

**КОБЗАР**

Олександр Леонідович — кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник відділу механізмів біоорганічних реакцій Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України

ДИЗАЙН ГЕТЕРОЦИКЛІЧНИХ І МАКРОЦИКЛІЧНИХ ІНГІБІТОРІВ ФЕРМЕНТІВ ЯК ПОТЕНЦІЙНИХ ЛІКАРСЬКИХ МОЛЕКУЛ

За матеріалами наукового повідомлення на засіданні Президії НАН України
28 травня 2025 р.

Природні й синтетичні органічні сполуки є потенційними молекулярними інструментами, що регулюють активність ферментів і можуть бути націлені на терапевтично важливі мішені. Пошук і вивчення ефективних інгібіторів ферментів відкривають можливості для створення нових ліків. У доповіді висвітлено наші підходи до конструювання нових інгібіторів протеїнтирозинфосфатаз, глутатіон-S-трансфераз, холінестераз, ксантиноксидази та α -глюкозидази. Встановлено механістичні особливості взаємодії біоактивних сполук із ключовими амінокислотними залишками при утворенні ліганд-протеїнових комплексів. Отримані результати поглиблюють розуміння взаємозв'язку між структурою та активністю інгібітора щодо мішені і можуть бути використані для розроблення нових молекул, перспективних для лікування метаболічних, онкологічних та нейродегенеративних захворювань.

Ключові слова: калікс[4]арени, фосфонові кислоти, тіазоли, роданіни, аурони, халкони, бензойні кислоти, фотоактивні сполуки, гібридні сполуки, протеїнтирозинфосфатази, глутатіон-S-трансферази, холінестерази, ксантиноксидаза, α -глюкозидаза.

Одним із важливих напрямів досліджень у біоорганічній хімії є вивчення того, як органічні сполуки взаємодіють із біомолекулами, впливаючи на їхню активність і властивості. Об'єктами наших досліджень були природні сполуки та їх синтетичні структурні аналоги, а також інші азотисті гетероцикли, макроциклічні й фосфороорганічні речовини. Цілеспрямоване конструювання нових біоактивних структур як потенційних інгібіторів ферментативних перетворень ґрунтується на даних молекулярного докінгу і молекулярної динаміки. Властивості речовин оцінювали за результатами експериментальних досліджень у модельних біохімічних системах. У доповіді представлено наші підходи до створення нових інгібіторів протеїнтирозинфосфатаз, глутатіон-S-трансфераз, холінестераз, ксантиноксидази та α -глюкозидази.

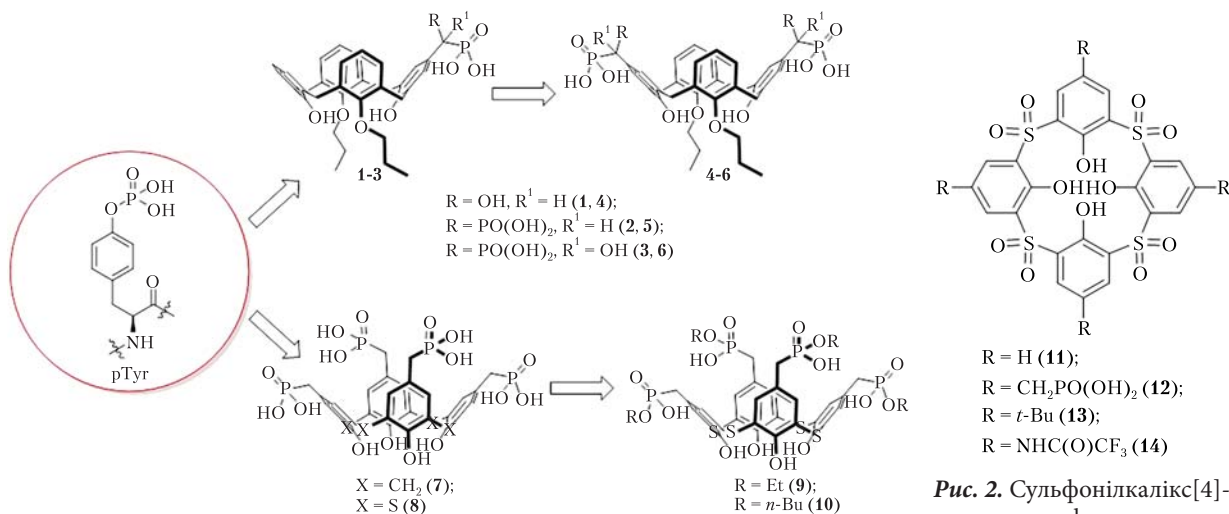


Рис. 1. Стратегія конструювання інгібіторів протеїнтирозинфосфатаз на платформі калікс[4]арену та тіакалікс[4]арену

Рис. 2. Сульфонілкалікс[4]-арен як платформа для конструювання інгібіторів протеїнтирозинфосфатаз

Стратегія конструювання інгібіторів ферментів із калікс[4]ареновим скарфолдом ґрунтувалася на біоізостерності гідролітично стійкого фосфонатного фрагменту стосовно фосфонатного залишку фосфотирозину природних субстратів протеїнтирозинфосфатаз (рис. 1). Передбачалося, що здатна до гідрофобних взаємодій макроциклічна платформа калікс[4]арену або тіакалікс[4]арену в поєднанні з аніоногенними фосфонатними і метиленбісфосфонатними групами (сполуки 1–10) сприятиме взаємодії інгібітора з активним центром ферменту. Завдяки таким підходам, а також на основі закономірностей інгібування лужних фосфатаз [1] раніше було отримано мікромолярні і субмікромолярні інгібітори протеїнтирозинфосфатаз [2–6].

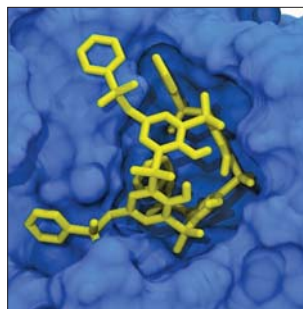
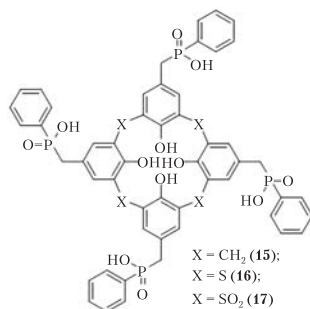
Наші подальші дослідження передбачали дизайн біоактивних похідних калікс[4]арену, що включав аналіз впливу як структури макроциклічного скарфолду, так і природи біоізостерних та інших функціональних груп, закріплених на його верхньому або нижньому вінці. Важливою була оцінка селективності інгібування окремих представників родин протеїнтирозинфосфатаз і глутатіон-S-трансфераз.

Протеїнтирозинфосфатази є визнаними мішенями для розроблення нових ліків, зокре-

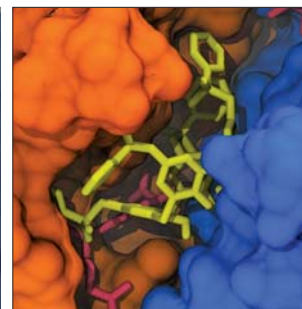
ма проти діабету 2-го типу, ожиріння, аутоімунних і онкологічних хвороб. У свою чергу, ферменти родини глутатіон-S-трансфераз характеризуються підвищеною експресією в пухлинних клітинах і беруть участь у механізмах канцерогенезу та розвитку множинної резистентності до хімотерапевтичних препаратів.

Вибір сульфонілкалікс[4]аренової платформи для дизайну інгібіторів протеїнтирозинфосфатаз і глутатіон-S-трансфераз зумовлений тим, що ця структура, на відміну від класичного калікс[4]арену і тіакалікс[4]арену, здатна забезпечити більше електростатичних взаємодій із катіонними ділянками на поверхні ферменту. Ми встановили, що нефункціоналізований сульфонілкалікс[4]арен **11** (рис. 2) є селективним інгібітором протеїнтирозинфосфатази MEG2 зі значенням $\text{IC}_{50} = 1,4 \text{ мкМ}$. Згідно з результатами молекулярного докінгу, сполука утворює численні водневі зв'язки в активних центрах MEG2 і PTP1B, що сприяє зв'язуванню інгібітора [7]. Наявність чотирьох фосфонатних залишків на верхньому вінці сульфонілкалікс[4]арену (сполука **12**) забезпечила субмікромолярну інгібувальну активність щодо кількох протеїнтирозинфосфатаз. Сульфонілкалікс[4]арен **13**, функціоналізований трет-бутильними групами, виявився слабким інгі-

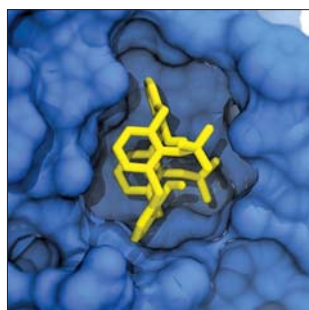
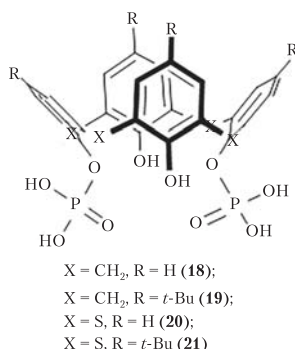
Рис. 3. Калікс[4]арен-, тіакалікс[4]арен- і сульфонілкалікс[4]арен-тетракіс(метил(феніл)-фосфінові) кислоти — інгібітори протеїнтирозинфосфатази 1В і глутатіон-S-трансферази A1-1



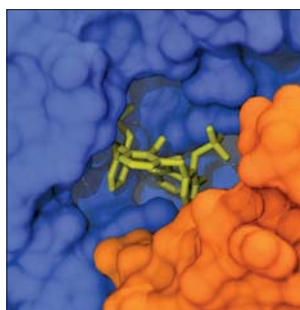
Модель зв'язування сполуки **17** в активному центрі PTP1B



Модель зв'язування сполуки **16** у V-подібній западині GSTA1-1



Модель зв'язування сполуки **20** в активному центрі PTP1B



Модель зв'язування сполуки **20** в активному центрі GSTA1-1

Рис. 4. Структури калікс[4]арен- та тіакалікс[4]арендіфосфорних кислот, що інгібують протеїнтирозинфосфатази і глутатіон-S-трансферази

бітором PTP1B, MEG2, SHP2 та VE-PTP і мало впливав на активність TC-PTP і MEG1. Модифікація сульфонілкалікс[4]аренової платформи чотирма залишками трифторацетаміду (сполука **14**) дозволила отримати мікромольний інгібітор PTP1B з помірною селективністю стосовно інших протеїнтирозинфосфатаз [8].

Перспективними є результати порівняльного вивчення калікс[4]арен-, тіакалікс[4]арен- та сульфонілкалікс[4]арен-тетракіс(метил(феніл)-фосфінових) кислот як інгібіторів протеїнтирозинфосфатаз і глутатіон-S-трансфераз. Серед них сполука **17** (рис. 3), побудована на основі сульфонілкалікс[4]аренової платформи, продемонструвала інгібувальну активність щодо PTP1B зі значенням IC₅₀ = 79 нМ, проявляючи помірну селективність відносно інших протеїнтирозинфосфатаз [9]. Сполуки **15—17** виявили також інгібувальні властивості стосовно рекомбінантної GSTA1-1 людини, демонструючи при цьому селективність щодо GSTP1-1 [10]. Серед досліджених речовин по-

хідна тіакалікс[4]арену **16** була наномольним інгібітором GSTA1-1. Водночас ця кислота показала субмікромольну інгібувальну активність щодо PTP1B та мікромольну активність стосовно інших протеїнтирозинфосфатаз.

Нещодавно ми запропонували рішення щодо структури інгібіторів, які поєднували синтетичний макроциклічний скарфолд і фосфатні залишки на його нижньому вінці. Похідні калікс[4]арену та тіакалікс[4]арену **18—21** (рис. 4) виявили мікро- та субмікромольну інгібувальну активність щодо PTP1B, MEG2 та VE-PTP. Водночас ці похідні характеризувалися подібними значеннями IC₅₀ щодо глутатіон-S-трансфераз різних класів (GSTA1-1, GSTP1-1 і GSTM1-1) [11, 12]. Здатність калікс[4]арен- та тіакалікс[4]арендіфосфорних кислот інгібувати як протеїнтирозинфосфатази, так і глутатіон-S-трансферази свідчить про їхній потенціал як мультифункціональних агентів, здатних впливати на ключові сигнальні та детоксикаційні шляхи в клітині.

Дизайн нових фотоактивних сполук з калікс[4]ареновим скафолдом виявився результативним для інгібування активності глутатіон-*S*-трансфераз людини. Так, низькомолекулярні алкіл- та арил- α -кетофосфонати **22**—**29** (рис. 5) при активації УФ-опроміненням (365 нм) інактивували ізоформи GSTA1-1 та GSTP1-1 [13]. Як видно з цих результатів, а також із попередніх даних щодо інгібування глутатіон-*S*-трансфераз калікс[4]аренфосфоновими кислотами [14, 15], похідні калікс[4]арену **30**—**35** (рис. 5), функціоналізовані α -кетофосфонатною групою, при УФ-опроміненні демонстрували субмікромолярний вплив на активність GSTA1-1 та GSTP1-1 [16].

Конструювання інгібіторів протеїнтирозинфосфатаз на основі роданінового скафолду привело до одержання тіазоловмісних роданін-3-алкілкарбонових кислот **36**—**41** (рис. 6), серед яких сполука **40** виявилася ефективним інгібітором VE-PTP, PTP1B і MEG2 та продемонструвала протипухлинну дію.

Результати молекулярного докінгу свідчать, що карбоксильна група є структурним елементом, який забезпечує фіксацію ліганду в активному центрі закритої конформації VE-PTP. Було також встановлено, що роданін-3-алкілкарбонові кислоти інгібують рекомбінантну глутатіон-*S*-трансферазу людини A1-1, демонструючи при цьому селективність впливу порівняно з ізоформою GSTP1-1 [17]. Комп'ютерне моделювання взаємодії тіазоловмісної похідної роданіну **40** з низкою інших протеїнових структур, залучених до розвитку онкопатологій, вказує на те, що антиапоптотичний білок Bcl-xL може бути мішенню для цієї сполуки [18]. Сукупність отриманих даних дозволяє розглядати роданін-3-алкілкарбонові кислоти як можливі багатоцільові модулятори онкогенних сигнальних шляхів.

Подібні підходи до прогнозування протеїнових мішеней було застосовано для деяких інших гетероциклічних сполук із протипухлинною і противірусною активністю. За допомогою молекулярного докінгу було проаналізовано міжмолекулярні взаємодії похідної 1,3-оксазолу[4,5-*d*]піримідину (сполука **42**,

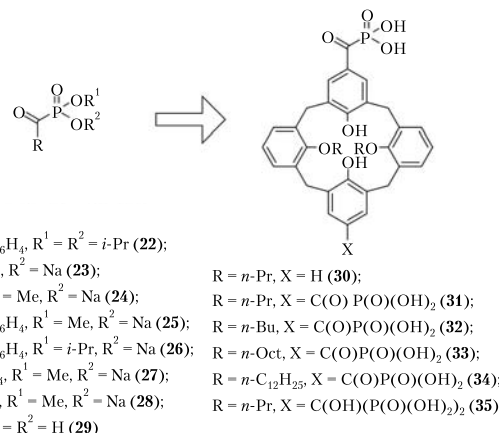
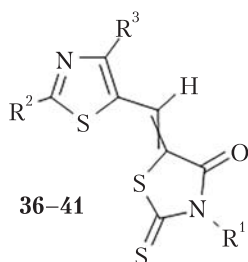


Рис. 5. Похідні α -кетофосфонових кислот — УФ-індуковані інгібітори глутатіон-*S*-трансфераз

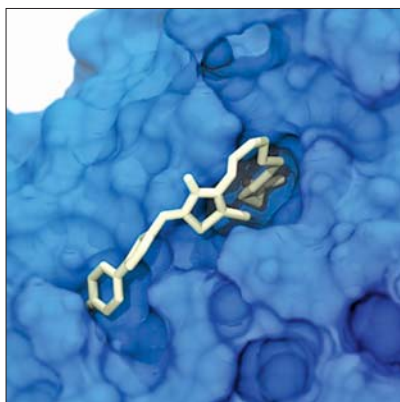
рис. 7) з аденозинзв'язувальним центром аденозинкінази [19]. Як можливі мішені протипухлинної активності похідної **43** було розглянуто CDK2 і тубулін [20], а для визначення противірусної активності похідної оксазолу **44** оцінено її здатність до формування комплексу з CDK1 [21].

Серія наших робіт щодо дизайну потенційних лікарських молекул стосується гетероциклічних інгібіторів холінестераз. Відомо, що холінестерази є мішенями для симптоматичного лікування хвороби Альцгеймера та інших нейродегенеративних захворювань. Введення тіаміну (вітаміну B_1) пацієнтам з нейродегенеративними розладами має позитивний лікувальний ефект, проте сам вітамін є слабким інгібітором ацетилхолінестерази. Виходячи з припущення, що фрагмент 5-(2-гідроксиетил)-4-метил-1,3-тіазолію може бути ключовим у дизайні інгібіторів цих ферментів, за результатами молекулярного моделювання ми синтезували й вивчили *in vitro* низку *O*-ацилзаміщених *N*-фенацильних та *N*-бензильних структурних аналогів тіаміну (рис. 8). Серед *N*-фенацильних похідних тіазолію знайдено мікромолярні і субмікромолярні інгібітори ацетилхолінестерази і бутирилхолінестерази (сполуки **45** і **46**) [22, 23], тоді як наномолярну активність виявили *N*-бензильні похідні. Інгібітор ацетилхолінестерази (сполука **47**) демонстрував 100-кратну селективність порівняно з активністю щодо бутирилхолінестерази, тоді як інгібітор бути-

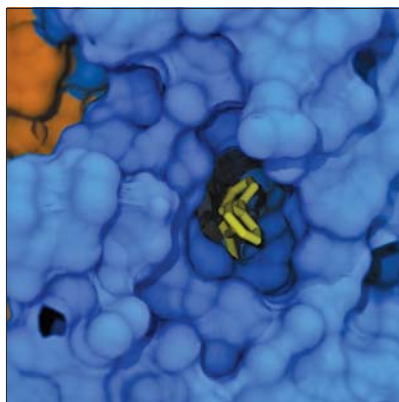


	R ¹	R ²	R ³
36	(CH ₂) ₃ -COOH	Ph	H
37	(CH ₂) ₃ -COOH	C ₆ H ₄ -p-Cl	H
38	(CH ₂) ₃ -COOH	N(CH ₃) ₂	Ph
39	(CH ₂) ₁₀ -COOH	Ph	H
40	(CH ₂) ₁₀ -COOH	C ₆ H ₄ -p-Cl	H
41	(CH ₂) ₁₀ -COOH	N(CH ₃) ₂	Ph

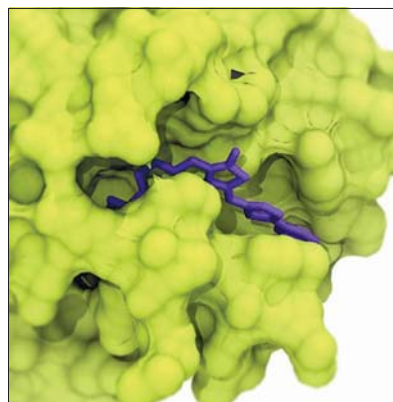
Рис. 6. Механістичне моделювання біоактивності тіазоловмісних роданін-3-алкілкарбонових кислот



Модель зв'язування сполуки **40** в активному центрі VE-PT із закритою WPD-петлею

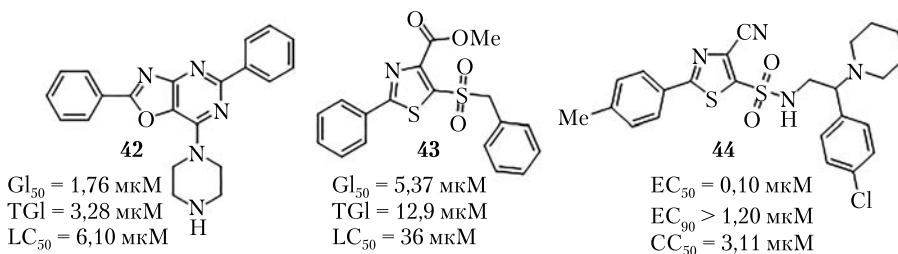


Модель зв'язування сполуки **40** з GSTA1-1



Модель зв'язування сполуки **40** з Bcl-xl

Рис. 7. Сполуки **42** і **43** з протираковою активністю і сполука **44** з активністю проти вірусу вітряної віспи

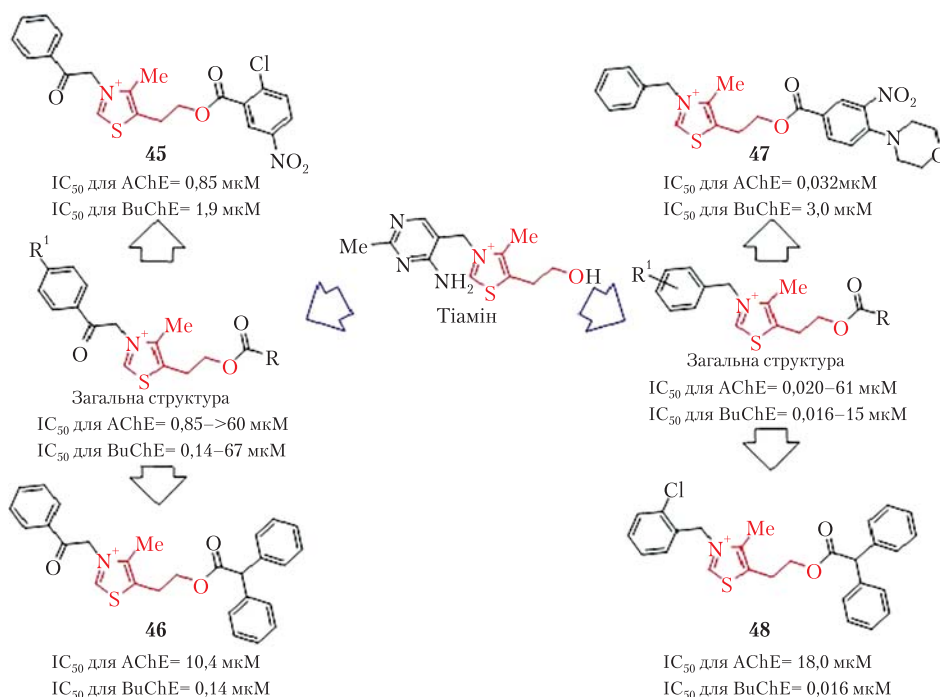


рилхолінестерази (сполука **48**) показав понад 1000-кратну селективність щодо ацетилхолінестерази [24].

Молекулярно-динамічне моделювання комплексу ацетилхолінестерази людини зі сполукою **47** демонструвало просування інгібітора вглиб активного центру. При цьому атом азоту тіазольового циклу займав аніонний сайт. Аналіз результатів моделювання засвідчив ключову роль ван-дер-ваальсових та електростатичних взаємодій у стабілізації комплексу. Декомпозиція вільної енергії зв'язування підкреслила значущість контактів ліганду з амінокислотними залишками Trp86, Trp286 і Tyr341.

Окремий напрям наших досліджень присвячено розробленню та вивченню інгібіторів ксантиноксидази — одного з ключових ферментів катаболізму пуринів. До інгібіторів цього ферменту належать лікарські препарати фебуксостат і алопуринол, проте їхні серйозні побічні ефекти зумовлюють необхідність подальшого пошуку біоактивних сполук. Відомо, що сульфуретин, гідроксильований флавоноїд з аурановою структурою, є мікромолярним інгібітором ксантиноксидази. Зважаючи на те, що багато відомих інгібіторів цього ферменту містять карбоксильну групу, важливу для зв'язування в активному центрі, ми розробили

Рис. 8. Розроблення ефективних інгібіторів ацетилхолінестерази (AChE) і бутирилхолінестерази (BuChE). Для наведених структур протиіоном є хлорид або бромід

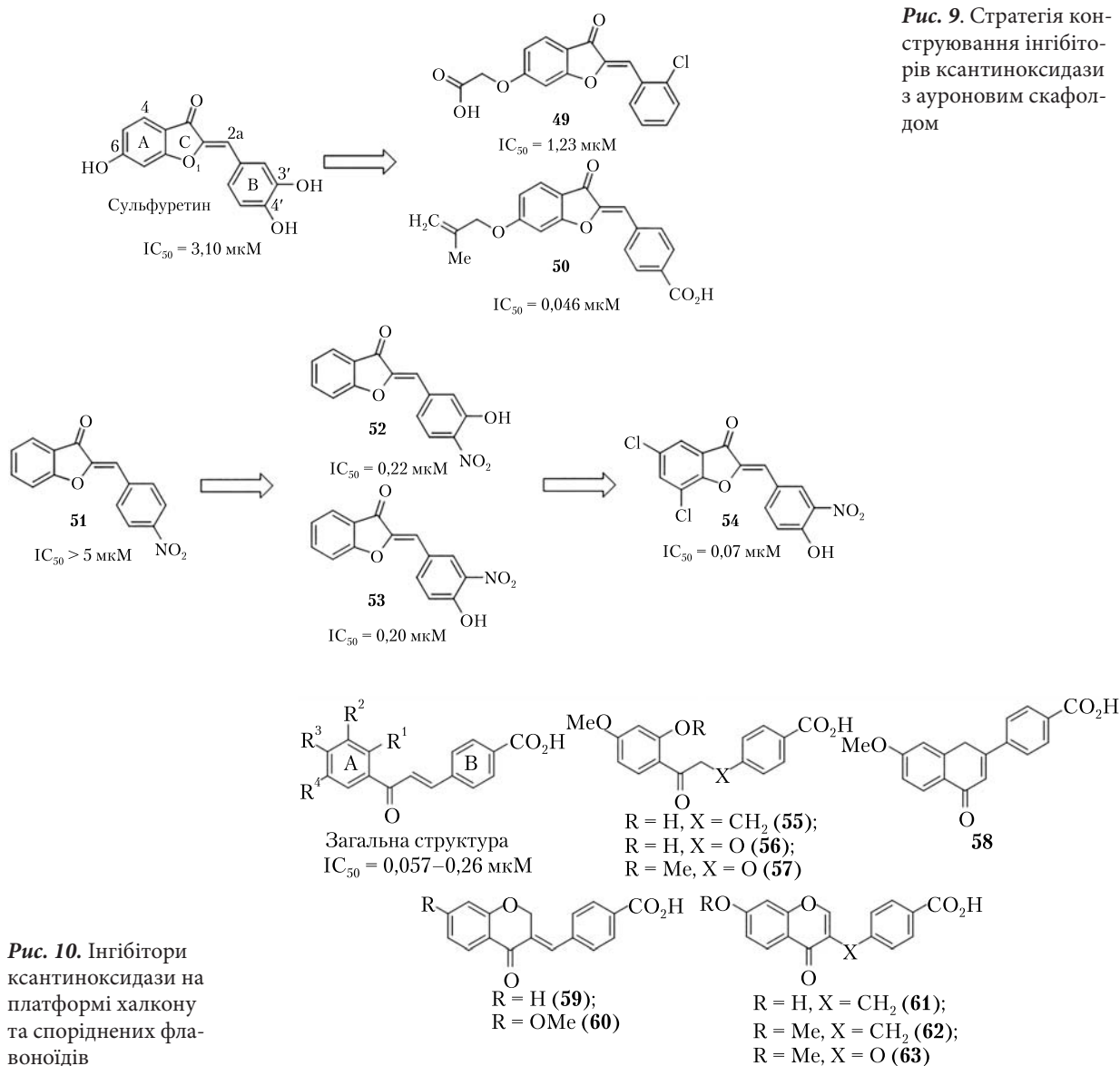


похідні ауруну з карбоксиметоксигрупою в положенні 6 кільця А та з карбоксильною групою в положенні 4' кільця В (найефективніші інгібітори — сполуки **49** і **50**, рис. 9). В дослідженнях *in silico* та *in vitro* сполуки двох серій демонстрували різні діапазони інгібувальної активності. Ауруни з карбоксильною групою в положенні 4' кільця В виявилися потужними інгібіторами ксантиноксидази зі значеннями IC_{50} в наномольному діапазоні. Результати молекулярного докінгу дозволили пояснити спостережені інгібувальні ефекти та підтвердили ключову роль карбоксифенільного фрагменту 4'-карбоксиаурунів у формуванні стабільного комплексу завдяки взаємодіям з Arg880, Phe914, Thr1010 і Phe1009 [25].

Використовуючи потенціал аурунового скафолду в дизайні інгібіторів ксантиноксидази, карбоксильну групу в положенні 4' кільця В було замінено на нітрогрупу як структурний ізостер, що зберігає планарність і подібні геометричні характеристики. Попередні комп'ютерні розрахунки свідчили про доцільність такої заміни. Передбачалося, що ця модифікація могла вплинути на інгібувальну активність сполук, оскільки

нітрогрупа, на відміну від карбоксилатного фрагменту, не здатна формувати іонні взаємодії з гуанідиною групою залишку Arg880 активного центру. Проведені *in vitro* дослідження показали, що сполука **51** з нітрогрупою в положенні 4' є слабким інгібітором ксантиноксидази, а її переміщення в положення 3' або 2' не приводило до підвищення інгібувальної активності. Натомість введення гідроксильної групи поряд із нітрогрупою істотно поліпшило властивості інгібітора. При цьому майже не мало значення, яка з груп (нітрогрупа або гідроксигрупа) перебувала в положенні 2' чи 3' (сполуки **52** і **53**). Введення атомів хлору в кільце А аурунової платформи (сполука **54**) сприяло посиленню взаємодій ліганду з неполярними амінокислотними залишками гідрофобної кишені активного центру [26].

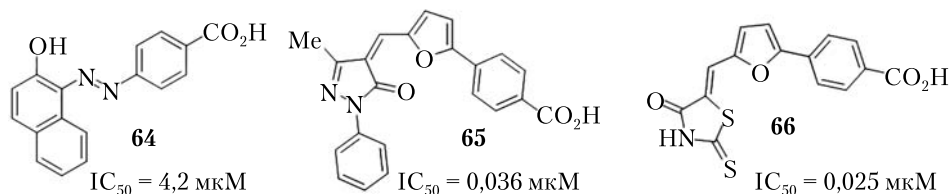
У наступних дослідженнях як потенційні платформи для конструювання карбоксильованих інгібіторів ксантиноксидази було використано структури халкону, флавону та інших флавоноїдів. Попередня комп'ютерна оцінка віртуальних структур засвідчила перспективність такого підходу.



За результатами вивчення активності *in vitro* було встановлено, що 4-карбоксильовані халкони з гідрокси-, метокси- та етоксигрупами в кільці А (рис. 10) є інгібіторами ксантиноксидази зі значеннями IC_{50} в діапазоні від 0,057 до 0,26 мкМ, які в 10—60 разів перевищували показники впливу алопуринолу. Подібну інгібувальну здатність продемонструвала 4'-карбоксильована похідна флавону **58**. Серед інших похідних $\Delta^{3,9}$ -гомоізофлавоноїдні карбонові кислоти **59** і **60** виявили нижчу активність,

тоді як дигідрофлавонової кислоти **55** та $\Delta^{2,3}$ -гомоізофлавоноїдні карбонові кислоти **61** і **62**, а також їх *окса*-аналоги **56**, **57** і **63** були ще менш ефективними інгібіторами ксантиноксидази.

Аналіз залежності активності від структури показав, що відмінності інгібувального впливу похідних карбоксихалконів, карбоксифлавонової і гомоізофлавоноїдних карбонових кислот можна пояснити різною орієнтацією кільця А і карбонільної групи при закріпленні інгібітора в активному центрі ферменту [27].



бензойної кислоти і піразолонових та роданінових похідних з фрагментом 4-(фуран-2-іл)бензойної кислоти

Рис. 11. Інгібітори ксантиноксидази серед азометинових похідних *para*-аміно-

Рис. 12. Стратегія розроблення 4-(5-амінозаміщених-4-ціанооксазол-2-іл)бензойних кислот як інгібіторів ксантиноксидази

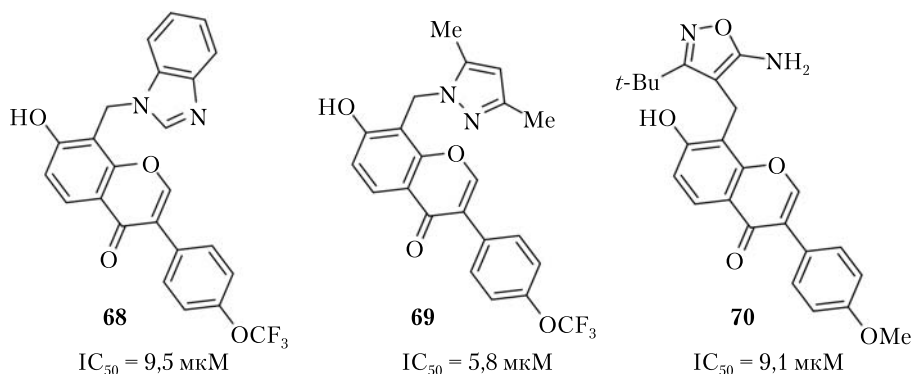
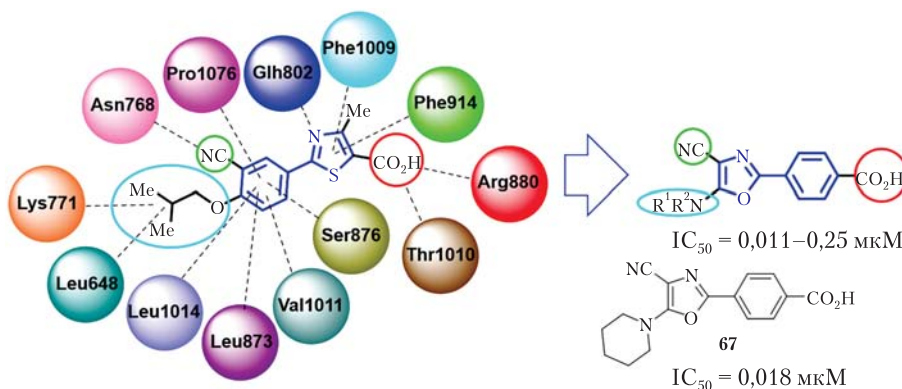


Рис. 13. Бензопірон-азольні гібриди — мікромолярні інгібітори α -глюкозидази

Поряд із карбоксильованими похідними природних сполук ми обґрунтували дизайн інгібіторів ксантиноксидази на основі синтетичних азометинових похідних *para*-амінобензойної кислоти [28], а також похідних піразолону та роданіну, що мали в своїх структурах фрагмент 4-(фуран-2-іл)бензойної кислоти (рис. 11) [29, 30].

З урахуванням ключових структурних особливостей, що відіграють вагомий роль у зв'язуванні молекули фебуксостату з активним центром ксантиноксидази, ми запропонували серію нових віртуальних структур 4-(5-амінозаміщених-4-ціанооксазол-2-іл)бензойних кислот (рис. 12). Після оцінки їхньої можливої

активності методом молекулярного докінгу, подальшого синтезу відібраних сполук та досліджень *in vitro* було встановлено, що 4-(5-амінозаміщені-4-ціанооксазол-2-іл)бензойні кислоти можуть інгібувати ксантиноксидазу в наномолярному діапазоні концентрацій [31].

З метою виявлення ключових взаємодій між лігандом і активним центром ксантиноксидази комплекси ферменту зі сполуками **65**, **66** та **67** було піддано молекулярно-динамічній симуляції. Аналіз компонентів ММ-PBSA показав, що для всіх трьох сполук основний внесок у їх зв'язування з ферментом роблять водневі, іонні та гідрофобні контакти. Декомпозиції енер-

гій зв'язування на амінокислотні залишки свідчать, що взаємодії лігандів з Arg880, Phe1009 і Thr1010 є ключовими у стабілізації комплексів.

Один із напрямів наших досліджень, розпочатих нещодавно, стосується нових інгібіторів α -глюкозидази. Цей фермент є однією з терапевтичних мішеней для послаблення постпрандіальної гіперглікемії у хворих на цукровий діабет. Ми встановили, що нові бензопірон-азольні гібриди (рис. 13) є мікромолярними інгібіторами α -глюкозидази, причому їхня ефективність більш ніж у десять разів вища, ніж у лікарського препарату акарбози. Виконані кінетичні дослідження узгоджуються з механізмом дії, що передбачає взаємодію бензопірон-азольних гібридів із кількома центрами зв'язування на поверхні ферменту [32, 33].

Отже, у результаті досліджень отримано нові знання щодо взаємозв'язку між хімічною структурою низки гетероциклічних і макроциклічних сполук та їхньою активністю як потенційних інгібіторів терапевтично важливих ферментів. Зокрема, регулювання структурного балансу між природою макроциклічної платформи та її замісниками на верхньому і нижньому вінці калікс[4]аренів дозволяє досягти селективного інгібування окремих протектирозинфосфатаз і глутатіон-S-трансфераз. При цьому деякі сполуки можна розглядати як мультифункціональні інгібітори, націлені на активність ферментів обох цих родин. Про-

демонстровано перспективність функціоналізації калікс[4]аренового скафолду фоточутливими групами для створення УФ-індукованих інгібіторів глутатіон-S-трансфераз. На основі результатів комп'ютерного моделювання запропоновано можливі мішені для похідних азотистих гетероциклів, взаємодія з якими може забезпечувати їхню протиракову і протівірусну активність. Виявлено, що тіазоловмісні роданін-3-алкілкарбонові кислоти можуть бути перспективними модуляторами онкогенних сигнальних шляхів. Розкрито потенціал використання О-ацилзаміщених N-бензильних структурних аналогів тіаміну у дизайні ефективних наномолярних інгібіторів холінестераз. Здійснено раціональне конструювання та відібрано низку перспективних інгібіторів ксантиноксидази на основі природних і синтетичних скафолдів. Серед бензопірон-азольних гібридів виявлено ефективні інгібітори α -глюкозидази. Загалом розроблено нові інгібітори терапевтично важливих ферментів, які за інгібувальною активністю наближаються або перевершують наявні лікарські засоби, що визначає перспективність вивчених груп сполук для подальших досліджень.

Автор висловлює щире подяку співавторам наведених у доповіді результатів, а також Національній академії наук України та Національному фонду досліджень України за грантову підтримку виконаних досліджень.

REFERENCES

1. Vovk A.I., Kalchenko V.I., Cherenok S.O., Kukhar V.P., Muzychka O.V., Lozynsky M.O. Calix[4]arene methylenebisphosphonic acids as calf intestine alkaline phosphatase inhibitors. *Org. Biomol. Chem.* 2004. 2(21): 3162—3166. <https://doi.org/10.1039/B409526J>
2. Vovk A.I., Kononets L.A., Tanchuk V.Yu., Cherenok S.O., Drapailo A.B., Kalchenko V.I., Kukhar V.P. Inhibition of *Yersinia* protein tyrosine phosphatase by phosphonate derivatives of calixarenes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010. 20(2): 483—487. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.11.126>
3. Trush V.V., Cherenok S.O., Tanchuk V.Yu., Kukhar V.P., Kalchenko V.I., Vovk A.I. Calix[4]arene methylenebisphosphonic acids as inhibitors of protein tyrosine phosphatase 1B. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2013. 23(20): 5619—5623. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.08.040>
4. Trush V.V., Kharchenko S.G., Tanchuk V.Yu., Kalchenko V.I., Vovk A.I. Phosphonate monoesters on a thiacalix[4]arene framework as potential inhibitors of protein tyrosine phosphatase 1B. *Org. Biomol. Chem.* 2015. 13(33): 8803—8806. <https://doi.org/10.1039/c5ob01247c>
5. Trush V., Cherenok S., Tanchuk V., Kalchenko V., Vovk A. Evaluation of inhibition of protein tyrosine phosphatase 1B by calixarene-based α -ketophosphonic acids. *Chem. Biol. Lett.* 2015. 2(1): 1—5. <http://www.pubs.iscience.in/journal/index.php/cbl/article/view/253>

6. Kobzar O.L., Cherenok S.O., Kosterin S.O., Kalchenko V.I., Vovk A.I. Biologically active calixarene phosphonic acids. *Ukr. Bioorg. Acta*. 2022. **17**(2): 3—13. <https://doi.org/10.15407/bioorganica2022.02.003>
7. Buldenko V., Kobzar O., Trush V., Drapailo A., Kalchenko V., Vovk A. Sulfonyl-bridged calix[4]arene as an inhibitor of protein tyrosine phosphatases. *Fr.-Ukr. J. Chem.* 2017. **5**(2): 144—151. <https://doi.org/10.17721/fujcV5I2P144-151>
8. Buldenko V.M., Trush V.V., Kobzar O.L., Drapailo A.B., Vyshnevsky S.G., Kalchenko V.I., Vovk A.I. The assessment of sulfonylcalix[4]arene derivatives as inhibitors of protein tyrosine phosphatases. *J. Org. Pharm. Chem.* 2018. **16**(3): 24—29. <https://doi.org/10.24959/ophcj.18.947>
9. Buldenko V.M., Trush V.V., Kobzar O.L., Drapailo A.B., Kalchenko V.I., Vovk A.I. Calixarene-based phosphinic acids as inhibitors of protein tyrosine phosphatases. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2019. **29**(6): 797—801. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.01.026>
10. Kobzar O.L., Shulha Yu.V., Buldenko V.M., Drapailo A.B., Kalchenko V.I., Vovk A.I. Inhibition of glutathione S-transferases by calix[4]arene-based phosphinic acids. *Ukr. Bioorg. Acta*. 2022. **17**(1): 86—91. <https://doi.org/10.15407/bioorganica2022.01.086>
11. Silenko O., Cherenok S., Shulha Yu., Kobzar O., Rusanov E., Karpichev Y., Vovk A., Kalchenko V. Thiacalix[4]arene phosphoric acids. Synthesis, structure, and inhibition of glutathione S-transferases. *Phosphorus Sulfur Relat. Elem.* 2021. **197**(5-6): 538—541. <https://doi.org/10.1080/10426507.2021.2011877>
12. Silenko O., Cherenok S., Kobzar O., Shulha Yu., Rusanov E., Karpichev Y., Drapailo A., Vovk A., Kalchenko V. Synthesis and structure of thiacalix[4]arene phosphoric acids and their ability to inhibit protein tyrosine phosphatases. *Phosphorus Sulfur Relat. Elem.* 2025. 1—12. <https://doi.org/10.1080/10426507.2025.2490167>
13. Kobzar O.L., Shulha Yu.V., Buldenko V.M., Mrug G.P., Kolotylo M.V., Stanko O.L., Onysko P.P., Vovk A.I. Alkyl and aryl α -ketophosphonate derivatives as photoactive compounds targeting glutathione S-transferases. *Phosphorus Sulfur Relat. Elem.* 2021. **196**(7): 672—678. <https://doi.org/10.1080/10426507.2021.1901703>
14. Vovk A.I., Mischenko I.M., Cherenok S.O., Tanchuk V.Y., Kalchenko V.I., Kukhar V.P. Phosphorylated calix[4]arenes as inhibitors of glutathione S-transferase. *Phosphorus Sulfur Relat. Elem.* 2011. **186**(4): 961—963. <https://doi.org/10.1080/10426507.2010.514313>
15. Cherenok S.O., Yushchenko O.A., Tanchuk V.Y., Mischenko I.M., Samus N.V., Ruban O.V., Matvieiev Y.I., Karpenko J.A., Kukhar V.P., Vovk A.I., Kalchenko V.I. Calix[4]arene- α -hydroxyphosphonic acids. Synthesis, stereochemistry, and inhibition of glutathione S-transferase. *ARKIVOC*. 2012: 278—298. <https://doi.org/10.3998/ark.5550190.0013.421>
16. Kobzar O., Shulha Yu., Buldenko V., Cherenok S., Silenko O., Kalchenko V., Vovk A. Inhibition of glutathione S-transferases by photoactive calix[4]arene α -ketophosphonic acids. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2022. **77**(1): 129019. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2022.129019>
17. Kobzar O.L., Sinenko V.O., Shulha Yu.V., Buldenko V.M., Hodyna D.M., Pilyo S.G., Brovarets V.S., Vovk A.I. Synthesis and evaluation of new thiazole-containing rhodanine-3-alkanoic acids as inhibitors of protein tyrosine phosphatases and glutathione S-transferases. *Ukr. Bioorg. Acta*. 2020. **15**(2): 33—40. <https://doi.org/10.15407/bioorganica2020.02.033>
18. Los O.V., Sinenko V.O., Kobzar O.L., Zhirnov V.V., Vovk A.I., Brovarets V.S. Synthesis and *in vitro* anticancer potential of new thiazole-containing derivatives of rhodanine. *Chem. Heterocycl. Comp.* 2023. **59**(6): 484—493. <https://doi.org/10.1007/s10593-023-03220-z>
19. Velihina Y., Geses R., Zhirnov V., Kobzar O., Bui B., Pilyo S., Vovk A., Shen H.-Y., Brovarets V. Design, synthesis and evaluation of the anti-breast cancer activity of 1,3-oxazolo[4,5-*d*]pyrimidine and 1,3-oxazolo[5,4-*d*]pyrimidine derivatives. *RSC Med. Chem.* 2023. **14**(4): 692—699. <https://doi.org/10.1039/D2MD00377E>
20. Pilyo S.G., Kozachenko O.P., Zhirnov V.V., Kachaeva M.V., Kobzar O.L., Vovk A.I., Brovarets V.S. Synthesis and anticancer activity of 5-sulfonyl derivatives of 1,3-oxazole-4-carboxylates. *Ukr. Bioorg. Acta*. 2020. **15**(2): 13—21. <https://doi.org/10.15407/bioorganica2020.02.013>
21. Kovalishyn V., Severin O., Kachaeva M., Kobzar O., Keith K.A., Harden E.A., Hartline C.B., James S.H., Vovk A., Brovarets V. *In silico* design and experimental validation of novel oxazole derivatives against varicella zoster virus. *Mol. Biotechnol.* 2021. **66**(4): 707—717. <https://doi.org/10.1007/s12033-023-00670-w>
22. Ocheretniuk A.D., Kobzar O.L., Mischenko I.M., Vovk A.I. *N*-Phenacylthiazolium salts as inhibitors of cholinesterases. *Fr.-Ukr. J. Chem.* 2017. **5**(2): 1—14. <https://doi.org/10.17721/fujcV5I2P1-14>
23. Ocheretniuk A.D., Kobzar O.L., Kozachenko O.P., Brovarets V.S., Vovk A.I. Synthesis and the activity assessment of adamantyl-containing thiazolium inhibitors of butyrylcholinesterase. *J. Org. Pharm. Chem.* 2017. **15**(4): 48—55. <https://doi.org/10.24959/ophcj.17.926>
24. Kobzar O., Ocheretniuk A., Buldenko V., Babi L., Kozachenko O., Brovarets V., Vovk A. *O*-substituted *N*(3)-benzyl analogs of vitamin B₁ as inhibitors of acetylcholinesterase or butyrylcholinesterase. *Curr. Chem. Lett.* 2020. **9**(1): 51—62. <https://doi.org/10.5267/j.ccl.2019.7.002>

25. Muzychka O.V., Kobzar O.L., Popova A.V., Frasinuk M.S., Vovk A.I. Carboxylated aurone derivatives as potent inhibitors of xanthine oxidase. *Bioorg. Med. Chem.* 2017. **25**(14): 3606—3613. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.04.048>
26. Kobzar O.L., Mischenko I.M., Tatarchuk A.V., Vdovin V.S., Lukashov S.S., Yarmoluk S.M., Vovk A.I. Nitro-substituted aurones as xanthine oxidase inhibitors. *Ukr. Bioorg. Acta.* 2021. **16**(2): 12—17. <https://doi.org/10.15407/bioorganica2021.02.012>
27. Kobzar O.L., Tatarchuk A.V., Mrug G.P., Bondarenko S.P., Demydchuk B.A., Frasinuk M.S., Vovk A.I. Carboxylated chalcones and related flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase. *Med. Chem. Res.* 2023. **32**(8): 1804—1815. <https://doi.org/10.1007/s00044-023-03109-8>
28. Kobzar O.L., Tatarchuk A.V., Kachaeva M.V., Pilyo S.G., Sukhoveev O.V., Sukhoveev V.V., Brovarets V.S., Vovk A.I. Azomethine derivatives of *p*-aminobenzoic acid as antioxidants and xanthine oxidase inhibitors. *Dopov. Nac. Akad. Nauk Ukr.* 2020. **6**: 74—82. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2020.06.074>
29. Beiko A.V., Kobzar O.L., Kachaeva M.V., Pilyo S.G., Tanchuk V.Yu., Vovk A.I. Inhibition of xanthine oxidase by pyrazolone derivatives bearing a 4-(furan-2-yl)benzoic acid moiety. *J. Org. Pharm. Chem.* 2023. **21**(4): 27—35. <https://doi.org/10.24959/ophcj.23.298726>
30. Beiko A.V., Kobzar O.L., Kachaeva M.V., Pilyo S.G., Kozachenko O.P., Vovk A.I. Rhodanine-based 4-(furan-2-yl)benzoic acids as inhibitors of xanthine oxidase. *Ukr. Bioorg. Acta.* 2023. **18**(2): 31—40. <https://doi.org/10.15407/bioorganica2023.02.031>
31. Kobzar O., Beiko A., Merzhyevskiy D., Shablykin O., Brovarets V., Tanchuk V., Vovk A. Design, synthesis, and xanthine oxidase inhibitory activity of 4-(5-aminosubstituted-4-cyanooxazol-2-yl)benzoic acids. *ChemMedChem.* 2024. **19**(21): e202400478. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202400478>
32. Myshko A.S., Mrug G.P., Bondarenko S.P., Kondratyuk K.M., Kobzar O.L., Buldenko V.M., Kozytskiy A.V., Vovk A.I., Frasinuk M.S. Trapping of thermally generated *ortho*- and *para*-quinone methides by imidazoles and pyrazoles: a simple route to green synthesis of benzopyrone-azole hybrids and their evaluation as α -glucosidase inhibitors. *RSC Adv.* 2024. **14**(38): 27809—27815. <https://doi.org/10.1039/D4RA05230G>
33. Myshko A.S., Mrug G.P., Bondarenko S.P., Demydchuk B.A., Kobzar O.L., Buldenko V.M., Vovk A.I., Frasinuk M.S. Divergent synthesis of novel 3(5)-aminoazole-benzopyrone hybrids and their evaluation as α -glucosidase inhibitors. *ChemMedChem.* 2025. **20**(5): e202400525. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202400525>

Oleksandr L. Kobzar

*V.P. Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine*

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4370-7041>

DESIGN OF HETEROCYCLIC AND MACROCYCLIC ENZYME INHIBITORS AS POTENTIAL DRUG MOLECULES

According to the materials of report at the meeting of the Presidium of the NAS of Ukraine, May 28, 2025

Natural and synthetic organic molecules are potential molecular tools for regulating enzyme activity and can be directed at therapeutically important targets. The search for and investigation of effective enzyme inhibitors form the basis and open up opportunities for the creation of new drugs. The report highlights our approaches to the design of novel inhibitors of protein tyrosine phosphatases, glutathione *S*-transferases, cholinesterases, xanthine oxidase, and α -glucosidase. The mechanistic features of the interactions of the bioactive compounds with key amino acid residues involved in ligand-protein complexes formation have been established. The obtained results can be used for understanding the relationship between the structure and activity of an inhibitor against a target, which is important for the development of new drug molecules aimed at the treatment of metabolic, oncological, and neurodegenerative diseases.

Keywords: calix[4]arenes, phosphonic acids, thiazoles, rhodanines, aurones, chalcones, benzoic acids, photoactive compounds, hybrid compounds, protein tyrosine phosphatases, glutathione *S*-transferases, cholinesterases, xanthine oxidase, α -glucosidase.

Cite this article: Kobzar O.L. Design of heterocyclic and macrocyclic enzyme inhibitors as potential drug molecules (according to the materials of report at the meeting of the Presidium of the NAS of Ukraine, May 28, 2025). *Visn. Nac. Akad. Nauk Ukr.* 2025. (8): 74—84. <https://doi.org/10.15407/visn2025.08.074>