

**ІНСТИТУТ БІООРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ ТА НАФТОХІМІЇ
ім. В.П. КУХАРЯ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ**

**БІОАКТИВНІ СПОЛУКИ,
НОВІ РЕЧОВИНИ
І МАТЕРІАЛИ**

**За загальною редакцією
А.І. Вовка**

**Київ
Інтерсервіс
2022**

УДК 547.783+547.869.1+547.284+546.185+541.64+544.423+665.372+
662.73+66.092+615.28

Біоактивні сполуки, нові речовини і матеріали / За загальною ред.
А.І. Вовка – Київ: Інтерсервіс, 2022. - 328 с.

У книзі представлено роботи співробітників Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України, а також науковців інших інститутів та університетів за матеріалами XXXVII наукової конференції з біоорганічної хімії та нафтохімії (16 червня 2022 р., м. Київ). Виклад наукових статей об'єднано в два розділи, що присвячені синтезу і дослідженню біоактивних сполук, а також вивченню нових речовин і матеріалів та їх застосуванню. У першому розділі обговорюються питання синтезу, структури, реакційної здатності і біологічної активності органічних сполук. Окрему увагу приділено *in silico* моделюванню властивостей потенційно біоактивних сполук, вивченню механізмів дії синтетичних і природних біорегуляторів та з'ясуванню зв'язку між структурою і активністю нових речовин. У другому розділі представлено результати теоретичних досліджень і практичних наукових розробок, що стосуються паливних і мастильних матеріалів, каталізаторів для нафтохімії, нових полімерних композицій, потенційних сорбентів тощо. Книга розрахована на широке коло фахівців у галузі біоорганічної хімії, органічної хімії, нафтохімії, хімії високомолекулярних сполук, а також аспірантів і студентів.

Рецензенти

Доктор хімічних наук І.І. Герус
Доктор біол. наук Л.О. Метелиця

ISBN ІБОНХ ім. В.П. Кухаря НАН України, 2022

***IN VITRO* AND *IN SILICO* STUDY ON THE BIOLOGICAL AFFINITY OF TWO ISOMERS OF OXAZOLE-PYRIMIDINES**

¹Obernikhina N.V., ²Pilyo S.G., ²Kachkovsky O.D., ²Brovarets V.S.

¹O.O. Bogomolets National Medical University

²V.P. Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of the NASU
nataliya.obernikhina@gmail.com

In silico study the “fragment to fragment” approach shows that two isomeric forms of oxazolo-pyrimidines can form a stable [HB] complexes due to the hydrogen bond between a lone electron pair at the nitrogen atoms and the proton of functional groups of amino acid of protein molecules. It is shown that the formation of the K-2 type [HB] complex for oxazolo[4,5-*d*]pyrimidine and oxazolo[5,4-*d*]pyrimidine and K-3 type [HB] complex for oxazolo[5,4-*d*]pyrimidine is more energetically advantageous. The oxazolo[5,4-*d*]pyrimidine forms more stable [HB] complexes, which is in good agreement with *in vitro* studies.

Keywords: oxazolo-pyrimidines, anticancer activity, [HB] complexes.

In silico дослідження у підході “фрагмент до фрагменту” показали, що дві ізомерні форми оксазоло-піримідинів можуть утворювати стабільні [HB] комплекси за механізмом утворення водневого зв'язку між неподіленою електронною парою атомів азоту та протоном функціональних груп амінокислотних залишків білкових молекул. Показано, що утворення [HB] комплексів типу К-2 для оксазоло[4,5-*d*]піримідину та оксазоло[5,4-*d*]піримідину, а також комплексу типу К-3 для оксазоло[4,5-*d*]піримідину є більш енергетично вигідним. Гетероциклічна платформа оксазоло[5,4-*d*]піримідину утворює більш стабільні комплекси, що добре узгоджується з дослідженнями сполук *in vitro*.

Ключові слова: оксазоло-піримідини, протиракова активність, [HB] комплекси.

The oxazole and pyrimidine-based molecules show broad biological activities and provide different types of interactions with various receptors and enzymes [1–2]. They also occupy a core position in medicinal chemistry for the development and discovery of newer potential therapeutic agents, since oxazolo[4,5-*d*]pyrimidines and their isomeric derivatives, oxazolo[5,4-*d*]pyrimidines, exhibit antiviral, anticancer activity and cell cytotoxicity [3–4].

The biological activity of oxazolo-pyrimidines with the properties of pharmacophores (Het) is due to their ability to form a stable complex with

biomolecules (Bio); it is designated as its affinity [5]. The oxazolo-pyrimidine heterocyclic system contains nitrogen atoms with unshared electron pair (LEP) outside the common coupling system, which may be an electron donor in the formation of the [Het-BioM] complex by the hydrogen bonding mechanism ([HB] complex) [3].

Therefore, the aim of this investigation is to study the electronic structure of oxazolo[4,5-*d*]pyrimidine and isomeric oxazolo[5,4-*d*]pyrimidine heterocyclic platforms, its effect on the stability of the [HB] complexes, using the “fragment-to-fragment” approach [6] as a further approximation discovery of new drugs at an early stage provided FBDD strategy [7]. The investigated oxazolo-pyrimidine systems **1-2** are presented in Figure 1.

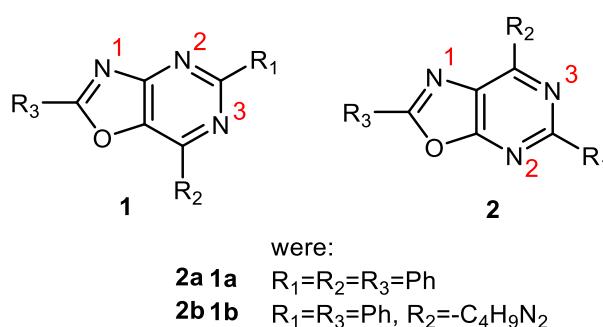


Fig. 1. Structural formulas and the numbering of nitrogen atoms of the investigated oxazolo-pyrimidines **1-2**

The main characteristics of the electron structure were calculated by DFT [ω B97XD/6-31G(d.p.)] method (package GAUSSIAN 09 [8]). The ω B97XD functional is found to be relevant for the description of noncovalent interaction [9].

The tumor growth inhibition properties of the compounds **1a,b** and **2a,b** were screened on human cancer cell lines at the NIH, Bethesda, Maryland, USA, under the drug discovery program of the NCI [10]. The primary *in vitro* one dose anticancer screening was initiated by cell inoculating of each 60 panel lines engaged a different human tumor cell lines. Results for oxazolo-pyrimidines **1a,b** and **2a,b** at a one dose concentration of 10 μ M showed that compounds **1a** and **2a** are inactive, only compound **1b** to inhibit cell proliferation of cancer cells. Table 1 presents the extended results of the five-dose assay for anticancer activity of these compound **1b** and newly synthesized compound **2b** against nine cancer cell line.

As can be seen from Table 1, the isomeric compound **2b** with the same Rn substituents has a significantly higher inhibitory effect on the proliferation of cancer cells of nine lines, close to methotrexate, which competitively inhibits the enzyme dihydrofolate-reductase, most effective on fast-proliferate fabrics.

Since the five-dose assay for the anticancer activity for compounds **1b** and **2b** is different, and the π -conjugated system of the heterocyclic platform of oxazolo-pyrimidines **1** and **2** is as close as possible to each other in their electronic characteristics, we can assume that [Het-BioM] complex formed by hydrogen bonds.

Table 1

The Five Doses Full NCI 60 Cell Panel Assay of the oxazolo-pyrimidines **1b** and **2b** (the concentrations GI50, TGI and LC50, mol/L, given as lg)

Panel (Cell Line) <i>parameter</i>	Compounds								
	1b			2b			Methotrexate		
	lg GI ₅₀	lg TGI	lg LC ₅₀	lg GI ₅₀	lg TGI	lg LC ₅₀	lg GI ₅₀	lg TGI	lg LC ₅₀
<i>Leukemia (HL-60(TB))</i>	-5.84	-5.51	-5.18	-5.72	-5.39	-5.05	-7.59	-5.00	-5.00
<i>non small cell lung cancer (HOP-62)</i>	-5.71	-5.35	-4.97	-5.70	-5.40	-5.11	-7.67	-5.21	-5.00
<i>Colon cancer (HCC-116)</i>	-5.73	-5.48	-5.23	-5.90	-5.54	-5.17	-8.63	-5.00	-5.00
<i>CNS cancer (SNB-75)</i>	-5.79	-5.52	-5.25	-5.90	-5.60	-5.30	-6.94	-5.02	-5.00
<i>Melanoma (MALME-3M)</i>	-5.68	-5.43	-5.17	-5.77	-5.50	-5.22	-5.80	-5.00	-5.00
<i>Ovarian cancer (OVCAR-3)</i>	-5.71	-5.46	-5.21	-5.75	-5.49	-5.23	-6.32	-5.00	-5.00
<i>Renal cancer (A498)</i>	-4.84	-4.54	-4.24	-5.85	-5.56	-5.27	-5.98	-5.00	-5.00
<i>Prostate cancer (DU-145)</i>	-5.76	-5.50	-5.23	-5.78	-5.49	-5.20	-7.67	-5.00	-5.00
<i>Breast cancer (MDA-MB- 321/ATCC)</i>	-5.74	-5.42	-5.10	-5.78	-5.50	-5.21	-5.62	-5.00	-5.00
MID	-5.63	-5.31	-4.95	-5.77	-5.47	-5.10	-6.99	-5.01	-5.00

First electron transition for compound **1** has the $\pi \rightarrow \pi^*$ nature, and for compound **2** has the $n \rightarrow \pi^*$ nature. It can be assumed that derivatives of isomeric oxazolo-pyrimidine **2** will better form [HB] complexes by the nitrogen atoms of the "heterocyclic platform", their LEP is outside the π -bond systems. The unconjugated fragment of model amino acids was modeled with a methyl group. The model molecule of methanol HO-CH₃ was taken into account by the results of molecular docking in the active site of VEGFR2 [3]. Possible types of complexation are shown in Figure 2.

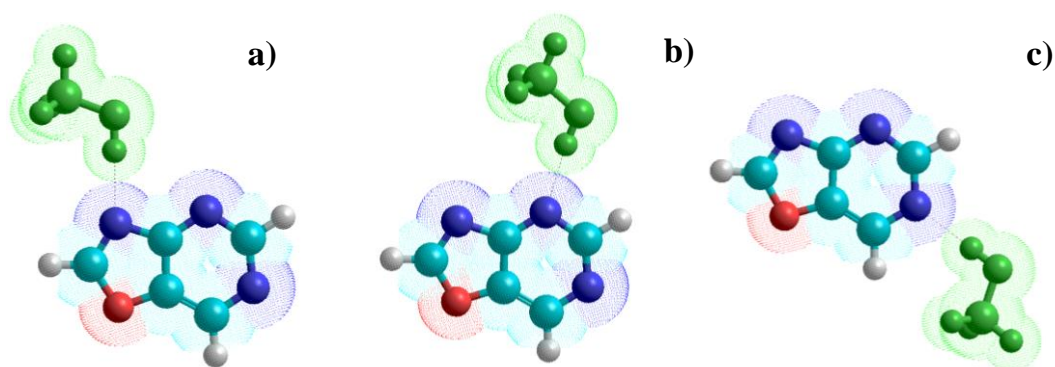


Fig. 2. The [HB] complexes of the oxazolo-pyrimidine platforms **1–2** with model methanole: a) with N1 (K-1); b) with N2 (K-2) and c) with N3 (K-3)

The binding energy E_{bind} of [Het-BioM] complex was estimated as the difference of the total energies of the complex components:

$$E_{\text{bind}} = E_{[\text{Complex}]} - E_{[\text{Comp 1}]} - E_{[\text{Comp 2}]} \quad (1)$$

where $E_{[\text{Complex}]}$ is energy of the optimized complex, while $E_{[\text{Comp 1}]}$ and $E_{[\text{Comp 2}]}$ are the energies of both optimized components. It is by this method that calculations of [HB] complex, which are collected in Table 2.

Table 2

The binding energies of [HB] complexes of the oxazolo-pyrimidines **1** and **2** with model methanole on type K-1, K-2, and K-3

Cmpd	$E_{\text{mol}}^{\text{a}}$, a.u.	K-1		K-2		K-3	
		$E_{\text{compl}}^{\text{b}}$, a.u.	ΔE^{c} , kcal/mol	E_{compl} , a.u.	ΔE , kcal/mol	E_{compl} , a.u.	ΔE , kcal/mol
1	-470.969508	-586.673792	-12.13	-586.668724	-8.95	-586.670634	-10.15
2	-470.974483	-586.678771	-12.13	-586.674896	-9.70	-586.674476	-9.44
CH₃-OH	-115.684950	-	-	-	-	-	-

^a E_{compd} is total energy of compounds;
^b E_{compl} is total energy of [HB] complex;
^c ΔE is binding energy increased only the stability of the formed complex, calculated by formula (1)

As can be seen from table 2, the stabilization energies of [HB] complexes of the oxazolo-pyrimidines **1** and **2** are sensitive to the magnitude of the charge on nitrogen atoms, and correlate with the corresponding values. It should be noted that the formation of [HB] complexes of type K-1, K-2, and K-3 with oxazolo-pyrimidine **2** requires less energy than with the corresponding isomer **1**, the complexation is easier. It can be assumed that oxazolo-pyrimidines inhibit the proliferation of cancer cells, forming complexes with amino acid residues of regulatory proteins by the mechanism of hydrogen bonding.

A detailed *in silico* investigation in the fragment-fragment approach shows that oxazolo-pyrimidines **1** and **2** can form a stable [HB] complexes. The

influence of the isomeric arrangement of nitrogen atoms on the stabilization energy of complexes has been studied. It is shown that the formation of the K-2 type complex for compounds **1** and **2**, as well as the K-3 type complex for compound **2** is more energetically advantageous. Thus, the heterocyclic platform **2** of oxazolo-pyrimidine forms more stable complexes, which is in good agreement with *in vitro* studies of the synthesized compounds.

References

1. Zeng Y., Nie L., Bozorov K., Ruzi Z., Song B., Zhao J., Aisa H.A. 2-substituted tricyclic oxazolo[5,4-*d*]pyrimidine library: Design, synthesis, and cytotoxicity activity. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2022. Vol. 59, N 3. P. 555–574.
2. Zhirnov V.V., Velihina Y.S., Mitiukhin O.P., Brovarets V.S. Intrinsic drug potential of oxazolo[5,4-*d*]pyrimidines and oxazolo[4,5-*d*]pyrimidines. *Chemical Biology & Drug Design*. 2021. Vol. 98, N 4. P. 561–581.
3. Velihina Ye., Scattolin T., Bondar D., Pil'o S., Obernikhina N., Kachkovskiy O., Semenyuta I., Caligiuri I., Rizzolio F., Brovarets V., Karpichev Ye., Nolan St.P. Synthesis, *in silico* and *in vitro* Evaluation of Novel Oxazolopyrimidines as Promising Anticancer Agents. *Helvetica Chimica Acta*. 2020. Vol. 103, N 12. P. 169–174.
4. Sochacka-Ćwikła A., Regiec A., Zimecki M., Artym J., Zaczyńska E., Kocięba M., Kochanowska I., Bryndal I., Pyra A., Mączyński M. Synthesis and Biological Activity of New 7-Amino-oxazolo[5,4-*d*]Pyrimidine Derivatives. *Molecules*. 2020. Vol. 25, N 15. P. 3558–3587.
5. Jordan M. The meaning of affinity and the importance of identity in the designed world. *Interactions*. 2010. Vol. 17, N 5. P. 6–11.
6. Obernikhina N.V., Kobzar O.L., Kachaeva M.V., Kachkovsky O.D., Brovarets V.S. In silico and in vitro Estimation of Structure and Biological Affinity of 1,3-Oxazoles: Fragment-to-Fragment Approach. *Current Computer-aided Drug Design*. 2022. Apr. DOI: 10.2174/1573409918666220404100022.
7. Neto L.R.S., Moreira-Filho J.T., Neves B.J., Maidana R.R., Guimarães R., Furnham N., Andrade C.H., Silva F.P. *In silico* Strategies to Support Fragment-to-Lead Optimization in Drug Discovery. *Frontiers in Chemistry*. 2020. Vol. 8. P. 93–102.
8. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B. et al. *Gaussian 09, Revision A.02*, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.
9. Lin Y.-S., Li G.-D., Mao S.-P., Chai J.-D. Long-Range Corrected Hybrid Density Functionals with Improved Dispersion Corrections. *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2012. Vol. 9, N 1. P. 263–272.
10. Longley D.B., Harkin D.P., Johnston P.G. 5-Fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. *Nature Reviews Cancer*. 2003. Vol. 3. P. 330–338.

ІМЕННИЙ ПОКАЖЧИК

- Babenko L.M. 205, 236, 272
Bardadym Yu. 230
Biedrzycka A. 236
Bodachivska L.Yu. 195, 315
Bosacka A. 205,
Broda E. 272
Brovarets V.S. 108
Busko N.A. 256
Davyskyba P.M. 256
Derylo-Marczewska A. 205,
Dubey I.Ya. 20
Dubey L.V. 20
Falchenko Z.V. 256
Golovenko M.Ya. 6
Grishchenko V.K. 256
Gun'ko V.M. 205, 236, 272
Hudzenko N.V. 256
Kachkovsky O.D. 108
Kobrina L. 230
Kobylinskyi S. 230
Kolesnikov Ya.S. 74, 88, 103, 131
Kravets V.S. 74, 88, 103, 131
Kretynin S.V. 74, 88, 103, 131
Kuz`min V.E. 54
Kuziv Ia.B. 20
Larionov V.B. 6
Mal`tsev H.V. 6
Mamunya Y. 267
Matkovsky O.K. 205, 236, 272
Muratov V.N. 54
Negrutska V.V. 20
Obernikhina N.V. 108
Ognichenko L.M. 54
Oranska O.I. 205, 236, 272
Paientko V.V. 205, 236, 272
Papeikin O.O. 315
Pilyo S.G. 108
Pylypenko A. 267
Reder A.S. 6
Riabov S. 230
Samoiliukevych V.O. 256
Skwarek E. 236, 272
Slisenko O. 267
Venger I.O. 315
Алексеєва О.О. 83, 93
Аніщенко В.М. 190, 248
Артеменко А.Г. 34
Баран М.М. 279
Басок С.С. 83, 93
Бей І.М. 312
Бессарабов В.І. 163, 223
Білявська Л.О. 297
Бован Л.А. 218
Бондарук О.М. 284
Боровська А.В. 154
Брикова О.М. 297
Броварець В.С. 3, 45, 51, 63, 79,
99, 154, 166, 170
Бровко О.О. 200
Бруснаков М. Ю. 99
Будзінська В.Л. 312
Бурдіна Я.Ф. 34
Бухонська Я.К. 116
Валіводзь І.П. 136
Вервес Є.В. 30
Виджак Р.М. 79
Віслогузова Т.В. 226
Вовк А.І. 12, 58, 149
Волкова Л.К. 261
Волошенюк М.А. 51
Вретік Л.О. 174
Галатенко Н.А. 180, 275
Галстян А.Г. 119
Гес Н.Л. 253
Гладирь І.І. 275
Головченко А.В. 99
Гончар О.М. 308
Горбик П.П. 243

Kretynin S.V., Kolesnikov Ya.S., Kravets V.S. Fatty acid metabolism of <i>Brassica napus</i> seeds in response to hypoxia.....	74
Виджак Р.М., Панчишин С.Я., Броварець В.С. Пошук зручного методу відновлення ціанометильних похідних 1,3-диметил-1,4-дигідропіразоло[4,3-с]піразолів.....	79
Басок С.С., Луцюк А.Ф., Алексеєва О.О., Кириченко Т.І., Гридіна Т.Л. Синтез та антивірусна активність похідних макроциклічних сполук з 6-амінокапроною та 4-амінометилбензойною кислотами як замісниками.....	83
Kolesnikov Ya.S., Kretynin S.V., Kravets V.S. Role of specific phospholipase D isoforms in spermine-induced metabolic regulation during salt stress in <i>Arabidopsis thaliana</i>	88
Алексеєва О.О., Басок С.С. Синтез та дослідження протимікробної дії нових похідних <i>n-трет</i> -бутилкалікс[4]арену із амідоза(бензо)краунетерними замісниками.....	93
Бруснаков М. Ю., Осадчук Т.В., Кібіреєв В.К., Головченко А.В., Броварець В.С. Дослідження антифуринової активності 1,3-оксазолів та продуктів їх перетворень.....	99
Kretynin S.V., Kolesnikov Ya.S., Kravets V.S. Role of phosphoinositide-specific phospholipase C and phosphoinositide kinases in signaling pathways induced by changed gravity conditions.....	103
Obernikhina N.V., Pilyo S.G., Kachkovsky O.D., Brovarets V.S. <i>In vitro</i> and <i>in silico</i> study on the biological affinity of two isomers of oxazole-pyrimidines	108
Музичка Л.В., Смолій О.Б. Похідні 7-пропаргіл-7 <i>H</i> -піроло[2,3- <i>d</i>]піримідину в синтезі нових анельованих 7-дезапуринів.....	113
Бухонська Я.К., Дерев'янчук М.В., Кравець В.С. Вплив flg22 на активність процесів утворення фосфатидної кислоти та діацилгліцеролу в трансгенних ліній з нокаутами в генах діацилгліцерол кіназ.....	116
Галстян А.Г., Задворних І.С., Косенко О.О. Озонування алкілбензенів у рідкій фазі.....	119
Малець Є.С. Об'єктний підхід до представлення моделі органічної молекули.....	124
Kretynin S.V., Kolesnikov Ya.S., Kravets V.S. Phospholipids in plant cold stress signaling: dynamics and regulation.....	131
Декіна С.С., Карпенко О.С., Корнілов О.Ю., Чекал С.І., Шестеренко Є.А., Шестеренко Ю.А., Валіводзь І.П., Муратов В.Н. Розробка триптантрин/лізоцимвмісної композиції протизапальної антибактеріальної дії.....	136
Мельничук П.В., Шабликін О.В. Синтез 1-бензоїлгексагідро-2 <i>H</i> -піроло-[3,4- <i>d</i>]піримідин-2,4(3 <i>H</i>)-діону.....	141