weight: 322,32 	Chemical Formula: $C_{18}H_{18}N_4$ Molecular Weight: 290,36 
BRANE - 69	BRANE - 70	BRANE - 71
Chemical Formula: $C_{18}H_{18}N_4O_2$ Molecular Weight: 322,36 	Chemical Formula: $C_{18}H_{16}N_4$ Molecular Weight: 288,35 	Chemical Formula: $C_{18}H_{13}N_5O_3$ Molecular Weight: 347,33 
BRANE - 72	BRANE - 73	BRANE - 74
Chemical Formula: $C_{18}H_{18}N_4O_2$ Molecular Weight: 322,36 	Chemical Formula: $C_{18}H_{14}N_4O$ Molecular Weight: 302,33 	Chemical Formula: $C_{19}H_{16}N_4O$ Molecular Weight: 316,36 

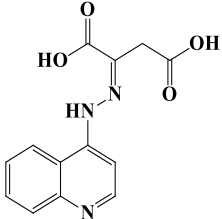
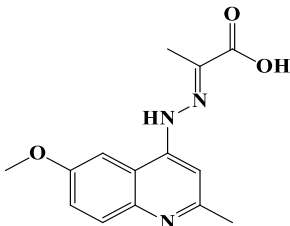
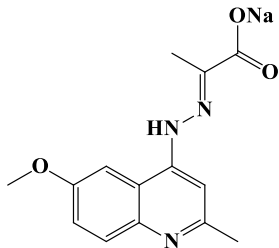
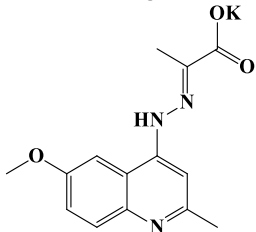
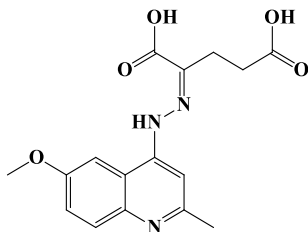
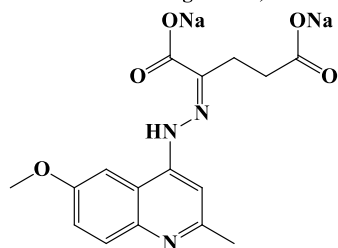
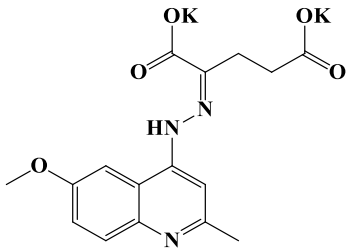
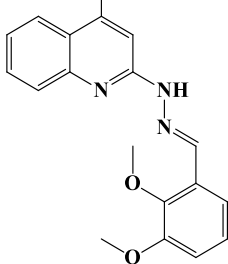
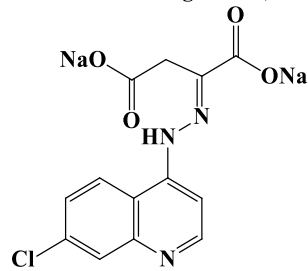
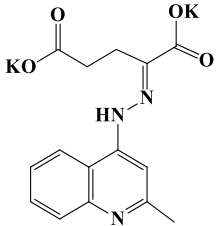
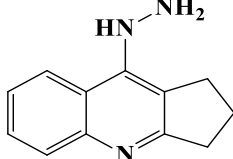
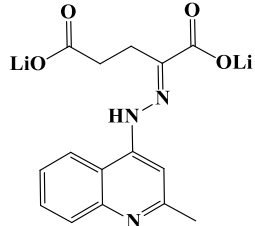
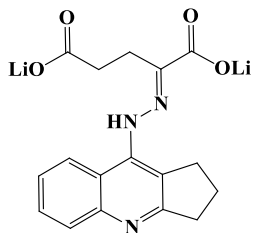
Продовж. табл.А.1		
BRANE - 75 Chemical Formula: $C_{18}H_{13}N_5O_3$ Molecular Weight: 347,33 	BRANE - 76 Chemical Formula: $C_{20}H_{17}BrN_4O$ Molecular Weight: 409,28 	BRANE - 77 Chemical Formula: $C_{19}H_{20}N_4$ Molecular Weight: 304,39 
BRANE - 78 Chemical Formula: $C_{13}H_{12}BrN_3O_2$ Molecular Weight: 322,16 	BRANE - 79 Chemical Formula: $C_{12}H_{10}BrN_3O_2$ Molecular Weight: 308,13 	BRANE - 80 Chemical Formula: $C_{17}H_{13}Br_2N_3$ Molecular Weight: 419,11 
BRANE - 81 Chemical Formula: $C_{17}H_{13}BrClN_3$ Molecular Weight: 374,66 	BRANE - 82 Chemical Formula: $C_{17}H_{13}BrN_4O_2$ Molecular Weight: 385,21 	BRANE - 83 Chemical Formula: $C_{17}H_{13}BrN_4O_2$ Molecular Weight: 385,21 
BRANE - 84 Chemical Formula: $C_{18}H_{16}BrN_3O$ Molecular Weight: 370,24 	BRANE - 85 Chemical Formula: $C_{18}H_{13}BrN_4O$ Molecular Weight: 381,23 	BRANE - 86 Chemical Formula: $C_{18}H_{12}BrN_5O_3$ Molecular Weight: 426,22 
BRANE - 87 Chemical Formula: $C_{20}H_{15}BrN_4O_2$ Molecular Weight: 423,26 	BRANE - 88 Chemical Formula: $C_{14}H_{13}N_3O_2$ Molecular Weight: 255,27 	BRANE - 89 Chemical Formula: $C_{15}H_{15}N_3O_2$ Molecular Weight: 269,30 

<i>Продовж. табл. А.1</i>		
BRANE - 90 Chemical Formula: $C_{20}H_{17}N_3O_2$ Molecular Weight: 331,37	BRANE - 91 Chemical Formula: $C_{15}H_{15}N_3O_2$ Molecular Weight: 269,30	BRANE - 92 Chemical Formula: $C_{17}H_{19}N_3O_2$ Molecular Weight: 297,35
		
BRANE - 93 Chemical Formula: $C_{16}H_{17}N_3O_2$ Molecular Weight: 283,33	BRANE - 94 Chemical Formula: $C_{18}H_{21}N_3O_2$ Molecular Weight: 311,38	BRANE - 95 Chemical Formula: $C_{21}H_{19}N_3O_2$ Molecular Weight: 345,39
		
BRANE - 96 Chemical Formula: $C_{23}H_{23}N_3O_2$ Molecular Weight: 373,45	BRANE - 97 Chemical Formula: $C_{21}H_{19}N_3O_2$ Molecular Weight: 345,39	BRANE - 98 Chemical Formula: $C_{22}H_{21}N_3O_2$ Molecular Weight: 359,42
		
BRANE - 99 Chemical Formula: $C_{23}H_{23}N_3O_2$ Molecular Weight: 373,45	BRANE - 100 Chemical Formula: $C_{24}H_{25}N_3O_2$ Molecular Weight: 387,47	BRANE - 101 Chemical Formula: $C_{16}H_{17}N_3O_2$ Molecular Weight: 283,33
		
BRANE - 102 Chemical Formula: $C_{17}H_{19}N_3O_2$ Molecular Weight: 297,35	BRANE - 103 Chemical Formula: $C_{18}H_{21}N_3O_2$ Molecular Weight: 311,38	BRANE - 104 Chemical Formula: $C_{19}H_{23}N_3O_2$ Molecular Weight: 325,40
		

<i>Продовж. табл. А.1</i>		
BRANE - 105 Chemical Formula: $C_{16}H_{15}N_3O$ Molecular Weight: 265,31 	BRANE - 106 Chemical Formula: $C_{16}H_{13}N_3O_3$ Molecular Weight: 295,29 	BRANE - 107 Chemical Formula: $C_{17}H_{15}N_3O_3$ Molecular Weight: 309,32 
BRANE - 108 Chemical Formula: $C_{18}H_{17}N_3O_3$ Molecular Weight: 323,35 	BRANE - 109 Chemical Formula: $C_{19}H_{19}N_3O_3$ Molecular Weight: 337,37 	BRANE - 110 Chemical Formula: $C_{17}H_{17}N_3O_4$ Molecular Weight: 327,33 
BRANE - 111 Chemical Formula: $C_{19}H_{21}N_3O_4$ Molecular Weight: 355,39 	BRANE - 112 Chemical Formula: $C_{23}H_{29}N_3O_4$ Molecular Weight: 411,49 	BRANE - 113 Chemical Formula: $C_{16}H_{15}N_3O_4$ Molecular Weight: 313,31 
BRANE - 114 Chemical Formula: $C_{18}H_{19}N_3O_4$ Molecular Weight: 341,36 	BRANE - 115 Chemical Formula: $C_{22}H_{27}N_3O_4$ Molecular Weight: 397,47 	BRANE - 116 Chemical Formula: $C_{19}H_{19}N_3O_3$ Molecular Weight: 337,37 
BRANE - 117 Chemical Formula: $C_{19}H_{15}N_3O$ Molecular Weight: 301,34 	BRANE - 118 Chemical Formula: $C_{18}H_{13}N_3O$ Molecular Weight: 287,32 	BRANE - 119 Chemical Formula: $C_{22}H_{19}N_3O$ Molecular Weight: 341,41 

<i>Продовж. табл.А.1</i>		
BRANE - 120 Chemical Formula: $C_{15}H_{15}N_3O_2$ Molecular Weight: 269,30 	BRANE - 121 Chemical Formula: $C_{16}H_{17}N_3O_2$ Molecular Weight: 283,33 	BRANE - 122 Chemical Formula: $C_{18}H_{21}N_3O_2$ Molecular Weight: 311,38 
BRANE - 123 Chemical Formula: $C_{16}H_{17}N_3O_2$ Molecular Weight: 283,33 	BRANE - 124 Chemical Formula: $C_{17}H_{19}N_3O_2$ Molecular Weight: 297,35 	BRANE - 125 Chemical Formula: $C_{19}H_{23}N_3O_2$ Molecular Weight: 325,40 
BRANE - 126 Chemical Formula: $C_{21}H_{19}N_3O_2$ Molecular Weight: 345,39 	BRANE - 127 Chemical Formula: $C_{22}H_{21}N_3O_2$ Molecular Weight: 359,42 	BRANE - 128 Chemical Formula: $C_{24}H_{25}N_3O_2$ Molecular Weight: 387,47 
BRANE - 129 Chemical Formula: $C_{22}H_{21}N_3O_2$ Molecular Weight: 359,42 	BRANE - 130 Chemical Formula: $C_{23}H_{23}N_3O_2$ Molecular Weight: 373,45 	BRANE - 131 Chemical Formula: $C_{24}H_{25}N_3O_2$ Molecular Weight: 387,47 
BRANE - 132 Chemical Formula: $C_{25}H_{27}N_3O_2$ Molecular Weight: 401,50 	BRANE - 133 Chemical Formula: $C_{19}H_{21}N_3O_4$ Molecular Weight: 355,39 	BRANE - 134 Chemical Formula: $C_{23}H_{29}N_3O_4$ Molecular Weight: 411,49 

<i>Продовж. табл.А.1</i>		
BRANE - 135 Chemical Formula: $C_{18}H_{19}N_3O_4$ Molecular Weight: 341,36 	BRANE - 136 Chemical Formula: $C_{20}H_{23}N_3O_4$ Molecular Weight: 369,41 	BRANE - 137 Chemical Formula: $C_{24}H_{31}N_3O_4$ Molecular Weight: 425,52 
BRANE - 138 Chemical Formula: $C_{17}H_{17}N_3O_4$ Molecular Weight: 327,33 	BRANE - 139 Chemical Formula: $C_{18}H_{14}ClN_3O_2$ Molecular Weight: 339,78 	BRANE - 140 Chemical Formula: $C_{13}H_{10}ClN_3O_4$ Molecular Weight: 307,69 
BRANE - 141 Chemical Formula: $C_{14}H_{12}ClN_3O_4$ Molecular Weight: 321,72 	BRANE - 141a Chemical Formula: $C_{14}H_{10}ClN_3Na_2O_4$ Molecular Weight: 365,68 	BRANE - 142 Chemical Formula: $C_{14}H_{13}N_3O_4$ Molecular Weight: 287,27 
BRANE - 143 Chemical Formula: $C_{15}H_{15}N_3O_4$ Molecular Weight: 301,30 	BRANE - 144 Chemical Formula: $C_{11}H_7ClN_3NaO_2$ Molecular Weight: 271,63 	BRANE - 145 Chemical Formula: $C_{12}H_{10}N_3NaO_2$ Molecular Weight: 251,22 
BRANE - 146 Chemical Formula: $C_{15}H_{13}N_3Na_2O_4$ Molecular Weight: 345,26 	BRANE - 147 Chemical Formula: $C_{13}H_{13}N_3O_2$ Molecular Weight: 243,26 	BRANE - 148 Chemical Formula: $C_{15}H_{17}N_3O_2$ Molecular Weight: 271,31 

<i>Продовж. табл.А.1</i>		
BRANE - 149 Chemical Formula: $C_{13}H_{11}N_3O_4$ Molecular Weight: 273,24 	BRANE - 150 Chemical Formula: $C_{14}H_{15}N_3O_3$ Molecular Weight: 273,29 	BRANE - 151 Chemical Formula: $C_{14}H_{14}N_3NaO_3$ Molecular Weight: 295,27 
BRANE - 152 Chemical Formula: $C_{14}H_{14}KN_3O_3$ Molecular Weight: 311,38 	BRANE - 153 Chemical Formula: $C_{16}H_{17}N_3O_5$ Molecular Weight: 331,32 	BRANE - 154 Chemical Formula: $C_{16}H_{15}N_3Na_2O_5$ Molecular Weight: 375,29 
BRANE - 155 Chemical Formula: $C_{16}H_{15}K_2N_3O_5$ Molecular Weight: 407,50 	BRANE - 156 Chemical Formula: $C_{19}H_{19}N_3O_2$ Molecular Weight: 321,37 	BRANE - 157 Chemical Formula: $C_{13}H_8ClN_3Na_2O_4$ Molecular Weight: 351,65 
BRANE - 158 Chemical Formula: $C_{15}H_{13}K_2N_3O_4$ Molecular Weight: 377,48 	BRANE - 159 Chemical Formula: $C_{12}H_{13}N_3$ Molecular Weight: 199,25 	BRANE - 160 Chemical Formula: $C_{15}H_{13}Li_2N_3O_4$ Molecular Weight: 313,16 
BRANE - 161 Chemical Formula: $C_{17}H_{15}Li_2N_3O_4$ Molecular Weight: 339,20 		

Додаток Б

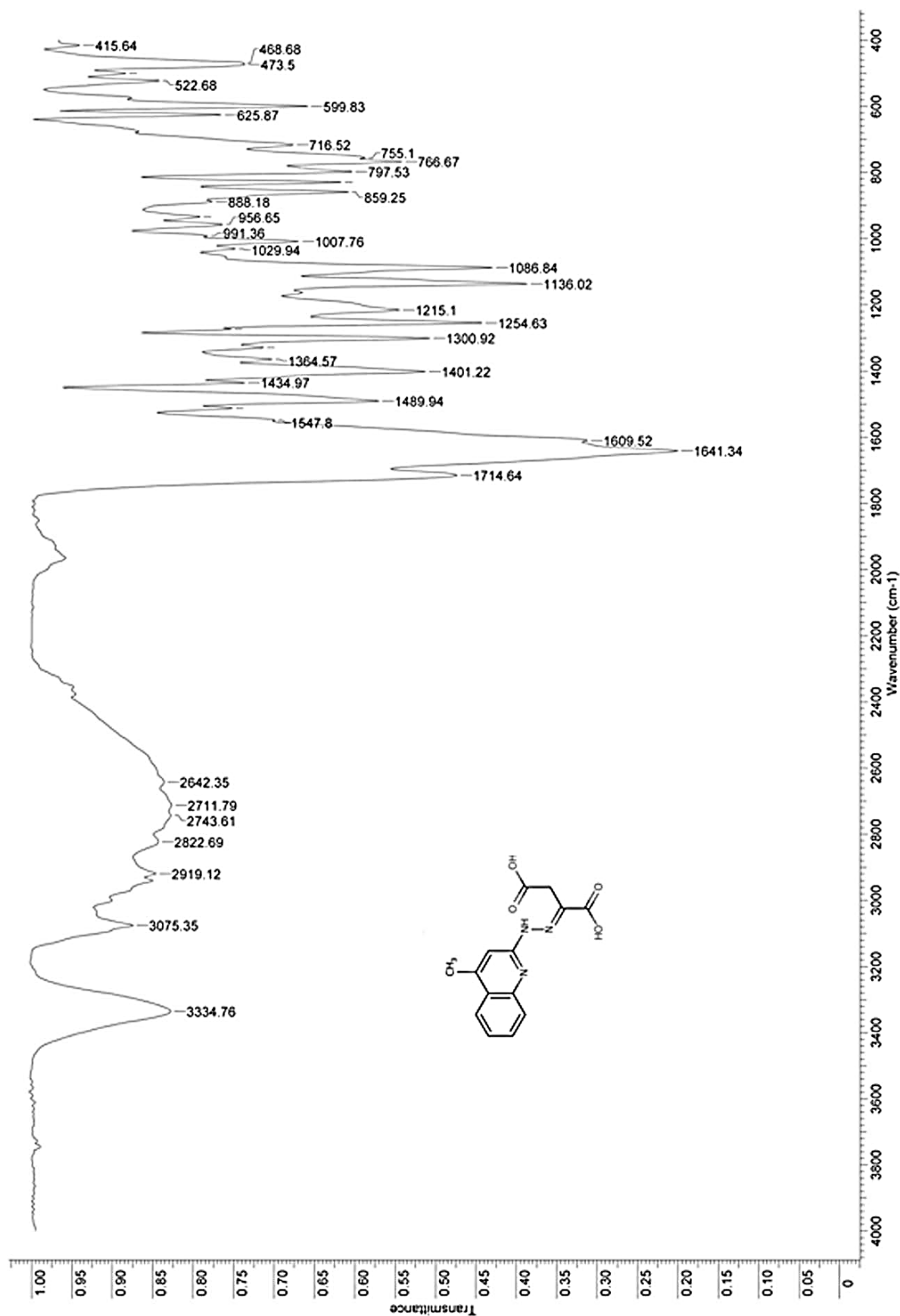


Рисунок Б.1 – ІЧ-спектр 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)бутандіової кислоти (Сполука 3)

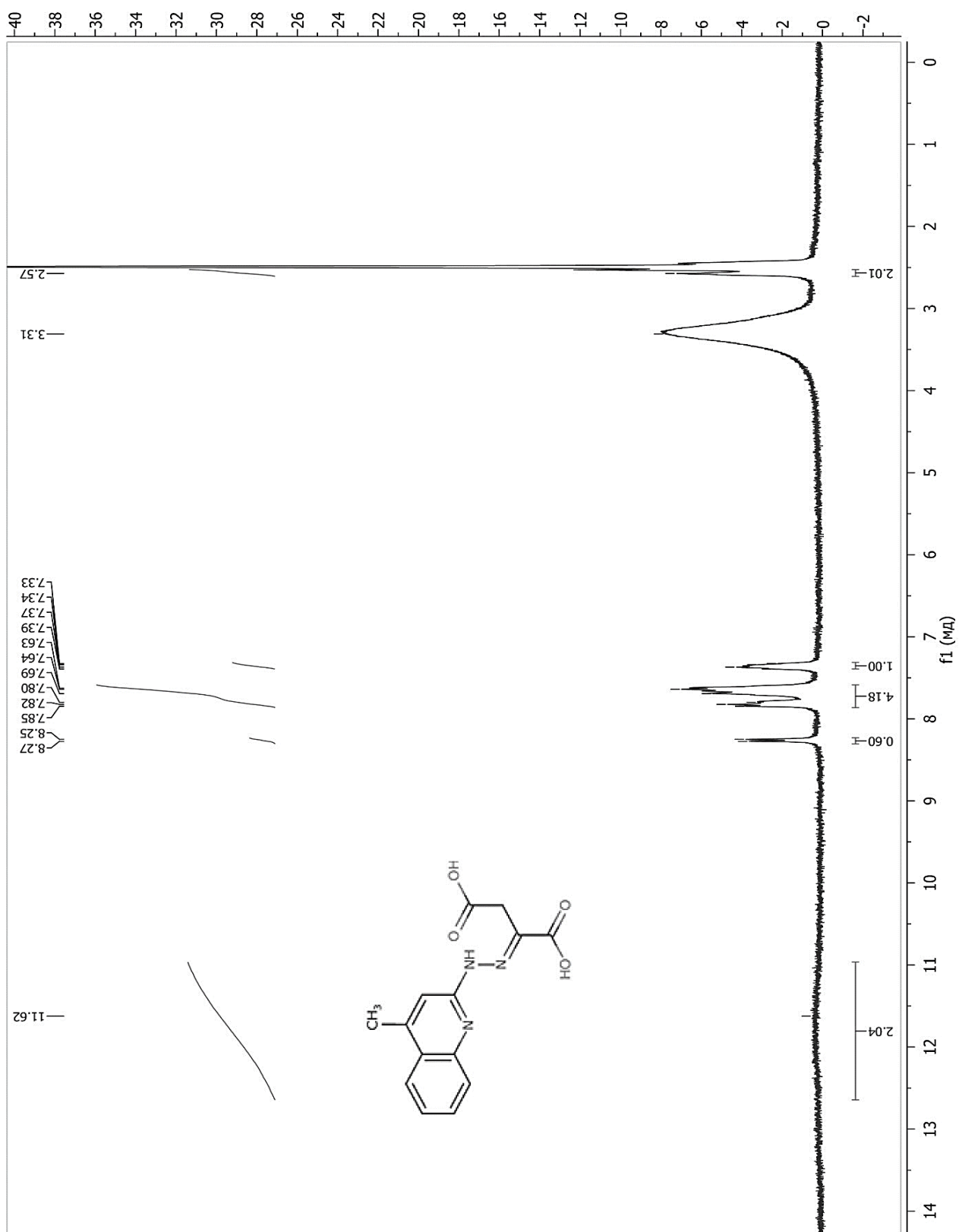


Рисунок Б.2 – ¹H ЯМР-спектр 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)бутандіової кислоти (Сполука 3)

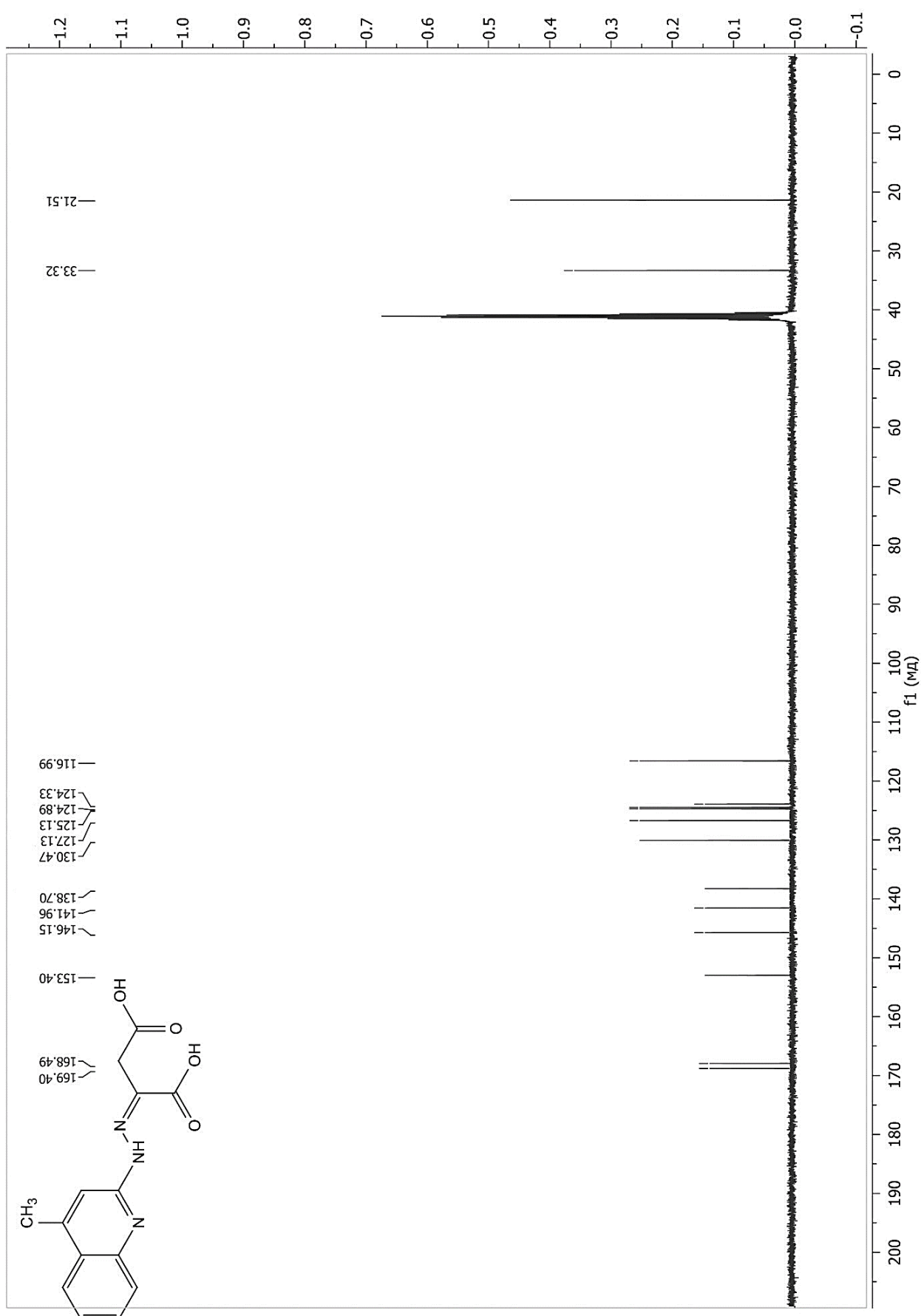
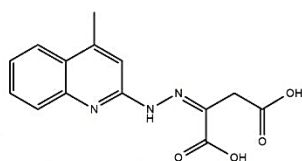


Рисунок Б.3 – ^{13}C ЯМР-спектр 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)бутандіової кислоти (Сполука 3)

MaxPeak: 100.00%
Ret_Time: 0.826 min

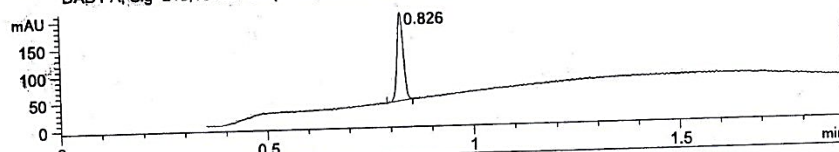


Mol Wt
Exact Mass

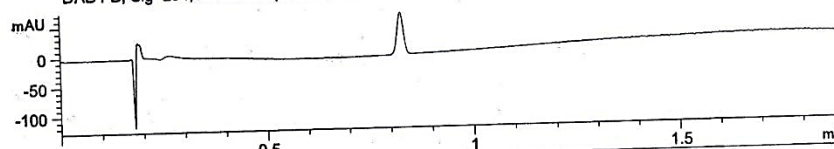
#	Time	Area%
1	0.826	100.00

CLQ328312

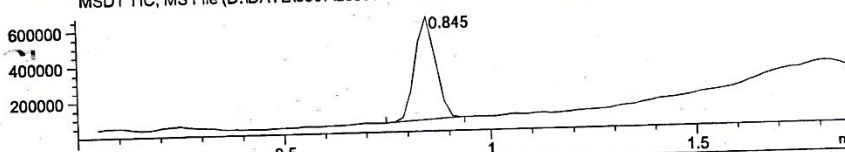
DAD1 A, Sig=215,10 Ref=off (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D)



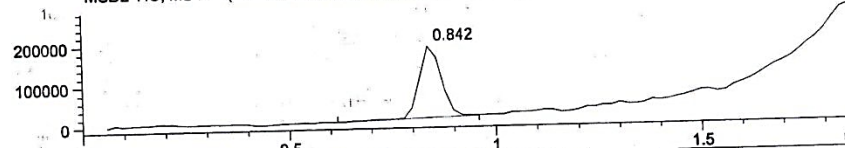
DAD1 B, Sig=254,10 Ref=off (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D)



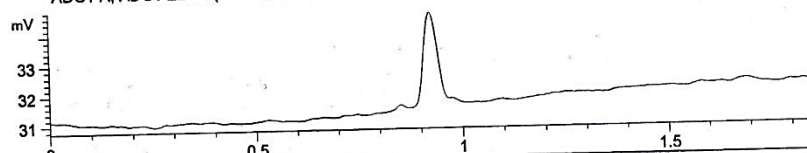
MSD1 TIC, MS File (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D) API-ES, Scan, Frag: 120, "Pos"



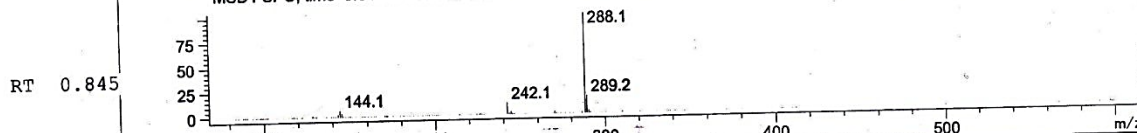
MSD2 TIC, MS File (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D) , Scan, Frag: 120, "Neg"



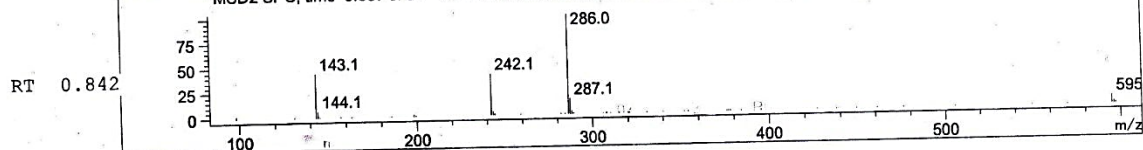
ADC1 A, ADC1 ELSD (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D)



*MSD1 SPC, time=0.848 of D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D API-ES, Scan, Frag: 120, "Pos"



*MSD2 SPC, time=0.837 of D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D , Scan, Frag: 120, "Neg"



Inj.Date 3/7/2023

CH

-SL-

Acq. Method C:\HPCHEM\ -> ->

Рисунок Б.4 — LCMS-спектр 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)бутандіової кислоти (Сполука 3)

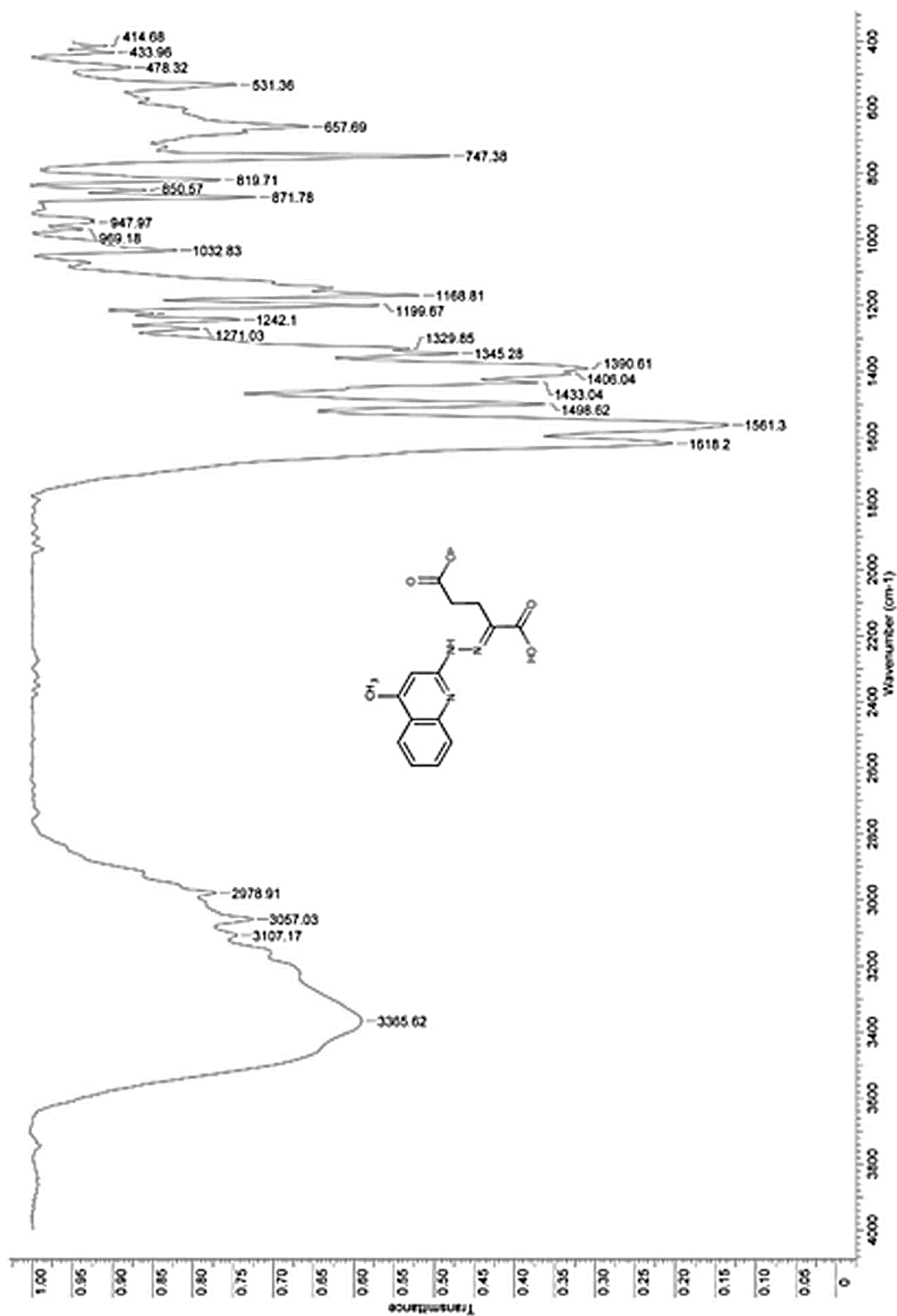


Рисунок Б.5 – ІЧ-спектр 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіової кислоти (Сполука 4)

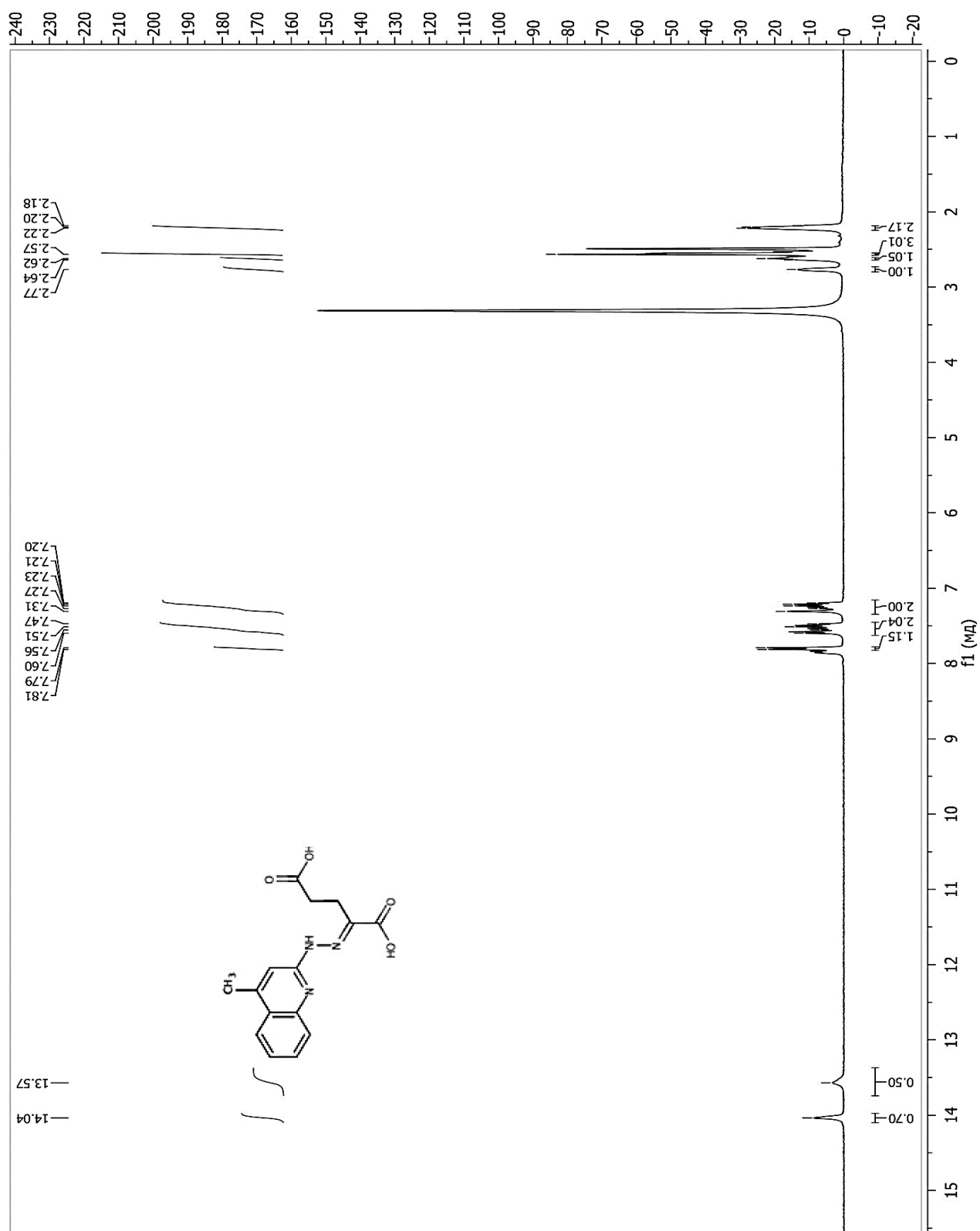


Рисунок Б.6 – ¹H ЯМР-спектр 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіової кислоти (Сполука 4)

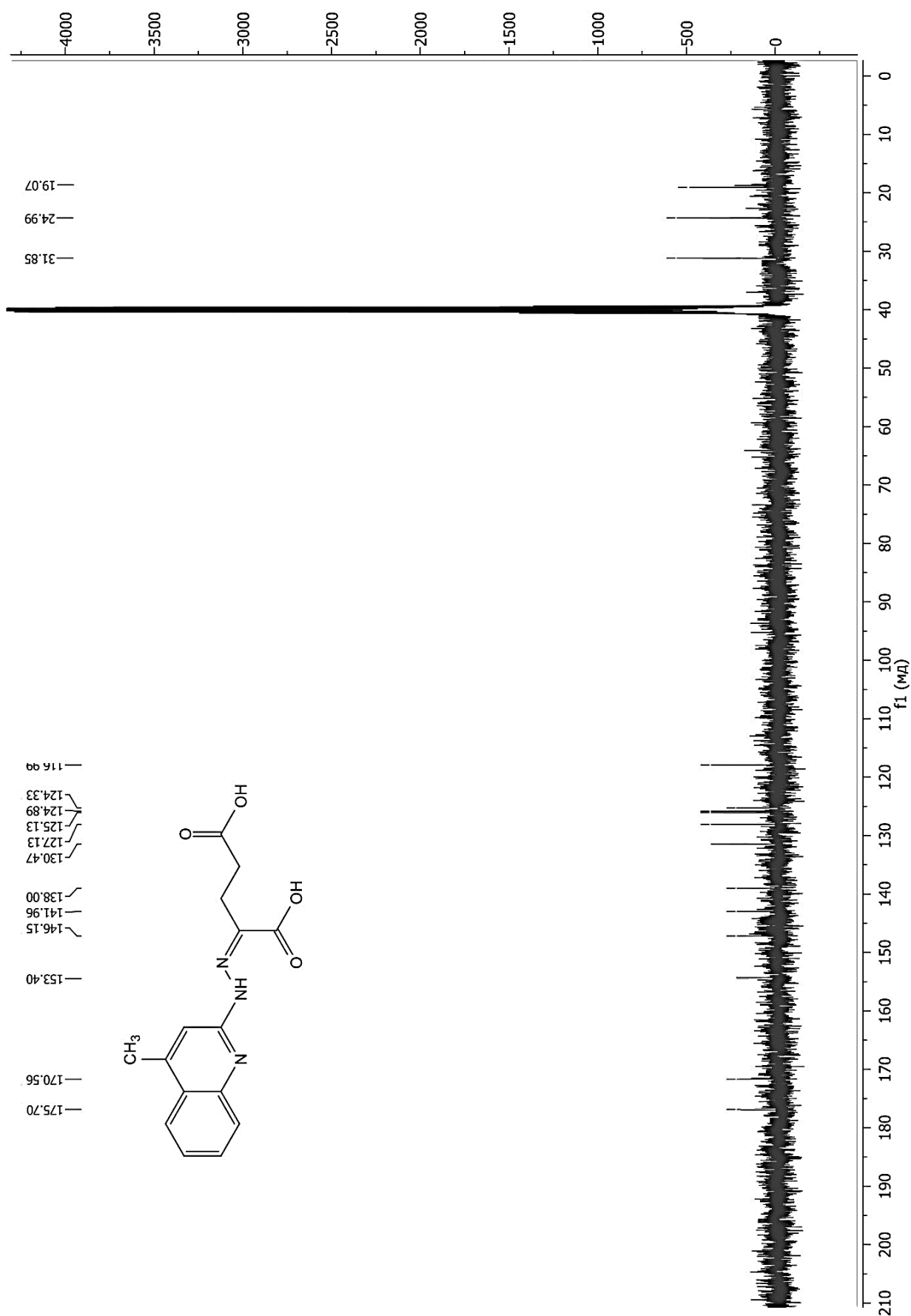


Рисунок Б.7 – ¹³C ЯМР-спектр 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіової кислоти (Сполука 4)

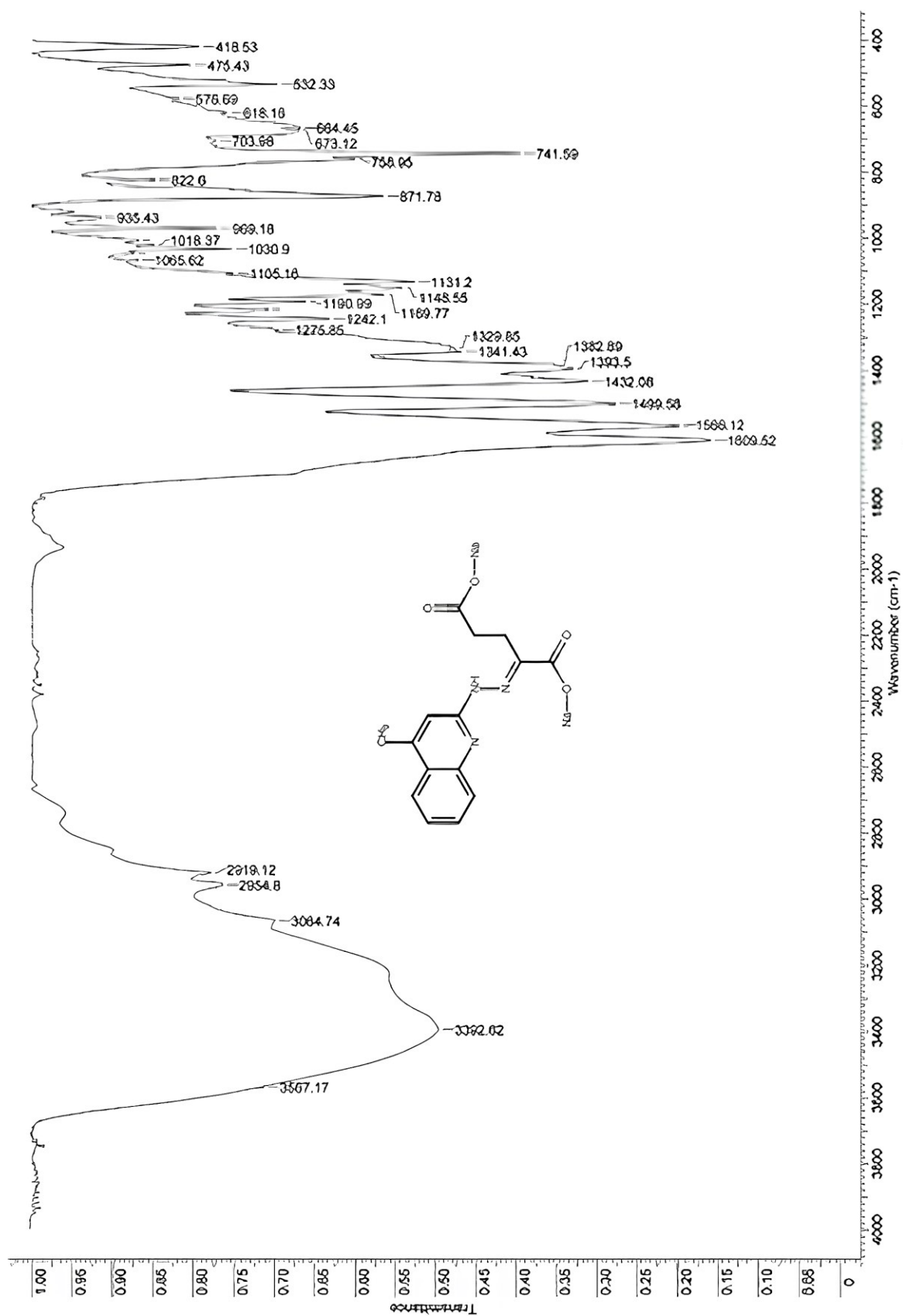


Рисунок Б.8 – ІЧ-спектр натрію 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіоату (5)

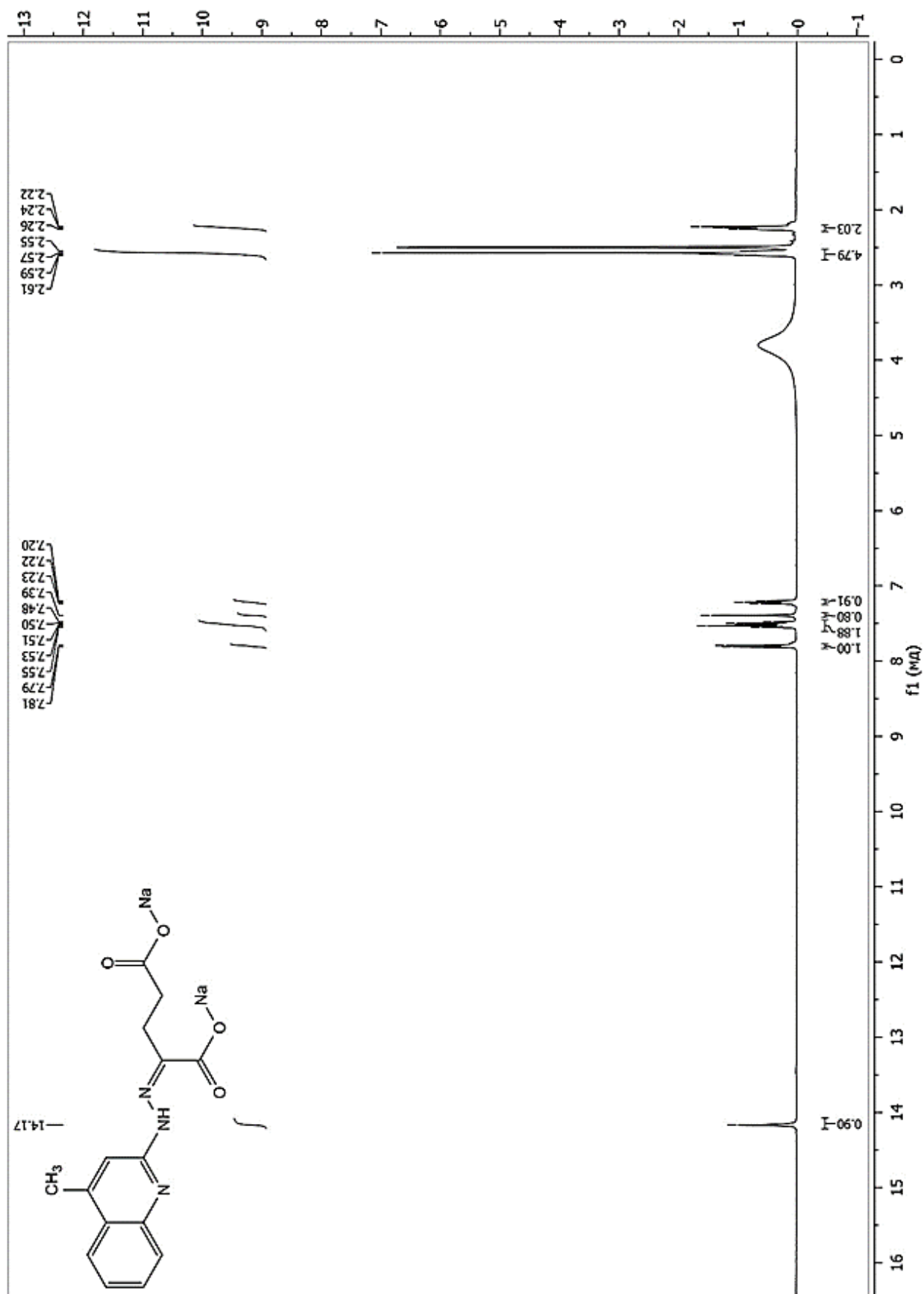


Рисунок Б.9 – ¹H ЯМР-спектр натрію 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіоату (Сполука **5**)

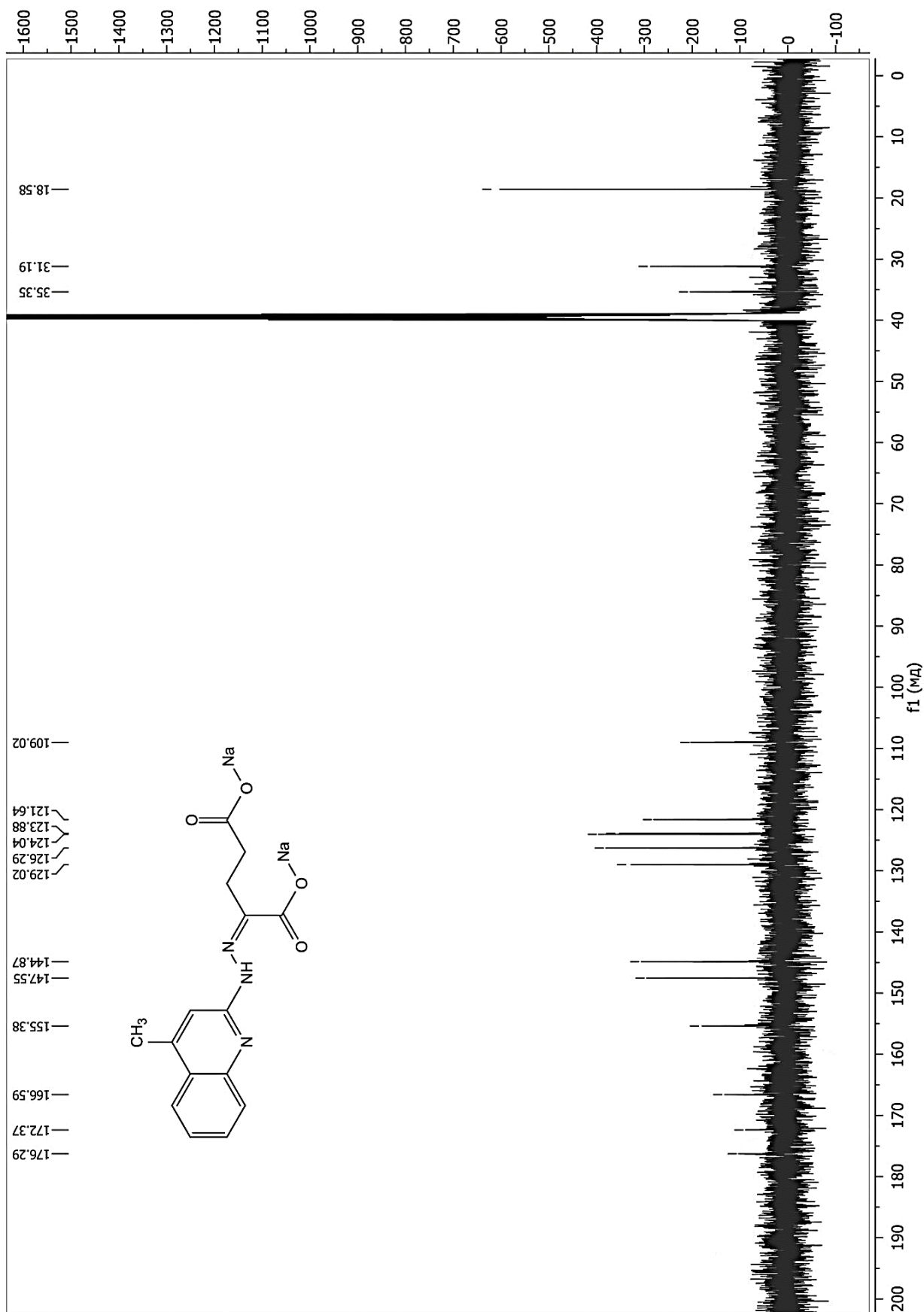
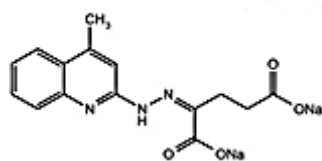


Рисунок Б.10 – ^{13}C ЯМР-спектр натрію 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіоату (Сполука 5)

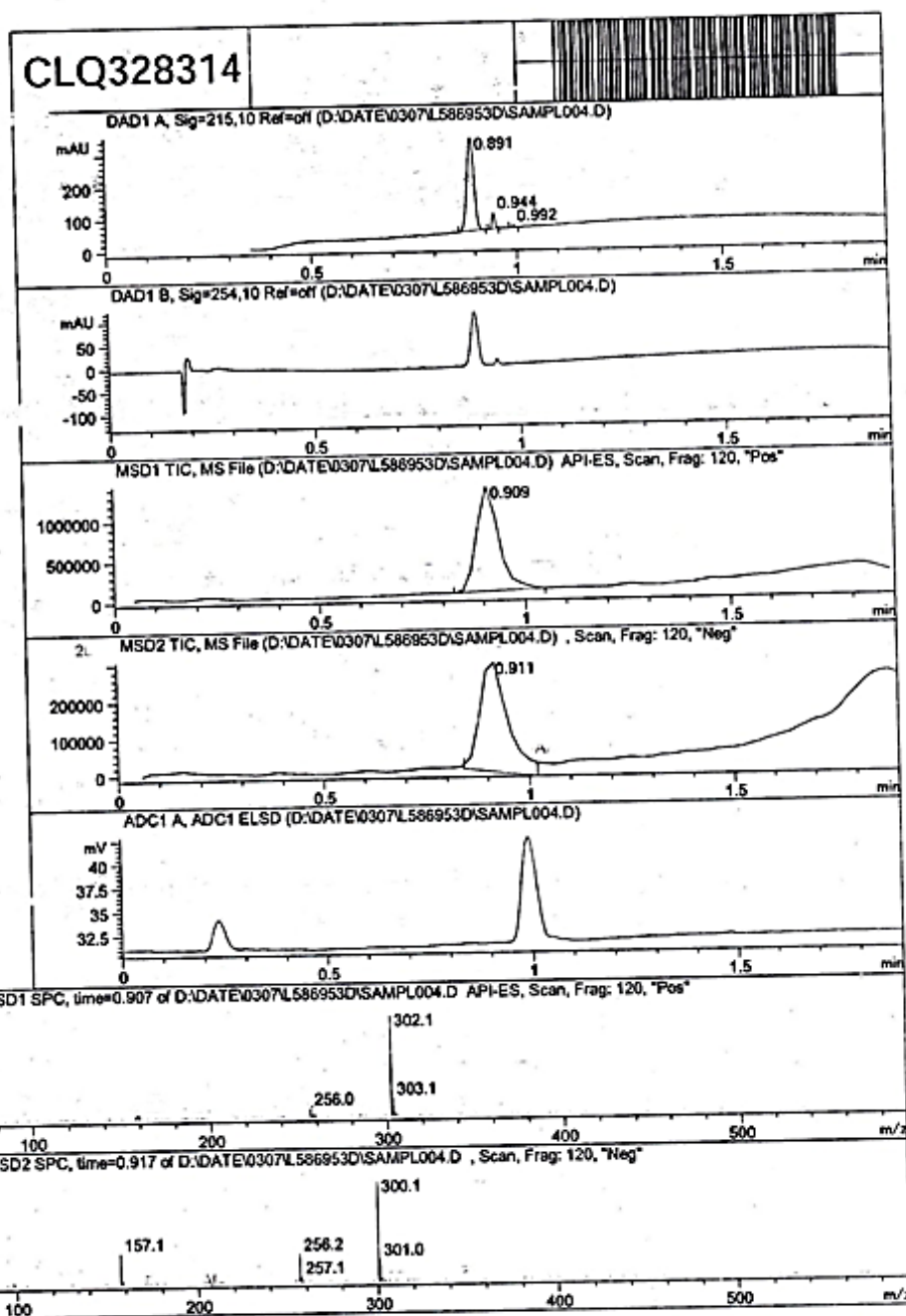
MaxPeak: 92.21%
Ret_Time: 0.891 min



Mol Wt 0

Exact Mass

#	Time	Area%
1	0.891	92.21
2	0.944	6.69
3	0.992	1.10



Inj.Date 3/7/2023

CH

-SL-

Acq. Method C:\NHCHEM\ -> ->

Рисунок Б.11 – LCMS-спектр натрію 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіоату (Сполука 5)

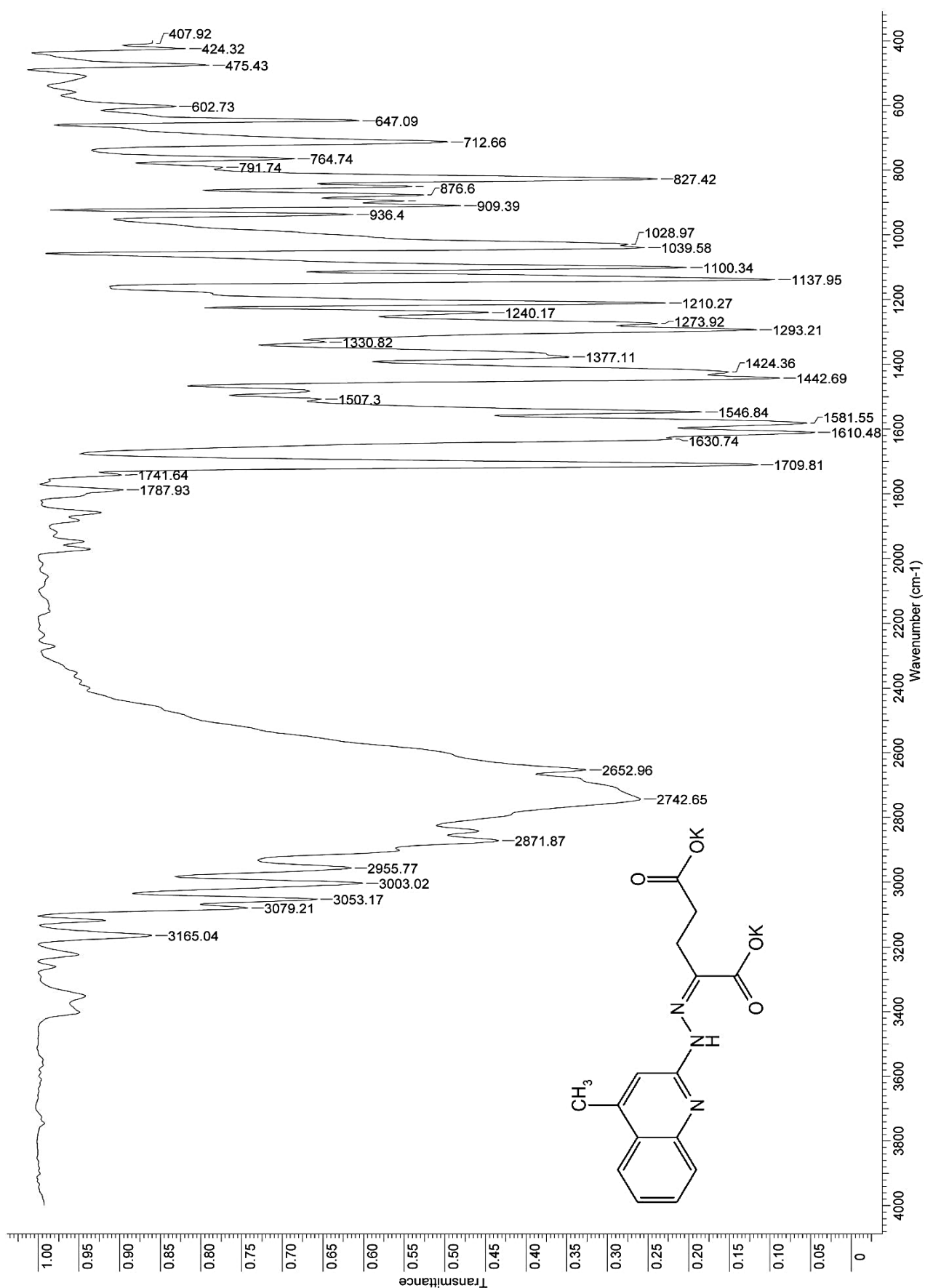


Рисунок Б.12 – ІЧ-спектр калію 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіоату (Сполука 6)

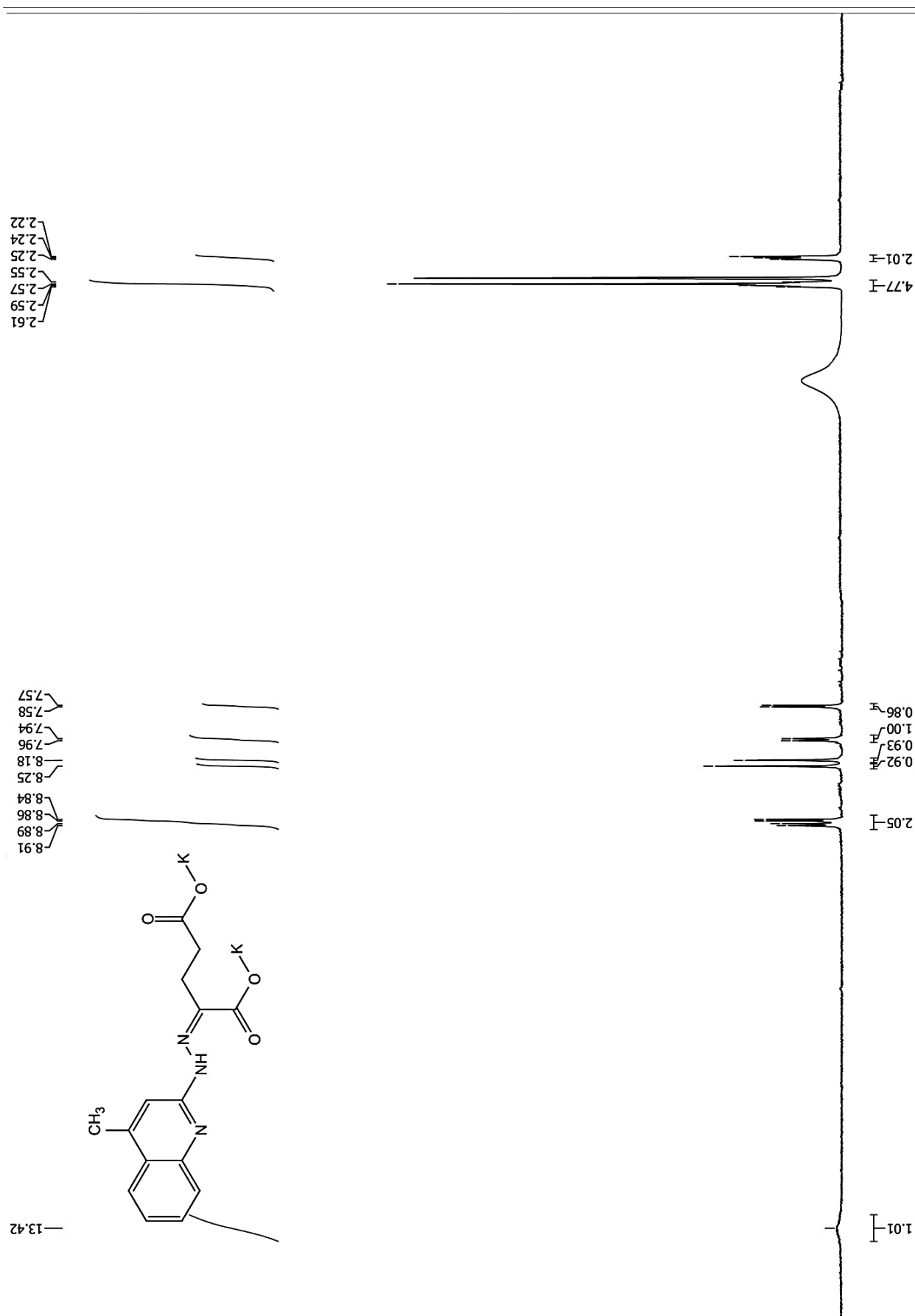


Рисунок Б.13 – ^1H ЯМР-спектр калію 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіоату (Сполука 6)

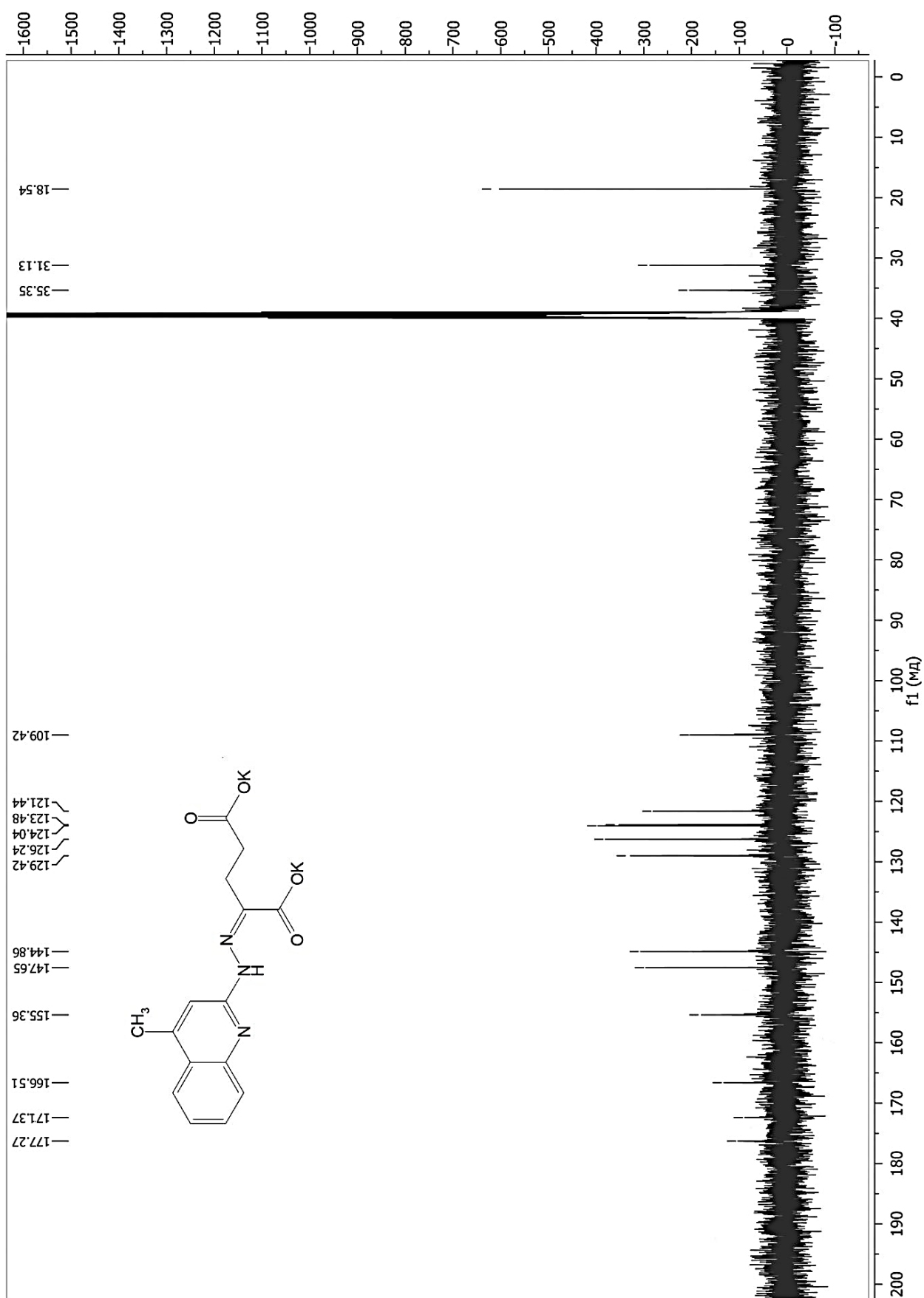
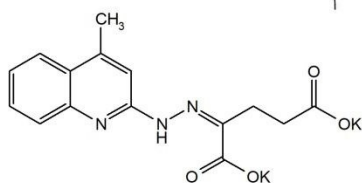


Рисунок Б.14 – ^{13}C ЯМР-спектр калію 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіоату (Сполука 6)

MaxPeak: 95.81%
Ret Time: 0.831 min

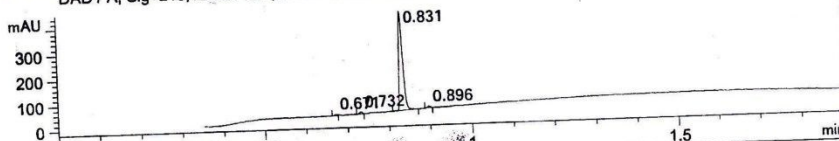


Mol Wt
Exact Mass

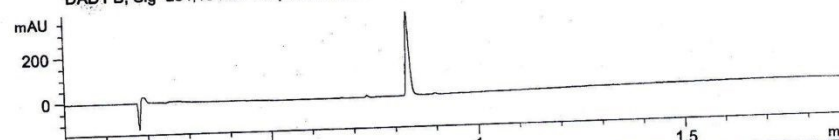
#	Time	Area%
1	0.671	1.13
2	0.732	1.63
3	0.831	95.81
4	0.896	1.43

CLQ328315

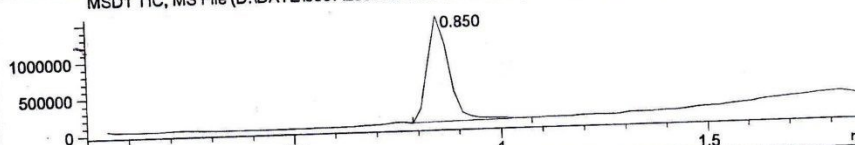
DAD1 A, Sig=215,10 Ref=off (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL003.D)



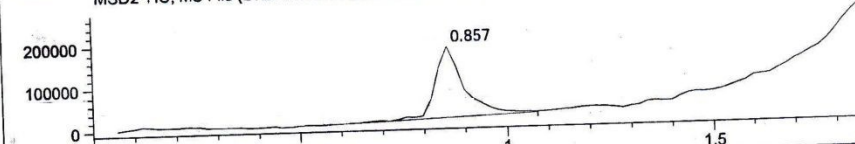
DAD1 B, Sig=254,10 Ref=off (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL003.D)



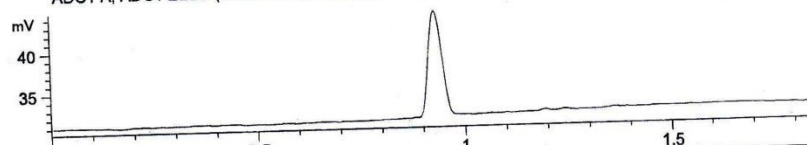
MSD1 TIC, MS File (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL003.D) API-ES, Scan, Frag: 120, "Pos"



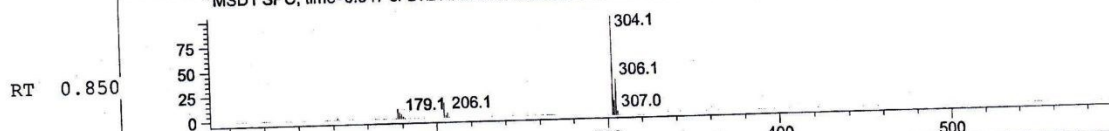
MSD2 TIC, MS File (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL003.D) , Scan, Frag: 120, "Neg"



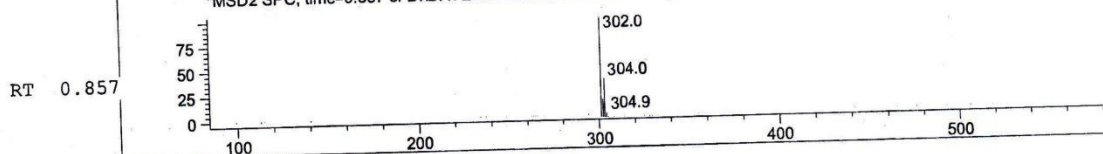
ADC1 A, ADC1 ELSD (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL003.D)



*MSD1 SPC, time=0.847 of D:\DATE\0307\586953D\SAMPL003.D API-ES, Scan, Frag: 120, "Pos"



*MSD2 SPC, time=0.857 of D:\DATE\0307\586953D\SAMPL003.D , Scan, Frag: 120, "Neg"



Inj.Date 3/7/2023

Acq. Method C:\HPCHEM\ -> ->

Рисунок Б.15 – LCMS-спектр калію 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіоату (Сполука 6)

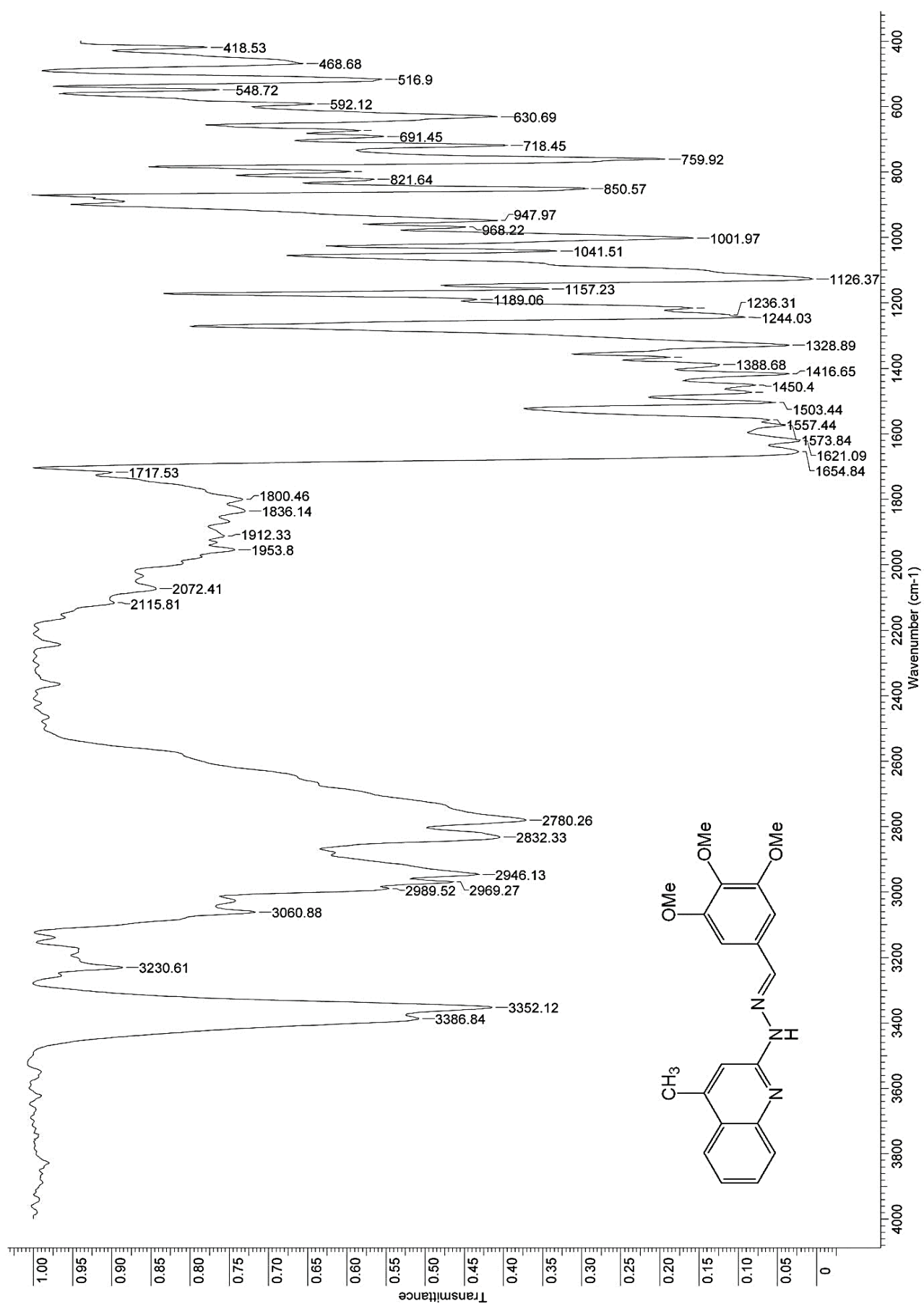


Рисунок Б.16 – ІЧ-спектр 4-метил-2-(2-(3,4,5-триметоксibenзиліден)гідразиніл)хіноліну (Сполука 9)

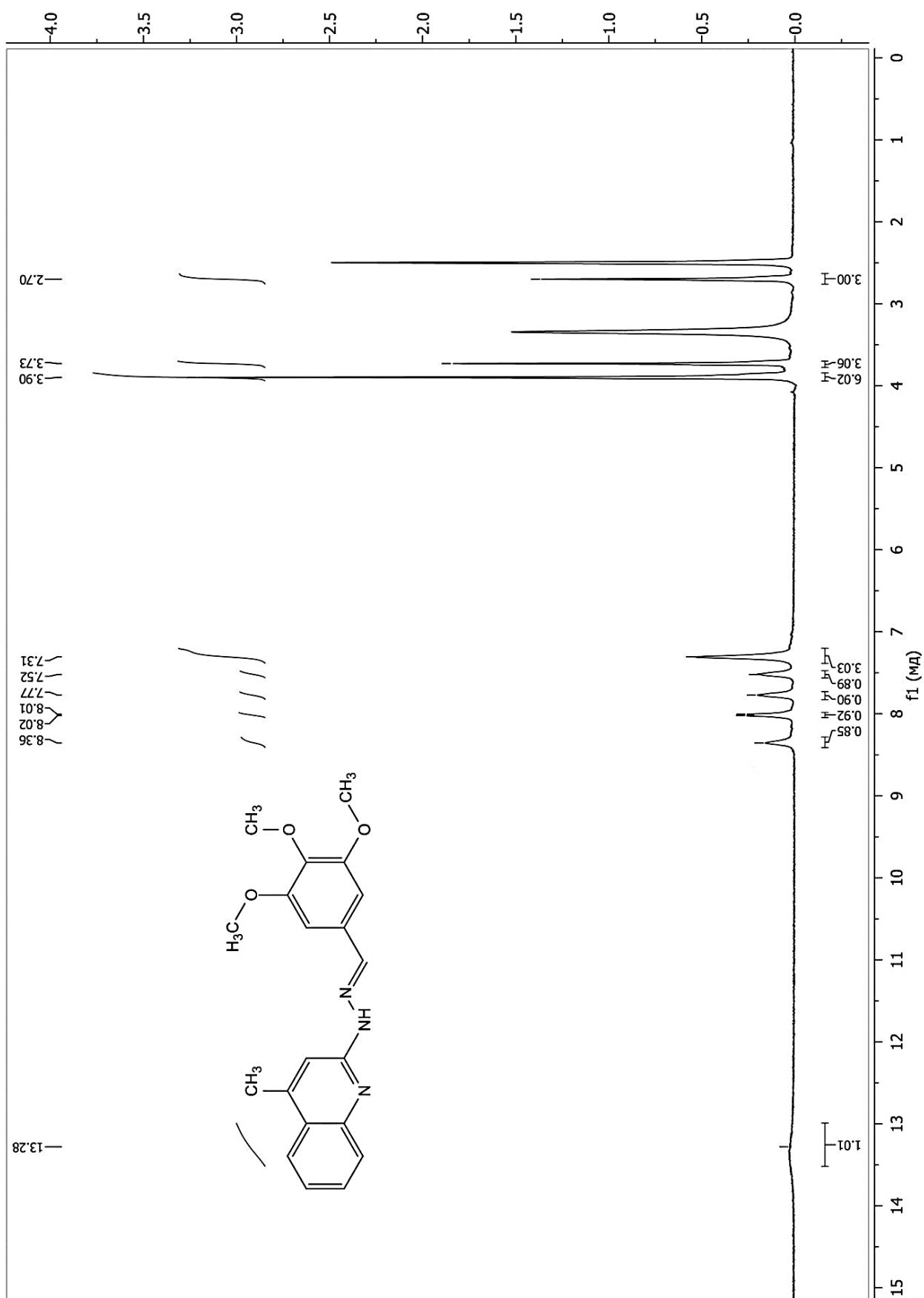


Рисунок Б.17 – ^1H ЯМР-спектр 4-метил-2-(2-(3,4,5-триметоксибензиліден)гідразиніл)хіноліну (9)

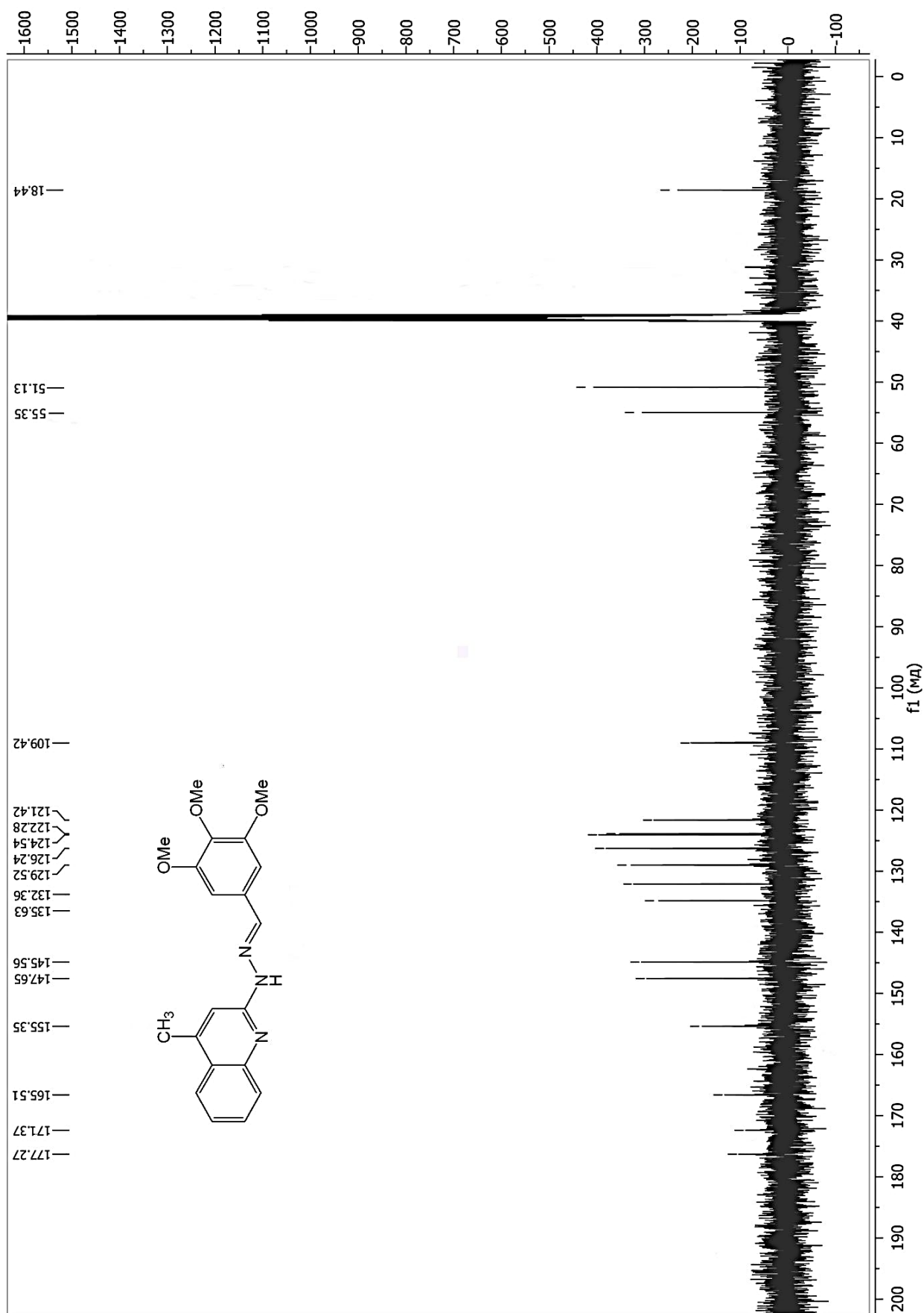
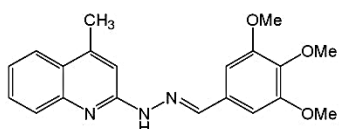


Рисунок Б.18 — ¹³C ЯМР-спектр 4-метил-2-(2-(3,4,5-триметоксибензиліден)гідразиніл)хіноліну (9)

MaxPeak: 100.00%
Ret_Time: 0.866 min

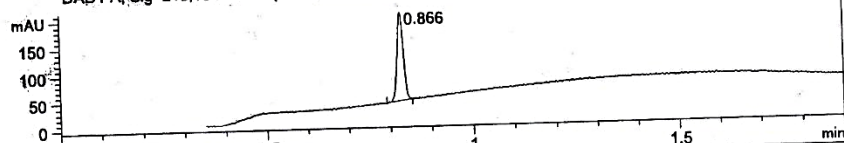


Mol Wt
Exact Mass

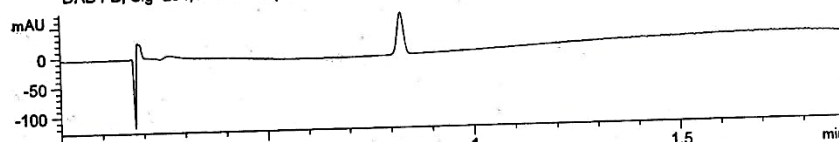
#	Time	Area%
1	0.866	100.00

CLQ328332

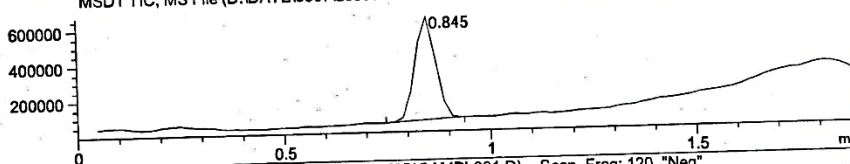
DAD1 A, Sig=215,10 Ref=off (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D)



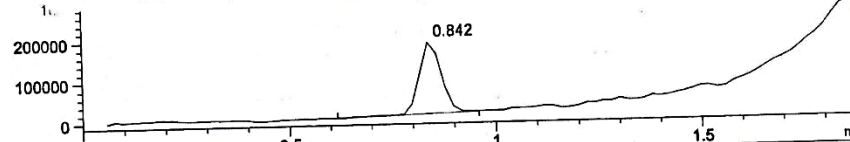
DAD1 B, Sig=254,10 Ref=off (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D)



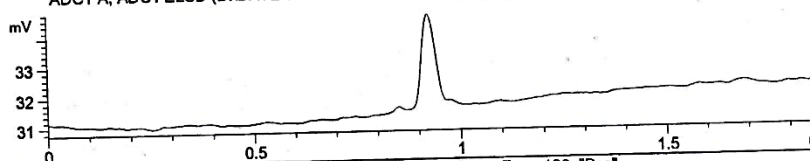
MSD1 TIC, MS File (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D) API-ES, Scan, Frag: 120, "Pos"



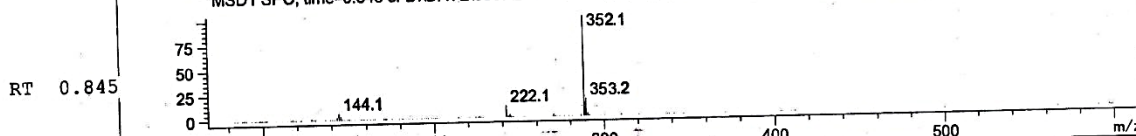
MSD2 TIC, MS File (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D) , Scan, Frag: 120, "Neg"



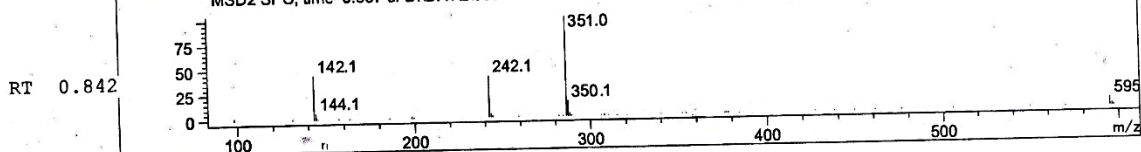
ADC1 A, ADC1 ELSD (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D)



*MSD1 SPC, time=0.848 of D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D API-ES, Scan, Frag: 120, "Pos"



*MSD2 SPC, time=0.837 of D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D , Scan, Frag: 120, "Neg"



Inj.Date 3/7/2023

CH

-SL-

Acq. Method C:\HPCHEM\ -> ->

Рисунок Б.19 — LCMS-спектр 4-метил-2-(2-(3,4,5-триметоксибензиліден)гідразиніл)хіноліну (Сполука 9)

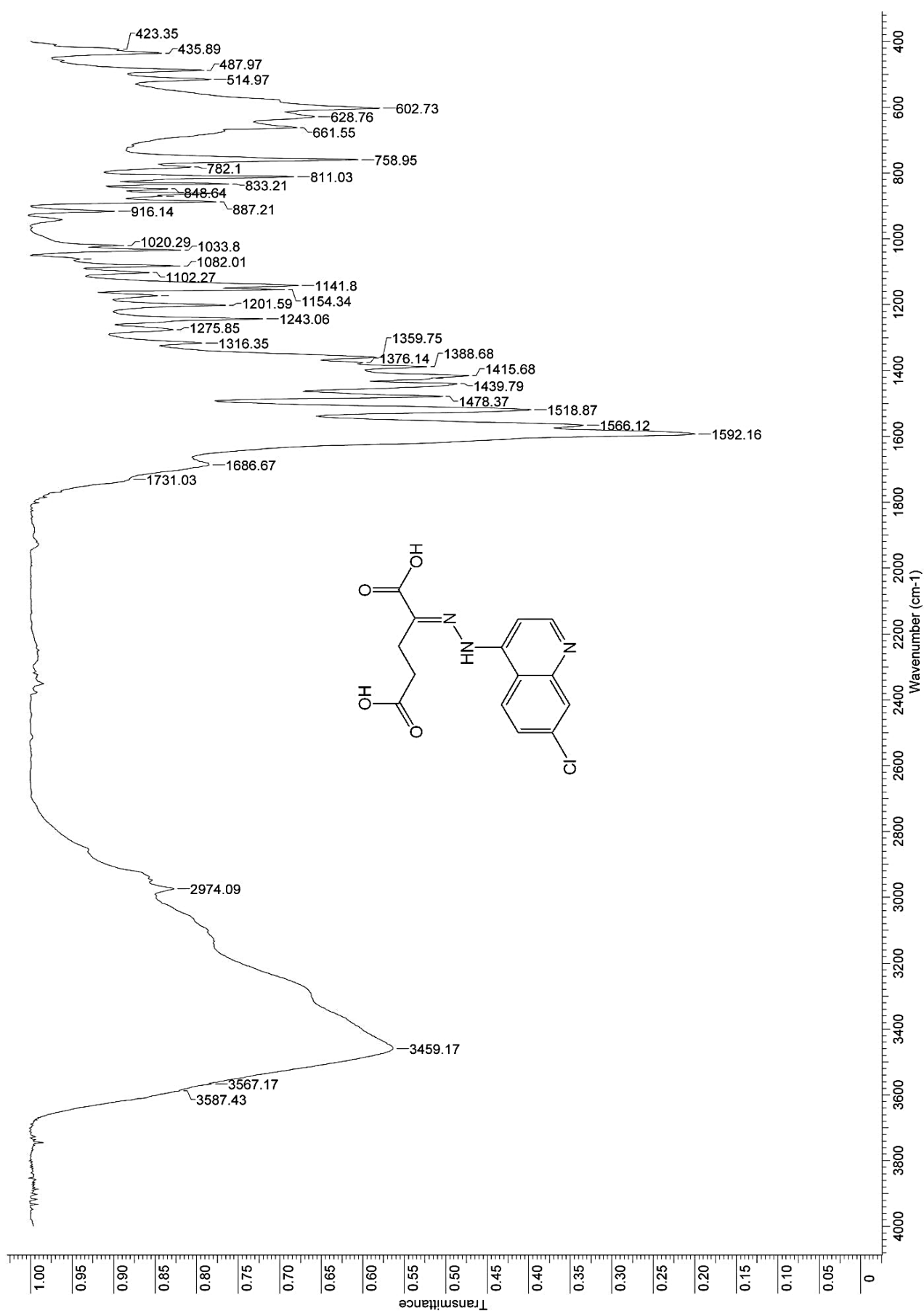


Рисунок Б.20 – ІЧ-спектр 3-(2-(7-хлорхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіової кислоти (Сполука 19)

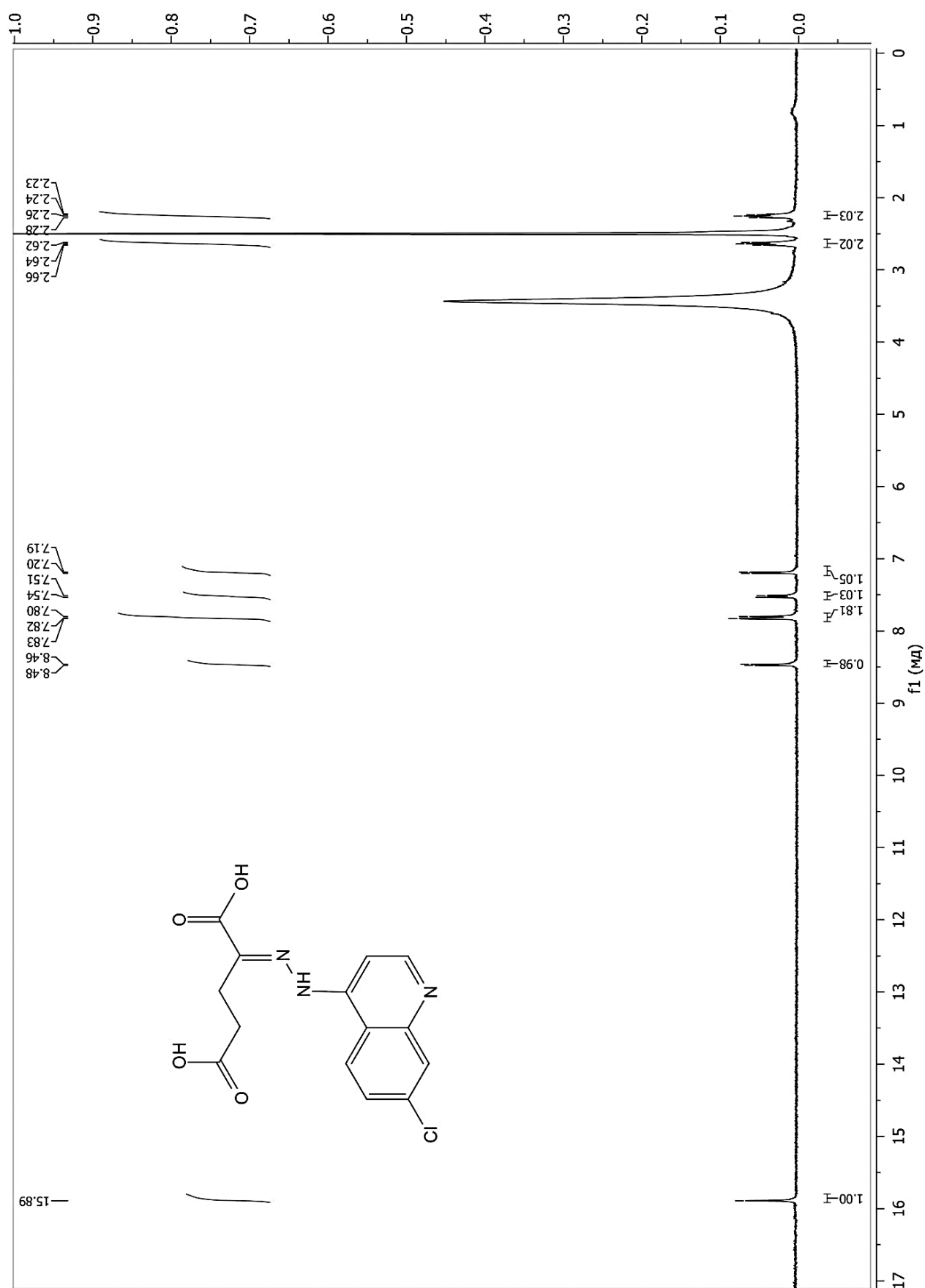


Рисунок Б.21 – ^1H ЯМР-спектр 3-(2-(7-хлорхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіової кислоти (Сполука **19**)

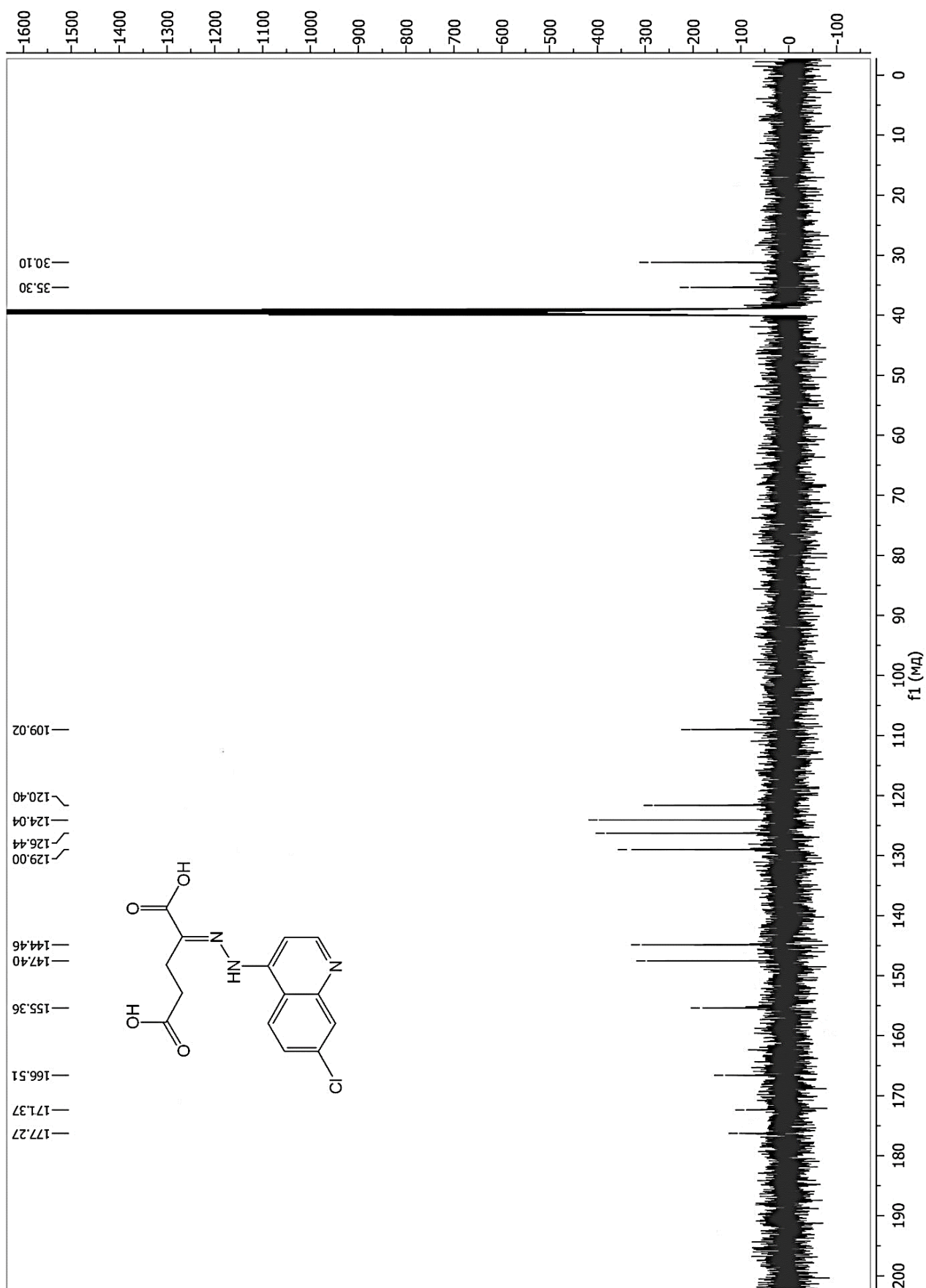
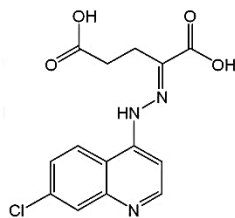


Рисунок Б.22 – ^{13}C ЯМР-спектр 3-(2-(7-хлорхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіової кислоти (Сполука 19)

MaxPeak: 100.00%
Ret_Time: 0.811 min

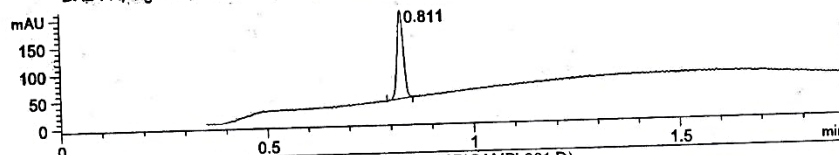


Mol Wt
Exact Mass

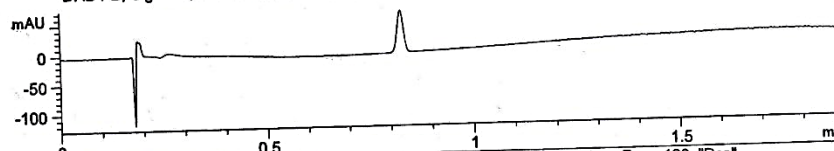
#	Time	Area%
1	0.811	100.00

CLQ328388

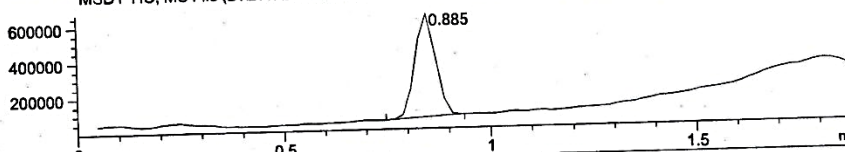
DAD1 A, Sig=215,10 Ref=off (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D)



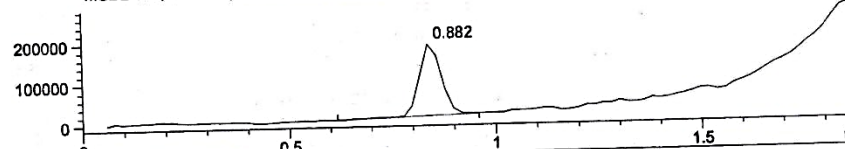
DAD1 B, Sig=254,10 Ref=off (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D)



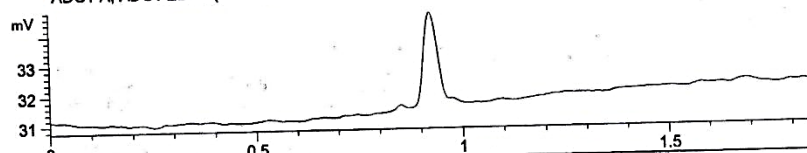
MSD1 TIC, MS File (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D) API-ES, Scan, Frag: 120, "Pos"



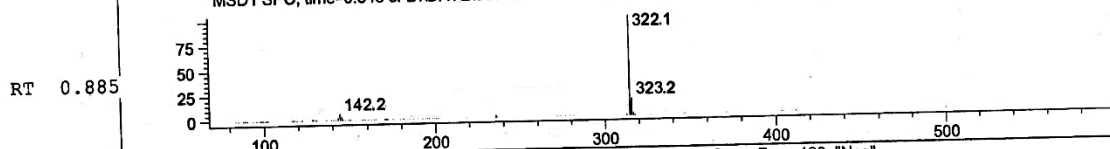
MSD2 TIC, MS File (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D) , Scan, Frag: 120, "Neg"



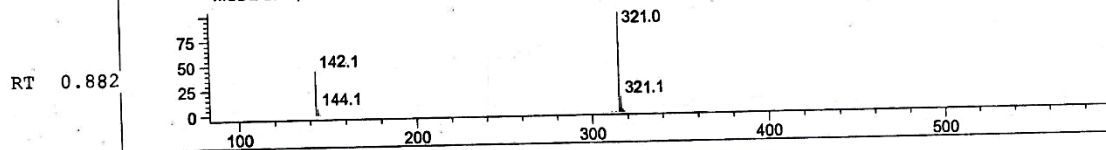
ADC1 A, ADC1 ELSD (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D)



*MSD1 SPC, time=0.848 of D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D API-ES, Scan, Frag: 120, "Pos"



*MSD2 SPC, time=0.837 of D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D , Scan, Frag: 120, "Neg"



Inj.Date 3/7/2023

CH

-SL-

Acq. Method C:\HPCHEM\ -> ->

Рисунок Б.23 — LCMS-спектр 3-(2-(7-хлорхінолін-2-іл)гідразоно)пентандіової кислоти (Сполука 19)

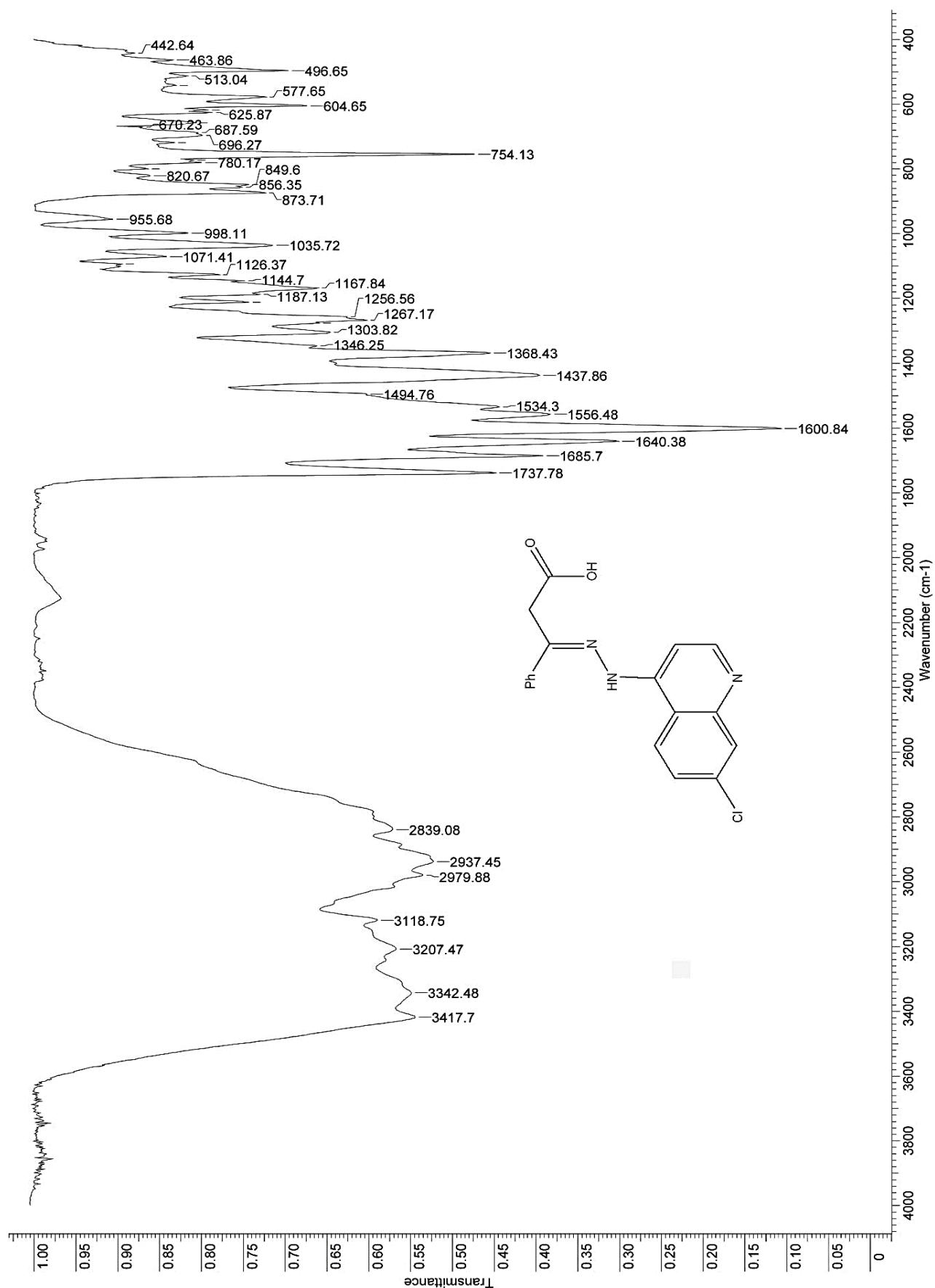


Рисунок Б.24 – ІЧ-спектр 3-(2-(7-хлорхінолін-4-іл)гідразоно)-3-фенілпропанової кислоти (Сполука 30)

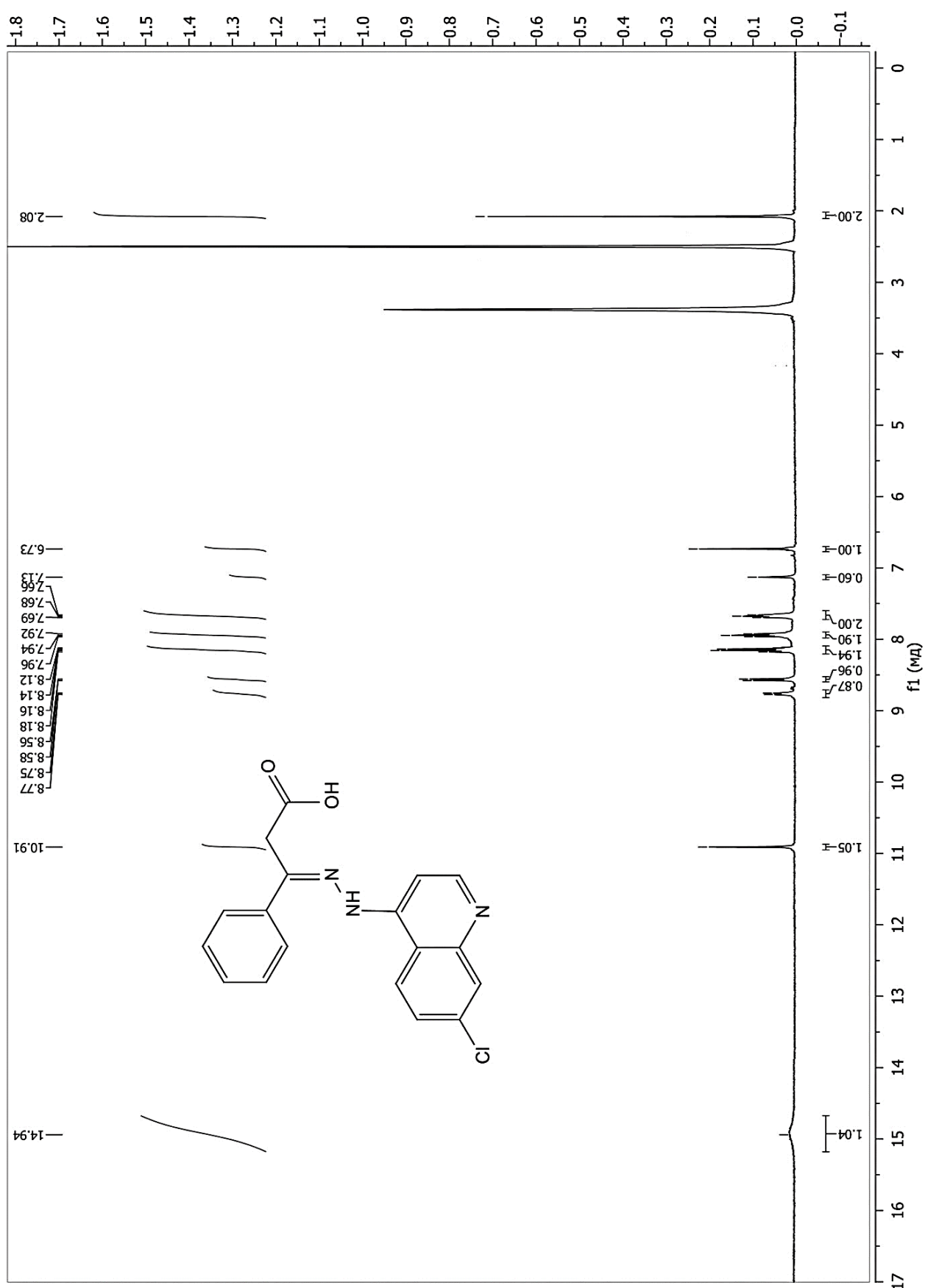


Рисунок Б.25 – ¹H ЯМР-спектр 3-(2-(7-хлорхінолін-4-іл)гідразоно)-3-фенілпропанової кислоти (Сполука **30**)

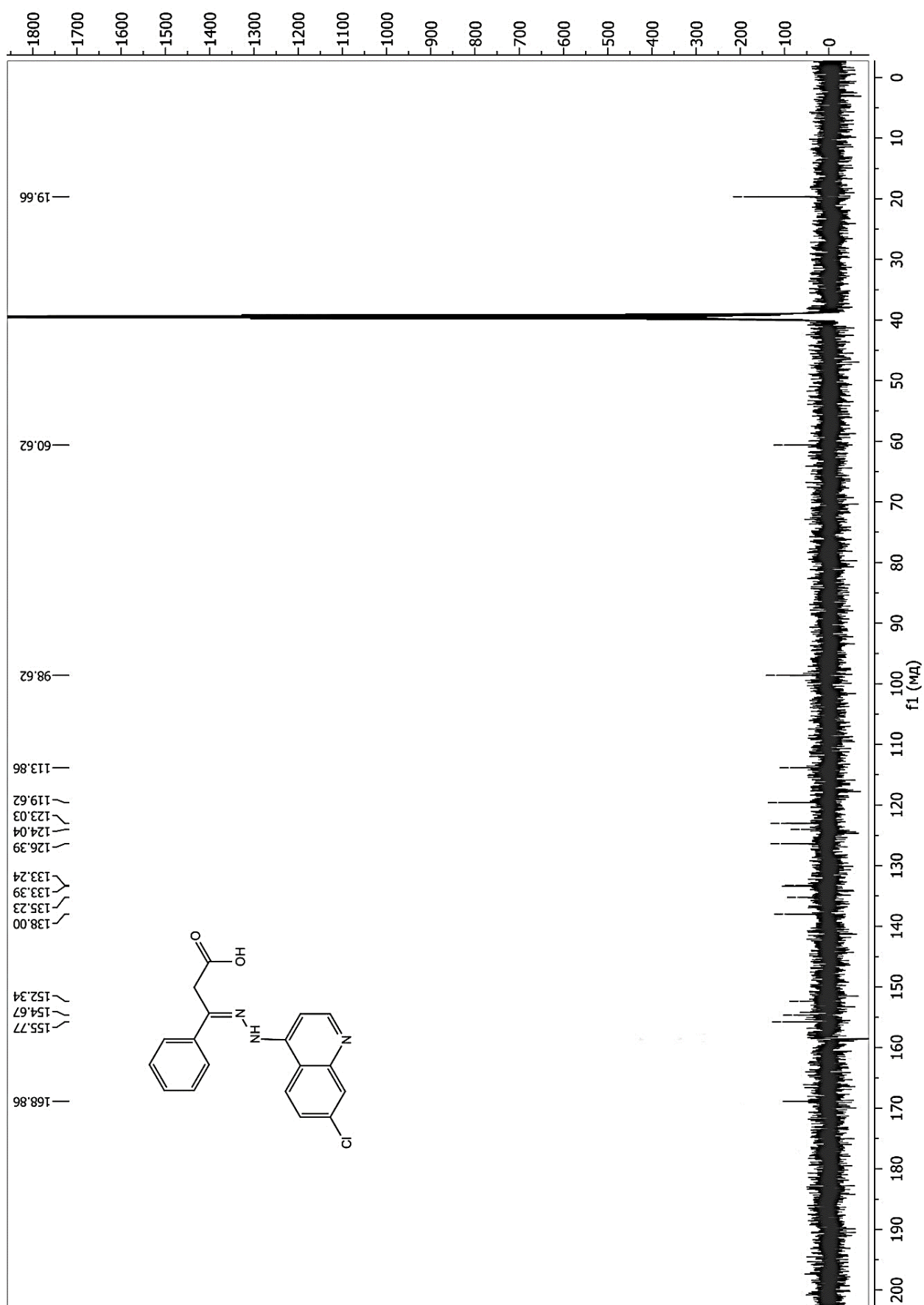
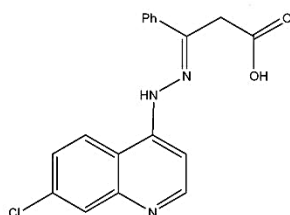


Рисунок Б.26 – ^{13}C ЯМР-спектр 3-(2-(7-хлорхінолін-4-іл)гідразоно)-3-фенілпропанової кислоти (Сполука 30)

MaxPeak: 100.00%
Ret_Time: 0.810 min

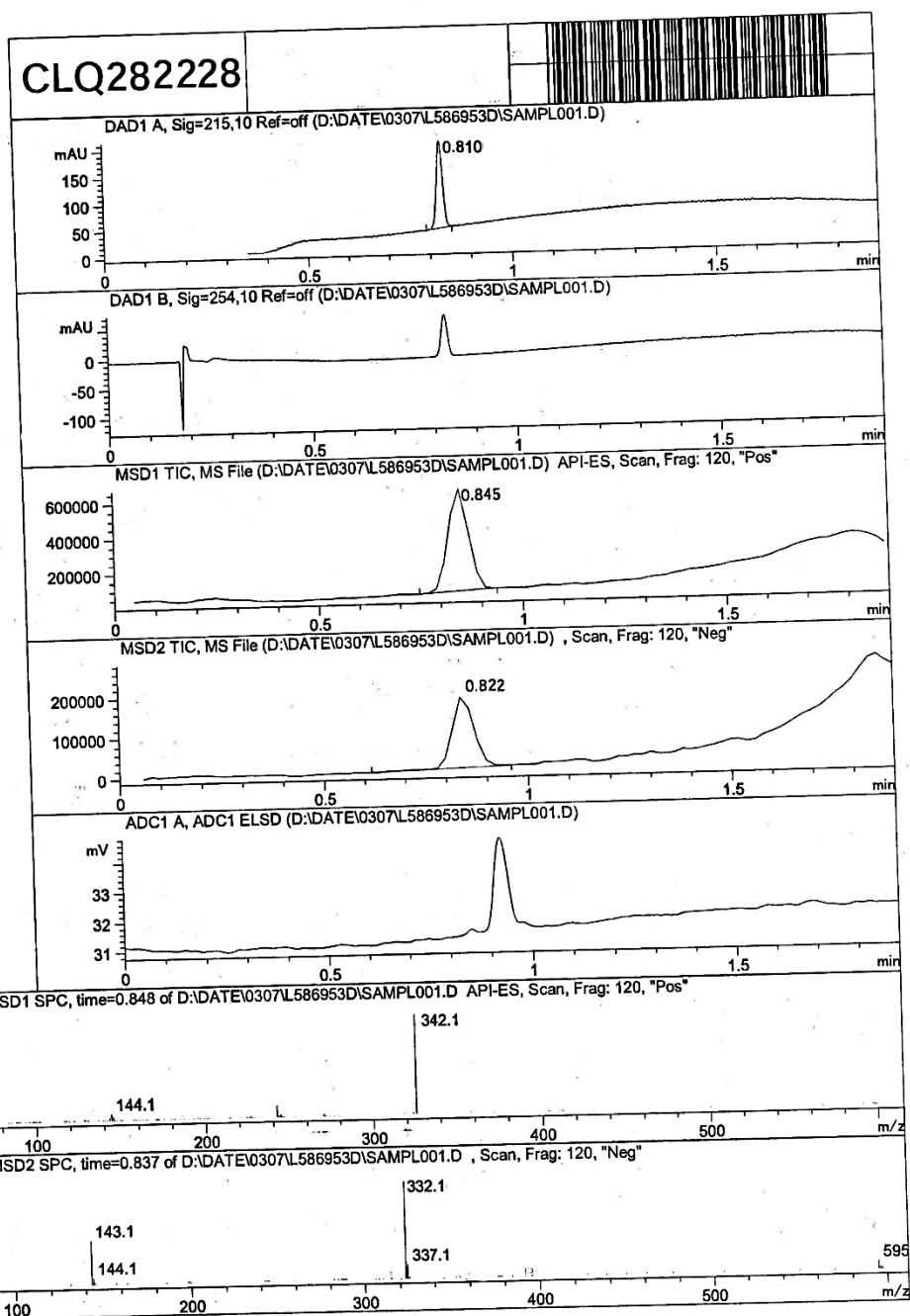


Mol Wt
Exact Mass

#	Time	Area%
1	0.810	100.00

RT 0.844

RT 0.822



Inj.Date 3/7/2023

CH

-SL-

Acq. Method C:\HPCHEM\ -> ->

Рисунок Б.27 – LCMS-спектр 3-(2-(7-хлорхінолін-4-іл)гідразоно)-3-фенілпропанової кислоти (Сполука 30)

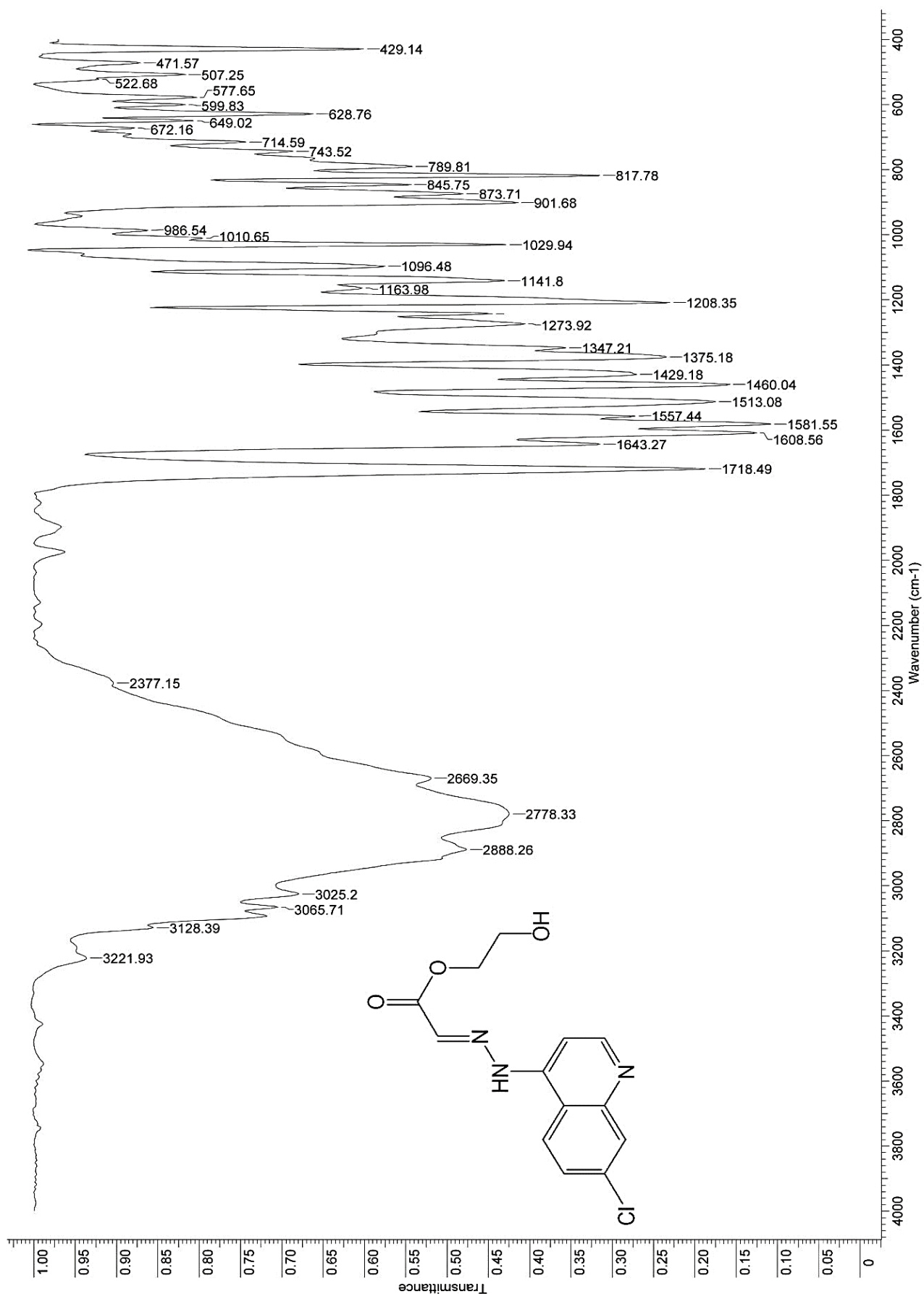


Рисунок Б.28 – ІЧ-спектр 2-гідроксиетил 2-(2-(7-хлорхінолін-4-іл)гідразоно)ацетату (Сполука **32**)

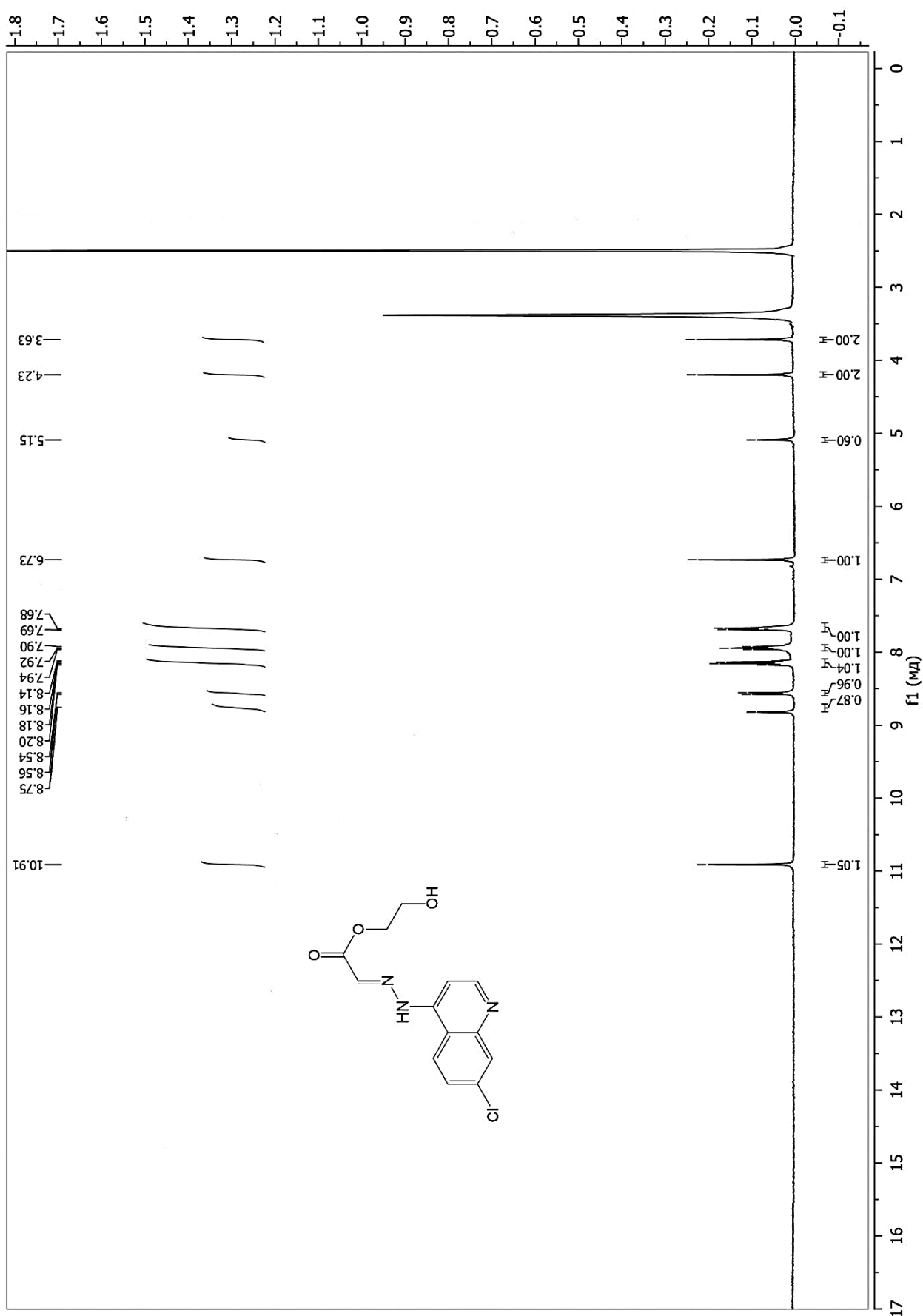


Рисунок Б.29 – ^1H ЯМР-спектр 2-гідроксиетил 2-(2-(7-хлорхінолін-4-іл)гідразоно)ацетату (Сполука **32**)

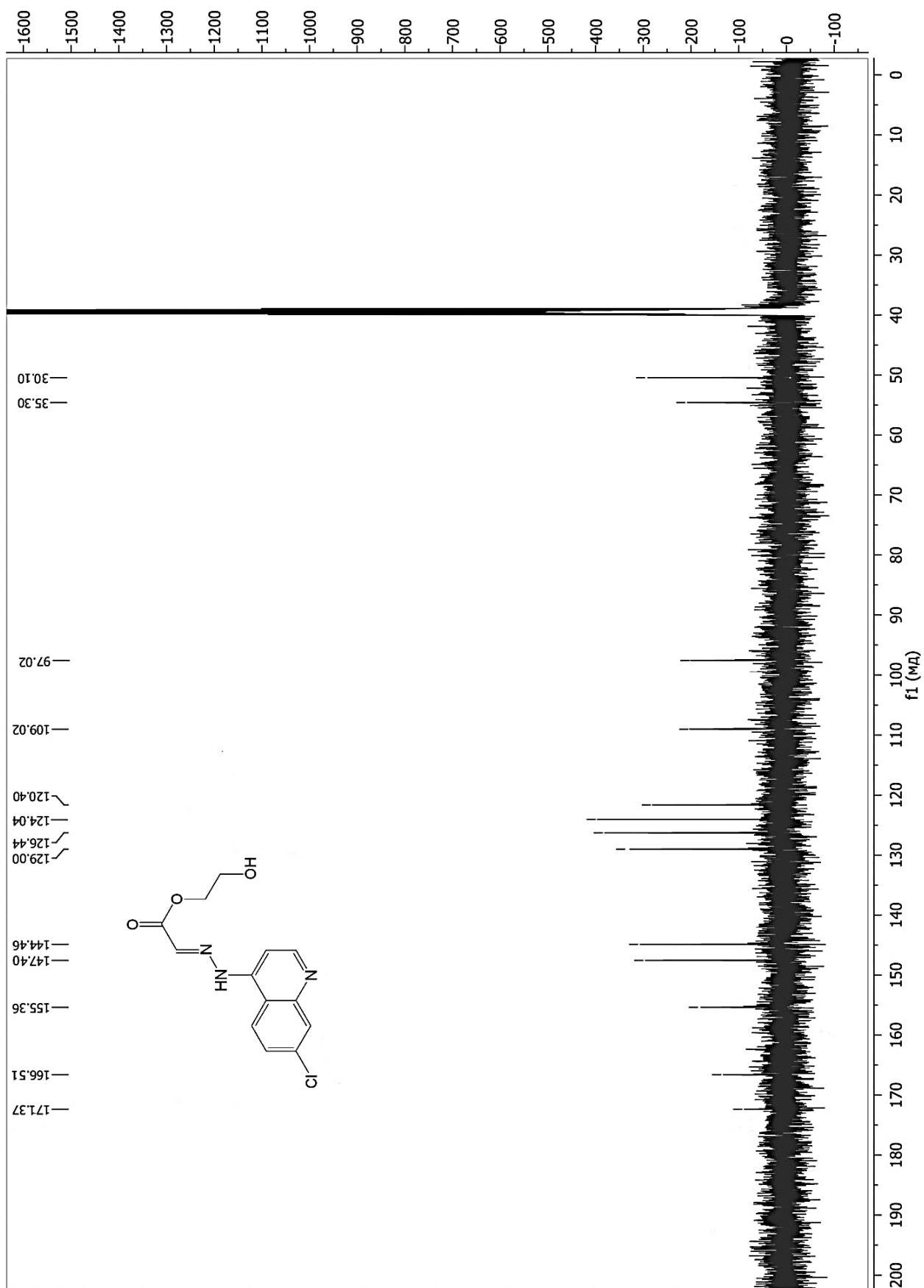
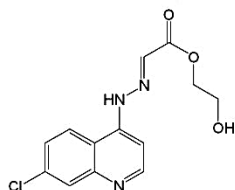


Рисунок Б.30 – ^{13}C ЯМР-спектр 2-гідроксиетил 2-(2-(7-хлорхінолін-4-іл)гідразоно)ацетату (Сполука **32**)

MaxPeak: 100.00%
Ret_Time: 0.808 min

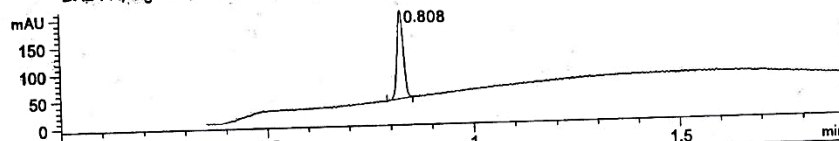


Mol Wt
Exact Mass

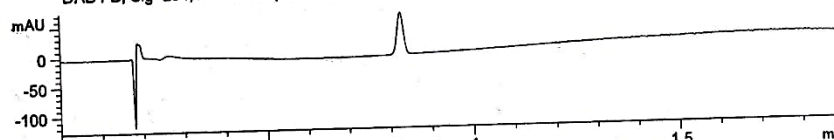
#	Time	Area%
1	0.808	100.00

CLQ328383

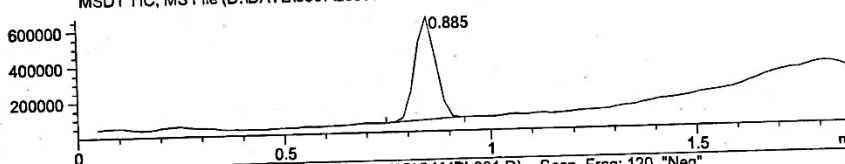
DAD1 A, Sig=215,10 Ref=off (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D)



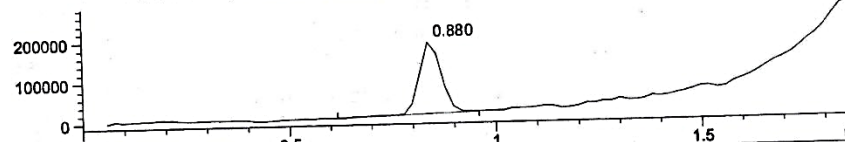
DAD1 B, Sig=254,10 Ref=off (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D)



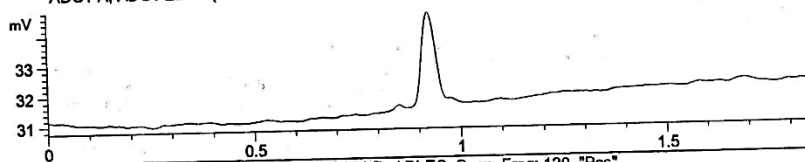
MSD1 TIC, MS File (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D) API-ES, Scan, Frag: 120, "Pos"



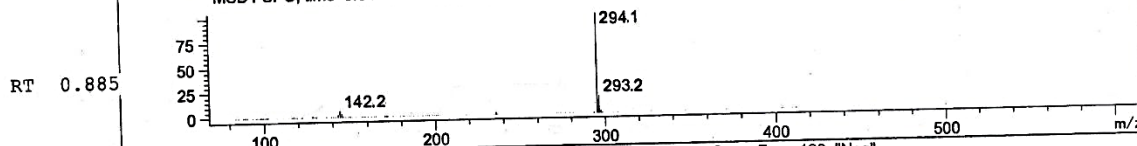
MSD2 TIC, MS File (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D) , Scan, Frag: 120, "Neg"



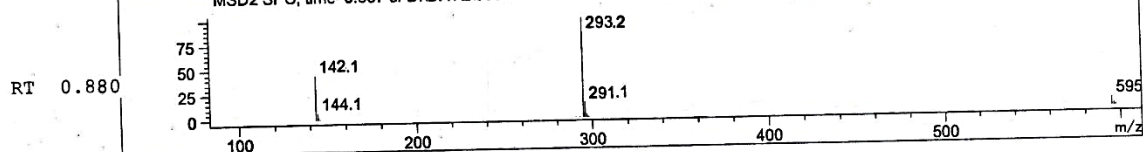
ADC1 A, ADC1 ELSD (D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D)



*MSD1 SPC, time=0.848 of D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D API-ES, Scan, Frag: 120, "Pos"



*MSD2 SPC, time=0.837 of D:\DATE\0307\586953D\SAMPL001.D , Scan, Frag: 120, "Neg"



Inj.Date 3/7/2023

CH

-SL-

Acq. Method C:\HPCHEM\ -> ->

Рисунок Б.31 – LCMS-спектр 2-гідроксиетил 2-(2-(7-хлорхінолін-4-іл)гідразоно)ацетату (Сполука 32)

Додаток В

Гостра токсичність в дослідях *in vivo*

Таблиця В.1 – Дослідження гострої токсичності похідних 2(4)-гідразиноїноліну

№	Сполука	LD ₅₀
1	Сполука 1	52,5 ± 5,1
2	Сполука 2	142 ± 17
3	Сполука 3	155 ± 15
4	Сполука 4	363 ± 117
5	Сполука 13	525 ± 51
6	Сполука 14	977 ± 92
7	Сполука 15	969 ± 153
8	Сполука 16	123 ± 11,6
9	Сполука 17	142 ± 11
10	Сполука 18	389 ± 37
11	Сполука 20	995 ± 173
12	Сполука 31	179 ± 14
13	Сполука 34	450 ± 54
14	Сполука 35	834 ± 81
15	Сполука 36	576 ± 174
16	Сполука 37	496 ± 66
17	Сполука 38	7104 ± 56
18	Сполука 39	694 ± 135
19	Сполука 40	566 ± 68
20	Сполука 41	790 ± 13,7
21	Сполука 42	243 ± 33
22	Сполука 43	969 ± 153

Додаток Г

**Оцінка ступеню захисту сперматозоїдів чоловіків від
H₂O₂-індукованого ОС**

Таблиця Г.1 – Вплив похідних 4-гідразинохіноліну на концентрацію та швидкість сперматозоїдів під дією H₂O₂-індукованого ОС (*in vitro*) (n = 5)

№	Номер сполуки (концентрація сполук 10⁻⁶М)	Концентрація функціональних сперматозоїдів, Млн/мл	Середня швидкість рухомих сперматозоїдів (А+В), мкм/сек
1	Інтакт	36 ± 0,45	23 ± 0,84
2	Контроль	9 ± 0,45	10 ± 0,55
3	Сполука 16	8 ± 0,84	23 ± 0,84
4	Сполука 17	11 ± 0,89	7 ± 0,89
5	Сполука 18	6 ± 0,84	9 ± 0,71
6	Сполука 32	13 ± 0,55	14 ± 0,55
7	Сполука 33	8 ± 0,45	8 ± 0,84
8	Сполука 34	7 ± 0,45	15 ± 0,71
9	Сполука 35	8 ± 0,71	8 ± 0,84
10	Сполука 36	7 ± 0,84	10 ± 0,45
11	Сполука 37	6 ± 0,71	18 ± 0,89
12	Сполука 38	15 ± 0,84	29 ± 0,84
13	АК	24 ± 0,84	23 ± 0,71
14	АЦЦ	22 ± 0,45	21 ± 0,45

Результати достовірні по відношенню до контролю (p<0,002).

Додаток Д

Фагоцитарна активність в дослідях *in vitro*

Таблиця Д.1 – Вплив похідних 4-гідразинохіноліну на фагоцитоз (n=10)

№	Номер сполуки (концентрація сполук 10⁻⁶М)	Фагоцитарний показник, %	Фагоцитарне число
1	Контроль	72 ± 1,33	5,0 ± 0,23
2	Сполука 16	81 ± 1,45	5,0 ± 0,22
3	Сполука 17	73 ± 1,14	4,0 ± 0,38
4	Сполука 18	77 ± 1,14	4,5 ± 0,21
5	Сполука 32	74,5 ± 1,01	5,0 ± 0,18
6	Сполука 33	83 ± 1,29	5,5 ± 0,19
7	Сполука 34	82,5 ± 0,78	5,5 ± 0,33
8	Сполука 35	81 ± 1,76	4,5 ± 0,20
9	Сполука 36	80,5 ± 1,25	4,5 ± 0,29
10	Сполука 37	79 ± 1,08	5,0 ± 0,30
11	Сполука 38	73,5 ± 1,47	5,0 ± 0,43

Результати достовірні по відношенню до контролю (p<0,002).

Додаток Е

Таблиця Е.1 – АРА та АОА похідних хіноліну

Сполуки	АРА,		АОА, НФІ	
	Оптична щільність, Δ	АРА, %	Оптична щільність	АОА, %
1	$0,243 \pm 0,017^*$	36,14	$0,198 \pm 0,006^*$	45,2
3	$0,227 \pm 0,012^*$	40,35	$0,239 \pm 0,011^*$	34,1
6	$0,307 \pm 0,001^*$	19,21	$0,314 \pm 0,010^*$	13,3
9	$0,409 \pm 0,002^*$	-7,72	$0,491 \pm 0,004^*$	-35,7
10	$0,306 \pm 0,008^*$	19,47	$0,403 \pm 0,005^*$	-11,2
34	$0,292 \pm 0,007^*$	23,07	$0,300 \pm 0,002^*$	17,0
Інтакт	$0,110 \pm 0,005$		$0,109 \pm 0,005$	—
Контроль	$0,380 \pm 0,020$		$0,362 \pm 0,006$	—
Цистеїн	—	—	$0,132 \pm 0,005^*$	63,4
Іюнол	—	—	$0,215 \pm 0,005^*$	40,5
АЦЦ	$0,323 \pm 0,024^*$	15,09	—	—
ТТЗ	$0,247 \pm 0,006^*$	35,09	—	—

Примітка: $P < 0,05$ у порівнянні з контролем

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Статті у вітчизняних та іноземних фахових періодичних виданнях за темою дисертації

1. Бражко, О.; Завгородній, М.; Карпун, Є.; Бражко, О.; **Романенко, Я.**; Богдан, А. Хемометричні Методи Дослідження Біологічної Активності Похідних Хіноліну. *ScienceRise* **2019**, *1* (1), 36–42. <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2019.155424>.
2. **Романенко, Я.**; Лагрон, А. Похідні 4-Гідразінохіноліну та їх Біологічна Активність (огляд літератури). *Біорізноманіття, екологія та експериментальна біологія* **2019**, *21*, 6–14. <https://doi.org/10.34142/2708-583x.2019.21.01>.
3. **Романенко, Я.**; Клімова, О.; Бражко, О. Оцінка Біологічної Дії Похідних 4-Гідразінохіноліну. *Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки* **2019**, *1*, 53–61. <https://doi.org/10.26661/2410-0943-2019-1-06>.
4. Козир, А.; **Романенко, Я.** Цитотоксична Активність 7-R-4-Заміщених Хіноліну. *Вісник Вінницького національного медичного університету* **2022**, *26* (3), 359–364. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26\(3\)-02](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26(3)-02).
5. **Романенко, Я.**; Козир, А. Токсичність та Антиоксидантна Активність Похідних 4-Гідразінохіноліну. *Вісник Вінницького національного медичного університету* **2022**, *26* (4), 528–533. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26\(4\)-01](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26(4)-01).
6. Hodyna, D.; Kovalishyn, V.; **Romanenko, Y.**; Semenyuta, I.; Blagodatny, V.; Kachaeva, M.; Brazhko, O.; Metelytsia, L. Quinoline Hydrazone Derivatives as New Antibacterials against Multidrug Resistant Strains. *Chemistry & Biodiversity* **2023**. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202300839>.

7. Bohdan, A.; **Romanenko, Y.**; Zavhorodnii, M.; Kornet, M.; Shupeniuk, V.; Napolraj, A.; Klimova, O.; Brazhko, O. Design, Synthesis and Biological Activity of the 4-Thioquinoline Derivatives. *Chemistry & Chemical Technology* **2023**, 17 (4). <https://doi.org/10.23939/chcht17.04.774>.

Тези наукових доповідей за темою дисертації

1. **Романенко, Я.** Біологічно активні похідні 4-гідразинохіноліну. У *Молода наука-2019*, Матеріали XII Університетської Науково-практичної Конференції Студентів, Аспірантів і Молодих Вчених, Запоріжжя, Україна, 15 - 17 квітня, 2019; ЗНУ: Запоріжжя, 2019.

2. **Romanenko, Y.**; Lagron, A.; Brazhko, O. Biological Activity of 4-Hidrazinoquinolines. In *Modern Chemistry Problems*, Book of Abstracts, XX International Conference for Students and PhD Students, Kyiv, Ukraine, May 15 - 17, 2019; KNU named after Taras Shevchenko: Kyiv, 2019.

3. **Romanenko, Y.** PASS Prediction of Biological Activity of 4-Hydrazinoquinoline Derivatives. In *Topical Issues of the Development of Modern Science*, Abstracts of II International Scientific and Practical Conference, Sofia, Bulgaria, October 16 – 18, 2019; ACCENT: Sofia, 2019.

4. **Romanenko, Y.**, Lagron, A Investigation of 4-Hydrazinoquinolines by in Silico Methods. У *Осінні наукові читання*, Тези доповідей XXIII Міжнародної Науково-Практичної Інтернет-конференції, Тернопіль, Україна, 27 листопада 2019; ГО «НОК»: Дніпро, 2019.

5. Богдан, А.; **Романенко, Я.**; Бражко, О. Актуальні дослідження біологічної активності похідних хіноліну хемометричними методами. У *Сучасні проблеми біології, екології та хімії*, Матеріали VI Міжнародної Науково-Практичної Конференції Присвячена 90-річчю Заснування Запорізького Національного Університету, Запоріжжя, Україна, 16 - 17 жовтня 2020; СоруArt: Запоріжжя, 2020.

6. **Романенко, Я.;** Богдан, А. Молекулярний Докінг в Аналізі Механізмів Біологічної Дії Похідних Хіноліну. In *Emerging Trends in Academic Research*, Conference Proceedings of the 1st International Conference, Dublin, Ireland, February 10 – 12, 2021; Primedia elaunch LLC: 2021
7. **Романенко, Я.;** Богдан, А. Антиоксидантні властивості 4-тіо- та 4-гідразинопохідних хіноліну. У *Наука, освіта, суспільство в умовах глобалізації*, Збірник Тез Доповідей Міжнародної Науково-Практичної Конференції, Полтава, Україна, 6 липня, 2021; ЦФЕНД: Полтава, 2021.
8. **Romanenko, Y.;** Bohdan, A. 4-Thio- & 4-Hydrazinoquinoline Derivatives: Toxicity, Activity. In *Modern Scientific Trends and Standards*, Proceedings of the 2-nd International Scientific and Practical Conference, Santa Rosa, Argentina, February 16 – 18, 2022; Megafyn: Santa Rosa, 2022.
9. Kozyr, A.; **Romanenko, Y.** 7-R-4-Substituted Quinoline As Growth Activators. У *Молода Наука-2022*, Збірник Наукових Праць Студентів, Аспірантів, Докторантів і Молодих Вчених, Запоріжжя, Україна, 18 - 22 квітня 2022; ЗНУ: Запоріжжя, 2022.
10. **Romanenko, Y.;** Kozyr, A.; Brazhko, O.; Mykhalska, T.; Hromova, T. Quinoline 2(4)-Hydrazine Derivatives as Inhibitors of Sperm Oxidative Stress. In *Sectoral Research XXI: Characteristics and Features*, Proceedings of the V International Scientific and Theoretical Conference, Chicago, USA, February 3, 2023; European Scientific Platform: Chicago, 2023.
11. **Романенко, Я.;** Козир, А.; Година, Д.; Ковалішин, В.; Метелиця, Л.; Бражко, О. 2(4)-гідразинохіноліни як потенційні антибактеріальні препарати. In *Grundlagen der modernen wissenschaftlichen forschung*, Materialien Der III Internationalen Wissenschaftlich-Praktischen Konferenz, Zürich, Schweiz, 31 März 2023; Boleswa Publishers & Europäische Wissenschaftsplattform: Zürich-Vinnytsia, 2023.
12. Козир, А.; **Романенко, Я.** Похідні хіноліну як регулятори імунної системи. In *Education and Science of Today: Intersectoral Issues and Development of Sciences*, Proceedings of the V International Scientific and Practical Conference,

Cambridge, United Kingdom, August 18, 2023; Publishing House & European Scientific Platform: Cambridge – Vinnytsia, 2023.

13. **Романенко, Я.;** Бражко, О.; Михальська, Т.; Громова, Т. Регулювання ВРО препаратами на основі похідних 2(4)-гідразиноїноліну. In *Modernization of Today's Science: Experience and Trends*, Proceedings of the IV International Scientific and Theoretical Conference, Singapore, Republic of Singapore, September 22, 2023; European Scientific Platform: Singapore, 2023.

Додаток 3

Акти впровадження результатів дослідження

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Завідувач лабораторії
ТОВ «Діагностичного центру
«Медлайф-Біо»
І.В. Добродуб

06 жовтня 2023 р.

Акт впровадження

1. Найменування для впровадження: запропоновано нові сполуки для захисту сперматозоїдів від оксидативного стресу, що придатні для застосування в якості препаратів для підвищення репродуктивної функції чоловіків і при терапії порушень запліднюючої здатності еякуляту при процедурі екстракорпорального запліднення.

2. Ким запропоновано: Запорізьким національним університетом, кафедрою хімії

3. Автори: Романенко Я.І., Бражко О.А.

4. Джерело інформації: Романенко, Я.; Козир, А. Токсичність та Антиоксидантна Активність Похідних 4-Гідразинохіноліну. *Вісник Вінницького національного медичного університету* 2022, 26 (4), 528–533. [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26\(4\)-01](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2022-26(4)-01).

5. Впроваджено: для проведення захисту сперматозоїдів на етапі, який характеризується гострою фазою оксидативного стресу.

6. Ким і коли впроваджено: в науково-дослідну роботу діагностичного центру ТОВ ДЦ «МЕДЛАЙФ-БІО» м. Запоріжжя (ліцензія МОЗ України на медичну практику серія АЕ №638237 від 21.03.2013р.).

7. Ефективність впровадження: простота отримання, інформативність та невеликі концентрації (10^{-6}) обумовлюють економічність використання при різних станах, які викликають оксидативний стрес.

8. Зауваження та пропозиції: продовжити роботу по застосуванню даних сполук для вирішення інших медико-біологічних завдань.

Відповідальна за впровадження

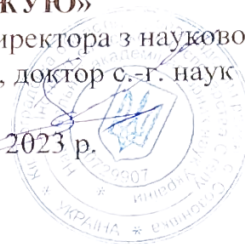


завідувач лабораторії
к.б.н., Добродуб І. В.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Заступник директора з наукової роботи
ІСГС НААН, доктор с.-г. наук
Іщенко В. А.

«09» жовтня 2023 р.



Акт впровадження

1. Найменування для впровадження: запропоновано сполуки: 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)бутандіова та 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентадіова кислоти з комплексною біологічною дією, що придатні для застосування в якості стимуляторів росту с.-г. культур.

2. Ким запропоновано: Запорізьким національним університетом, кафедрою хімії

3. Автори: Романенко Я.І., Бражко О.А.

4. Джерела інформації:

Романенко, Я.; Клімова, О.; Бражко, О. Оцінка Біологічної Дії Похідних 4-Гідразінохіноліну. *Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки* 2019, 1, 53–61.

Козир, А.; Романенко, Я. Цитотоксична Активність 7-R-4-Заміщених Хіноліну. *Вісник Вінницького національного медичного університету* 2022, 26 (3), 359–364.

Впроваджено: 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)бутандіова та 2-(2-(4-метилхінолін-2-іл)гідразоно)пентадіова кислоти, що стимулюють ріст і розвиток рослин, сприяють проростанню насіння

6. Ким і коли впроваджено: Заступник директора з наукової роботи ІСГС НААН, доктор сільськогосподарських наук Іщенко В. А. для використання при реалізації науково-дослідних проектів з 09 жовтня 2023 р.

7. Ефективність впровадження: запропоновані сполуки перевищують за ефективністю вже відомі стимулятори росту (Гіберелін і Епін) більше ніж на 35% та проявляють високу активність за більш низьких концентрацій.

8. Зауваження та пропозиції: продовжити дослідницьку роботу по застосуванню даних сполук як препаратів з рістстимулюючою дією.

Відповідальний
за впровадження

Аспірант біологічного факультету
Запорізького національного
університету
Я.І. Романенко



МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

ЦЕНТРАЛЬНОУКРАЇНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ВОЛОДИМИРА ВИННИЧЕНКА

вул. Шевченка, 1, м. Кропивницький, 25006, тел. (0522) 32-08-89, факс (0522) 24-85-44
E-mail: mails@cuspu.edu.ua, код ЄДРПОУ 02125415

07 листопада 2023 № 20-н

На № _____ від _____

Довідка

про впровадження результатів дисертаційного дослідження
Романенко Яніни Ігорівни «Біологічно активні похідні на основі 2(4)-заміщених хіноліну»,
представленого на здобуття наукового ступеня доктора філософії
зі спеціальності 091 – «Біологія»

Довідка видана аспірантці кафедри хімії Запорізького національного університету Романенко Яніні Ігорівні в тому, що матеріали її дисертаційного дослідження впроваджені у навчально-виховний процес Центральноукраїнського державного університету імені Володимира Винниченка в умовах бакалаврату та магістратури. Його основні теоретичні положення і висновки впроваджені у процесі викладання фахових дисциплін «Біохімія», «Фізіологія людини і тварин», «Імунологія», «Цитологія, гістологія з основами ембріології», «Cytological bases of human ontogenesis» шляхом наповнення їх змісту елементами біохімічного, цитологічного та фізіологічного характеру, а також оновлення елементів лабораторного практикуму. Джерелом у цьому контексті слугували матеріали Романенко, Я.; Бражко, О.; Михальська, Т.; Громова, Т. Регулювання ВРО препаратами на основі похідних 2(4)-гідразинохіноліну. In *Modernization of Today's Science: Experience and Trends, Proceedings of the IV International Scientific and Theoretical Conference, Singapore, Republic of Singapore, September 22, 2023; European Scientific Platform: Singapore, 2023*, а також численні нароби, висвітлені в публікаціях автора, біохімічні і гістологічні методики, використані і рекомендовані автором в процесі виконання практичної частини дисертаційного дослідження. Теоретичні положення та методики, апробовані автором, впроваджено в гурткову роботу та при організації науково-дослідної роботи зі студентами.

Результати впровадження засвідчили підвищення рівня якості біологічних знань бакалаврів та магістрантів, сформованості на цій основі певного рівня їх біологічної компетентності, розширення у біохімічному та фізіологічному напрямі теоретичної та джерельної бази викладання навчальних курсів, що підтверджено результатами різних видів контролю. Це свідчить про практичне значення дисертаційного дослідження Я.І. Романенко, а отже – доцільності використання основних його теоретичних положень і висновків, зокрема, в частині формування біологічної компетентності майбутніх вчителів, викладачів та працівників біологічних лабораторій.

У доцільності використання матеріалів дисертаційного дослідження Я.І. Романенко свідчать також позитивні відгуки викладачів і студентів ЗВО.

Результати впровадження обговорено і схвалено на засіданні кафедри природничих наук та методики їхнього навчання Центральноукраїнського державного університету імені Володимира Винниченка (протокол № 4 від 4 листопада 2023 р.).

Проректор з наукової роботи

Лілія КЛОЧЕК

