

УДК 547.796.1+541.49

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ 1,4-ДИ- И 1,4,5-ТРИЗАМЕЩЕННЫХ 1H-1,2,3-ТРИАЗОЛОВ МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

К. М. ВЕРБИЛО¹⁾, А. В. ЗУРАЕВ²⁾, Ю. В. ГРИГОРЬЕВ²⁾, В. А. БУДЕВИЧ²⁾, О. А. ИВАШКЕВИЧ¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

²⁾Научно-исследовательский институт физико-химических проблем БГУ,
ул. Ленинградская, 14, 220006, г. Минск, Беларусь

Предложена белковая мишень антибактериального действия 1,4-ди- и 1,4,5-тризамещенных 1H-1,2,3-триазолов по отношению к микроорганизмам *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 6538. Методами молекулярного моделирования сгенерированы пространственные структуры белков-мишеней тест-микроорганизмов, а также исследованных триазолов. Предложена модель связывания данных соединений с активными центрами модельных белков, подтвержденная наблюдаемой корреляцией между экспериментальной активностью исследуемых триазолов и их рассчитанным сродством к активному центру белков. Выявлены дальнейшие направления функционализации 1,4-дизамещенных 1H-1,2,3-триазолов с целью создать на их основе новые эффективные антибактериальные препараты.

Ключевые слова: молекулярное моделирование; докинг; антибактериальная активность; *E. coli*; *S. aureus*; 1H-1,2,3-триазолы.

Благодарность. Данная работа выполнена при поддержке Министерства образования Республики Беларусь (проект № 20190977).

Образец цитирования:

Вербило КМ, Зураев АВ, Григорьев ЮВ, Будевич ВА, Ивашкевич ОА. Исследование механизма антибактериальной активности 1,4-ди- и 1,4,5-тризамещенных 1H-1,2,3-триазолов методами молекулярного моделирования. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия.* 2020;1:48–63.
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2020-1-48-63>

For citation:

Verbilo CM, Zuraev AV, Grigoriev YV, Budevich VA, Ivashkevich OA. Study of the mechanism of antibacterial action of 1,4-di- and 1,4,5-trisubstituted 1H-1,2,3-triazoles by molecular modeling. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry.* 2020;1:48–63. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2020-1-48-63>

Авторы:

Кирилл Маратович Вербило – студент химического факультета. Научный руководитель – А. В. Зураев.

Александр Викторович Зураев – кандидат химических наук; научный сотрудник лаборатории химии конденсированных сред.

Юрий Викторович Григорьев – кандидат химических наук; заведующий лабораторией химии конденсированных сред.

Владислав Александрович Будевич – младший научный сотрудник лаборатории химии конденсированных сред.

Олег Анатольевич Ивашкевич – академик Национальной академии наук Беларуси, доктор химических наук; первый проректор.

Authors:

Cyril M. Verbilo, student at the chemical faculty.
cyril.verbilo@gmail.com

<http://orcid.org/0000000276142369>

Alexander V. Zuraev, PhD (chemistry); researcher at the laboratory for chemistry of condensed systems.

alex.zuraev@gmail.com

<http://orcid.org/0000000169330524>

Yuri V. Grigoriev, PhD (chemistry); head of the laboratory for chemistry of condensed systems.

grigoriev@bsu.by

<http://orcid.org/000000028135835X>

Vladislav A. Budevich, junior researcher at the laboratory for chemistry of condensed systems.

vl.budevich@gmail.com

<http://orcid.org/0000000307298869>

Oleg A. Ivashkevich, academician of the National Academy of Sciences of Belarus, doctor of science (chemistry); first vice-rector.

ivashkevicho@bsu.by

<http://orcid.org/0000000151148628>

STUDY OF THE MECHANISM OF ANTIBACTERIAL ACTION OF 1,4-DI- AND 1,4,5-TRISUBSTITUTED 1H-1,2,3-TRIAZOLES BY MOLECULAR MODELING

C. M. VERBILO^a, A. V. ZURAEV^b, Y. V. GRIGORIEV^b, V. A. BUDEVICH^b, O. A. IVASHKEVICH^a^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus^bResearch Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University,
14 Lieninhradskaja Street, Minsk 220006, Belarus

Corresponding author: C. M. Verbilo (cyril.verbilo@gmail.com)

The target for antibacterial action of 1,4-di- and 1,4,5-trisubstituted 1H-1,2,3-triazoles against *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 6538 was proposed. Structures of target proteins and investigated triazoles were built using molecular modeling. Binding mechanism was suggested according to conducted docking studies. Suggested binding models and affinity for a binding site of 1,4-disubstituted 1H-1,2,3-triazoles correlated with their experimental activity. Further functionalization directions for continuation of a search for a novel effective antibacterial agents were discovered.

Keywords: molecular modeling; docking; antibacterial activity; *E. coli*; *S. aureus*; 1H-1,2,3-triazoles.

Acknowledgements. This work was supported by the Ministry of Education of the Republic of Belarus (project No. 20190977).

Введение

На сегодняшний день одной из наиболее серьезных проблем здравоохранения является постепенно увеличивающаяся резистентность бактерий, грибков и протистов к современным противомикробным препаратам. При этом появление устойчивых штаммов микроорганизмов приводит к удорожанию и ухудшению качества лечения инфекционных заболеваний, длительному нахождению пациентов в условиях стационара, а также увеличению количества летальных исходов [1; 2]. Одними из наиболее распространенных возбудителей болезней являются штаммы патогенных микроорганизмов *S. aureus* и *E. coli*. Меры, направленные на предупреждение развития устойчивости данных микроорганизмов к современным антимикробным средствам, служат необходимым условием достижения эффективности лечения инфекционных заболеваний [3; 4]. В связи с этим, несмотря на наличие широкого спектра применяемых в настоящее время антимикробных препаратов, разработка новых более эффективных средств остается достаточно перспективной и актуальной задачей.

Одной из наиболее известных реакций клик-химии, используемых для получения различных биологически активных 1,2,3-триазолсодержащих соединений, является медькатализируемое азид-алкиновое циклоприсоединение (CuAAC) [5; 6]. Процесс характеризуется высокой эффективностью, региоселективностью, возможностью проведения в относительно мягких условиях, а также позволяет использовать широкий круг функционально замещенных реагентов [7]. Примечательно, что электронные и геометрические свойства 1H-1,2,3-триазольного цикла позволяют рассматривать его в качестве биоизостера амидной, сложноэфирной и карбоксильной групп [8]. Яркими примерами использования CuAAC в синтезе различных биоактивных соединений могут служить: модификация производных кумаринов и хинолинов, триазольные производные которых проявляют антибактериальную активность широкого спектра [9–13]; получение триазольных аналогов высших карбоновых кислот, активных в отношении *M. tuberculosis* [14]; синтез производных рибавирина, продемонстрировавших противовирусное действие в отношении ВИЧ и вирусов гриппа форм А и В, герпеса [15; 16]; получение производных пенициллиновых ингибиторов β-лактамаз [15; 16]. Активность вышеперечисленных соединений, как правило, связывают с наличием в их структуре известных фармакофорных фрагментов (кумаринового, хинолинового, пенициллинового циклов, остатков нуклеозидов и высших карбоновых кислот). Триазольные производные, как и их вещества-предшественники, проявляют активность в отношении одинаковых мишеней – обратной транскриптазы ВИЧ, пенициллиназы и цефалоспорины. Таким образом, для данных производных триазольный цикл лишь вносит дополнительные взаимодействия с белком-мишенью, не меняя при этом общего механизма влияния.

В то же время для 1,4-дизамещенных 1H-1,2,3-триазолов, не несущих каких-либо известных фармакофорных фрагментов, обнаружен широкий спектр антимикробной [17–19] и противопротозойной [20] активностей. Отсутствие известных фармакофоров в структуре данных соединений позволяет предположить, что сам триазольный цикл может проявлять свойства фармакофорной группы. Знание точной структуры фармакофора, строения соответствующей ему мишени, а также связи *структура – действие*

(*structure – activity relationship*, SAR) позволяет проводить направленную функционализацию соединений в целях создания новых высокоэффективных антимикробных препаратов.

В настоящей работе с помощью методов молекулярного моделирования исследован предполагаемый механизм антибактериального действия по отношению к штаммам *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 6538 представительного круга 1,4-ди- и 1,4,5-тризамещенных 1*H*-1,2,3-триазолов (рис. 1). В результате анализа структур известных ингибиторов биосинтеза пептидогликана была установлена определяющая антибактериальное действие исследованных триазолов мишень – белок уридиндифосфат-N-ацетиленолпирувилглюкозамин редуктаза (MurB). С использованием указанных методов были сконструированы структуры белков-мишеней для каждого из вышеназванных микроорганизмов. В свою очередь, анализ лиганд-белковых комплексов, полученных в результате докинга соединений 1–17 (см. рис. 1) в белки MurB, позволил выявить ключевые структурные особенности производных 1*H*-1,2,3-триазола, отвечающие за их антибактериальное действие. Соответствие между экспериментально определенной и расчетной антибактериальными активностями исследованных триазолов устанавливалось методом корреляционного анализа.

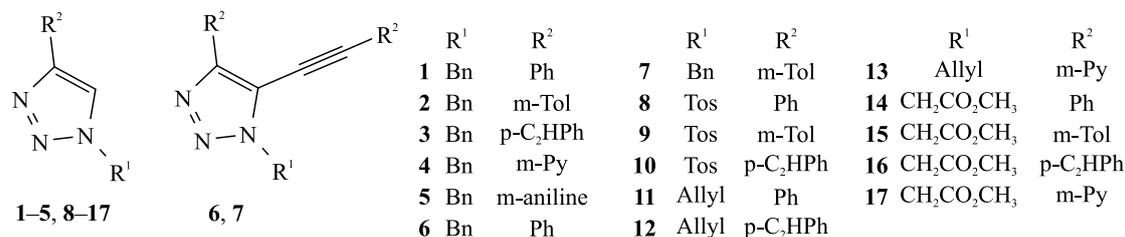


Рис. 1. Структуры исследуемых 1*H*-1,2,3-триазолов

Fig. 1. Structures of studied 1*H*-1,2,3-triazoles

Материалы и методы

Использованные для проведения исследований 1,4- и 1,4,5-замещенные 1*H*-1,2,3-триазолы синтезированы по методике, приведенной в [7].

Исследования диаметра зоны угнетения роста микроорганизмов. Изучение антимикробной активности соединений 1–17 (см. рис. 1) по отношению к штаммам *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 6538 проводилось с помощью стандартного метода диффузии в агар [21].

Моделирование трехмерных геометрических структур белка MurB штаммов *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 6538. Аминокислотную последовательность белков MurB штаммов *S. aureus* ATCC 6538 и *E. coli* ATCC 25922 брали из базы данных *GenBank* [22] (ID: CP020020.1 для *S. aureus*, ID: CP009072.1, ген *AIL14192* для *E. coli*). Трехмерные модели белка MurB получали, используя онлайн-сервис для построения белков по гомологии *SWISS-MODEL* [23].

Генерирование геометрических структур 1,4-ди- и 1,4,5-тризамещенных 1*H*-1,2,3-триазолов. Для оптимизации геометрических параметров структур триазолов 1–17 использовался метод B3LYP/6-311+G(d, p) [24]. Расчеты проводили в пакете программ *Gaussian 09* [25].

Оптимизация геометрических структур методами молекулярной механики (силовое поле для малых молекул *MMFF94x* [26]) проводилась в среде *Molecular Operating Environment* (MOE, version 2014.09).

Докинг. Докинг 1,4-ди- и 1,4,5-тризамещенных 1*H*-1,2,3-триазолов 1–17 выполнялся в программе *AutoDock 4.2.6* [27]. При этом использовался генетический алгоритм по Ламарку (*Lamarckian genetic algorithm*, LGA) со стандартными параметрами поиска. Процесс докинга проводился в области белка размером 16 × 16 × 16 Å (с шагом сетки потенциалов *AutoGrid* 0,2 Å), захватывающей активный центр.

Визуализация результатов. Визуализация структур белков и лиганд-белковых комплексов проводилась с использованием программы *UCSF Chimera* [28].

Статистический анализ. Экспериментальные данные обрабатывались с помощью программного пакета *OriginPro 8.0*.

Результаты и их обсуждение

Поиск мишеней, определяющих антимикробную активность 1,4-ди- и 1,4,5-тризамещенных 1*H*-1,2,3-триазолов

Мишенями многих применяемых в настоящее время антибактериальных препаратов, таких как антибиотиков ряда пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов, монобактамов, служат белки биосинтеза

пептидогликана [29]. Ключевой частью формирования клеточной стенки является биосинтез мономера пептидогликана, представляющего собой пентапептидное производное мурамовой кислоты. Белки MurA и MurB участвуют в ранних стадиях процесса биосинтеза пептидогликана, формируя углеводный фрагмент, превращающийся в пентапептидное производное под действием белков MurC – MurF (рис. 2). Сформированный таким образом мономер пептидогликана присоединяется к клеточной мембране посредством белка *mraY*, затем транспортируется в периплазматическое пространство бактериальной клетки, где далее полимеризуется под действием ферментов, таких как транспептидазы и гликозилтрансферазы [29].

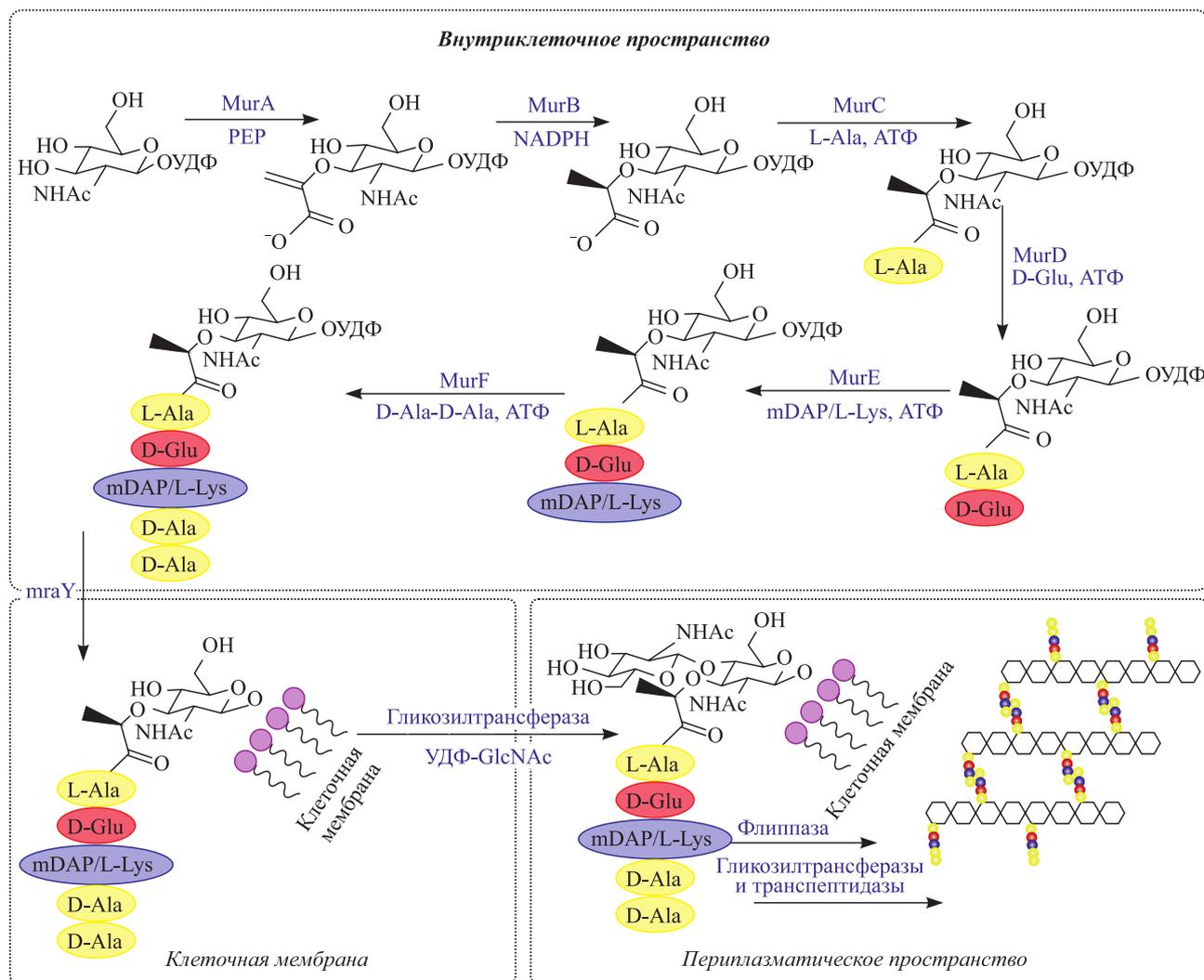


Рис. 2. Биосинтез пептидогликана
Fig. 2. Peptidoglycan biosynthesis

На рис. 3 представлены структуры ряда исследуемых в настоящее время ингибиторов белков биосинтеза пептидогликана [29]. Поскольку функции белков MurC – MurF заключаются в формировании пентапептидов (мономеров биосинтеза пептидогликана), большинство ингибиторов данных белков представляют собой пептидомиметики (см. рис. 3, в). В то же время для белков MurA и MurB, функция которых – формирование углеводного фрагмента, ингибиторами являются не относящиеся к пептидомиметикам соединения (см. рис. 3, а, б). Большинство ингибиторов белка MurA выступают полярными молекулами, способными ковалентно связываться с активным центром белка, приводя к ингибированию синтеза пептидогликана (данный механизм лежит в основе действия известного антибактериального препарата фосфомицина). В случае белка MurB связывание ингибиторов происходит обратимо. При этом считается, что полярные группы ингибиторов имитируют дифосфатный участок субстрата белка MurB и связываются непосредственно с полярными группами данного белка, в то время как неполярные группы, несмотря на отсутствие таковых в структуре субстрата, связываются именно с липофильными участками [30].

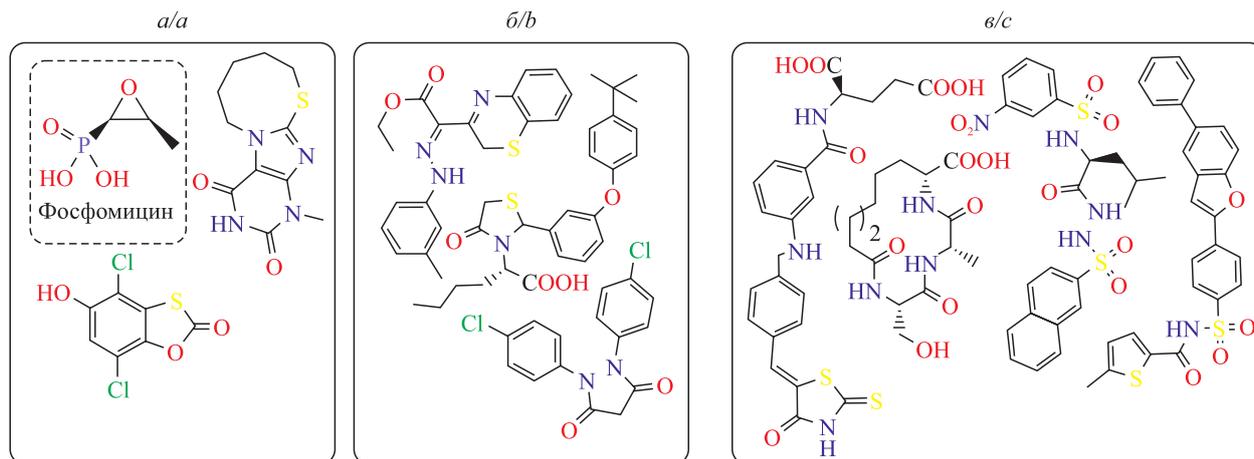


Рис. 3. Структуры некоторых известных ингибиторов белков MurA (а), MurB (б) и MurC – MurF (в)
Fig. 3. Structures of some known inhibitors of MurA (a), MurB (b), and MurC – MurF (c) proteins

После сопоставления структур типичных ингибиторов белков MurA – MurF со строением исследуемых 1,4-ди- и 1,4,5-тризамещенных 1*H*-1,2,3-триазолов (1–17), в которых между двумя липофильными участками находится полярный фрагмент, наиболее схожими в структурном плане оказались ингибиторы белка MurB. Это позволяет предположить, что механизм антибактериального действия исследуемых соединений 1–17 может быть обусловлен взаимодействием их с белком MurB.

Моделирование трехмерных структур белков-мишеней. Знание точных структур лигандов и соответствующих им мишеней является необходимым условием для проведения докинга. Поскольку в базе данных *Protein Data Bank* (PDB) для исследованных микроорганизмов отсутствуют разрешенные структуры белков MurB, в рамках настоящей работы проведено построение трехмерных структур белков с использованием методов молекулярного моделирования.

Как правило, моделирование трехмерных структур белков методами *de novo* представляет собой сложный процесс, который не позволяет учитывать влияние посттрансляционных модификаций и белок-белковых взаимодействий в клетке на формирование третичной и четвертичной структур белков [31]. В связи с этим методы моделирования трехмерной структуры белков по гомологии являются более привлекательными. Особенность таких методов заключается в поиске для исследуемого белка белков-гомологов со схожими первичной и, как следствие, вторичной, третичной и четвертичной структурами. Таким образом, моделирование структуры белка сводится к приданию его аминокислотной последовательности трехмерной структуры белка-гомолога и минимизации энергии полученной модели.

Моделирование белков по гомологии проводили с помощью онлайн-сервиса *SWISS-MODEL*. В качестве темплата для белка MurB микроорганизма *E. coli* ATCC 25922 (далее упоминается как белок **A**) использована кристаллическая структура белка MurB микроорганизма *E. coli* K12 (PDB ID 1MBB; далее данный белок упоминается как белок **O**). Моделью белка MurB микроорганизма *S. aureus* ATCC 6538 (далее данный белок упоминается как белок **B**) служила трехмерная структура белка MurB *S. aureus* (PDB ID 1HSK) ввиду идентичности их аминокислотных последовательностей.

Анализ модели белка А. Моделирование белков по гомологии способно привести к образованию структурных нарушений (артефактов), образование которых в природных формах белков маловероятно. Среди таковых наиболее часто встречаются изменение строения активного центра белка, энергетически невыгодные конформации полипептидной цепи, а также нарушения в строении гидрофобных и гидрофильных областей третичной структуры белка. Наличие структурных нарушений может свидетельствовать о неправильно выбранном белке-шаблоне.

Сервис *SWISS-MODEL* позволяет рассчитывать параметры, характеризующие качество процесса моделирования. Одним из них является характеризующий схожесть аминокислотных последовательностей темплата и моделируемого белка параметр GMQE (*Global Model Quality Estimation*). Он принимает значения от 0 до 1 (в случае большой степени идентичности последовательностей эта величина приближается к 1). Значение GMQE рассчитывается для всех возможных шаблонных белков, позволяя выбрать наиболее подходящий для моделирования. Другой параметр QMEAN (*Qualitative Model Energy Analysis*) представляет собой характеристику качества полученной модели белка и может иметь значения от –5,0 до 5,0. Так, его величина, близкая к нулю, является показателем хорошего качества модели, в то время как значение данного параметра, меньшее –4,0, отражает неудовлетворительное качество. Если QMEAN

больше нуля, то качество полученной модели лучше, чем предполагаемое по алгоритму расчета исходя из исходного шаблона. Рассчитанные нами для белка **A** значения параметров GMQE и QMEAN составили 0,99 и $-0,07$ соответственно, что свидетельствует о хорошем качестве полученной модели.

На рис. 4 представлены геометрические структуры белков **A** и **B**. Третичные структуры обоих белков схожи, однако в случае белка **A** наблюдается наличие двух дополнительных петель рядом с активным центром (Pro181 – Val201, Val236 – Ala264), которые способствуют формированию дополнительных субстрат-белковых взаимодействий.

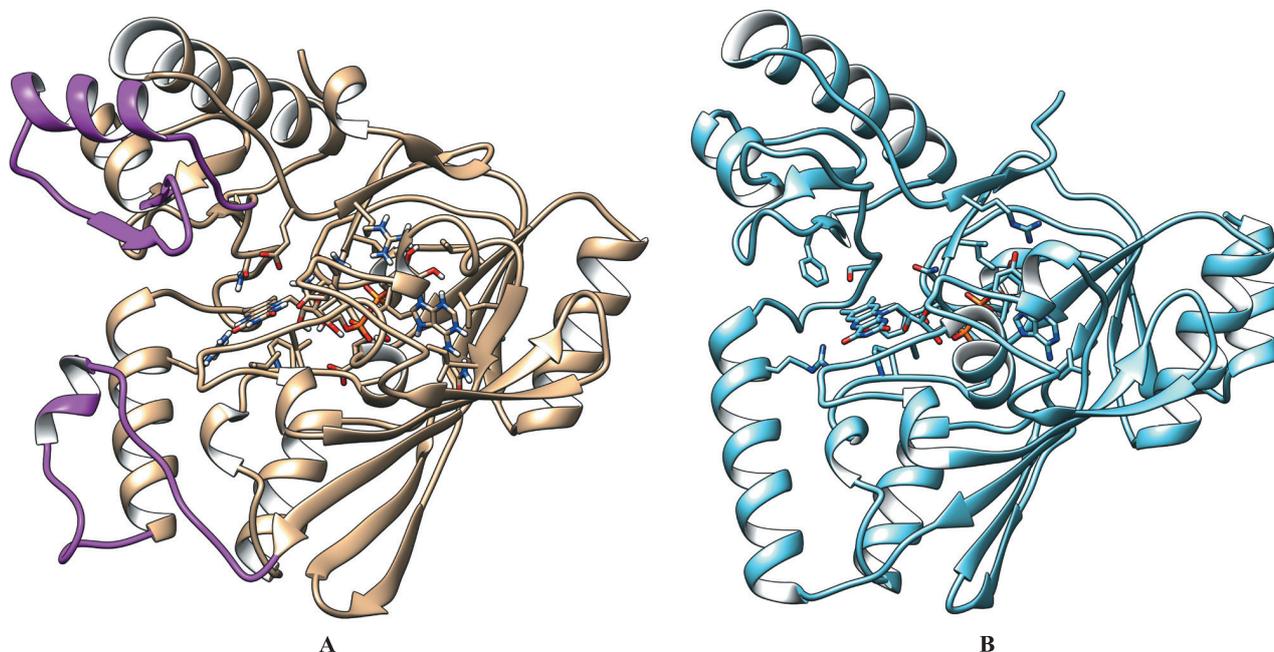


Рис. 4. Геометрические структуры белков **A** и **B**.
Пурпурным цветом в структуре белка **A** выделены петли, отсутствующие в белке **B**

Fig. 4. Geometric structures of proteins **A** and **B**.
Loops of protein **A** that are absent in protein **B** are colored in purple

Генерация трехмерных структур 1,4-ди- и 1,4,5-тризамещенных 1*H*-1,2,3-триазолов

Для расчетов геометрических характеристик азотсодержащих гетероциклов наиболее часто используются методы молекулярной механики и B3LYP/6-311+G(d, p). Оптимизированные в рамках данных методов геометрические параметры, как правило, хорошо согласуются с экспериментальными данными [32], поэтому именно эти методы были использованы нами для оптимизации геометрических параметров структур триазолов **1–17**. В результате установлено, что указанные параметры для соединений **1–17**, полученные с использованием методов B3LYP/6-311+G(d, p) и молекулярной механики, различаются незначительно: максимальное отклонение длин связей составляет $0,05 \text{ \AA}$, валентных углов -2° .

Поскольку метод B3LYP/6-311+G(d, p) по сравнению с методами молекулярной механики более ресурсо- и времязатратный, для генерирования трехмерных структур схожих по строению 1,4-ди- и 1,4,5-тризамещенных 1*H*-1,2,3-триазолов оптимальным является использование методов молекулярной механики.

Механизм связывания субстрата в белках MurB различных микроорганизмов

Чтобы определить, является ли белок MurB мишенью антибактериального действия исследованных 1,4-ди- и 1,4,5-тризамещенных 1*H*-1,2,3-триазолов, в рамках настоящей работы проведен докинг соединений **1–17** (см. рис. 1) в структуры белков MurB микроорганизмов *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 6538.

Алгоритм докинга, используемый программой *AutoDock 4.2.6*, способен генерировать несколько конформаций для лиганд-белкового комплекса. Считается, что на практике осуществляется только один вариант связывания с белком, называемый активной конформацией. Из всех полученных в результате докинга конформаций в качестве активной выбиралась та, в которой осуществлялись самые эффективные взаимодействия с важными для связывания субстрата аминокислотными остатками, а энергия связывания была минимальна. С целью установить наиболее важные для связывания субстрата аминокислотные остатки, а также выявить активную конформацию каждого из исследованных триазолов был проведен анализ механизма связывания субстрата в белках MurB.

Для исследования способа связывания использована определенная методом рентгеноструктурного анализа структура белка **O** (PDB ID 1MBV) с находящимся в активном центре аналогом его субстрата (молекулой производного уридиндифосфат-N-ацетиленолпирувилглюкозамина) (рис. 5), а также его апоформа (PDB ID 1MBT). Совпадение всех аминокислотных остатков, образующих активные центры белков **O** и **A**, может указывать на то, что белок-субстратные взаимодействия для них будут реализовываться подобным образом. Так как для белка **A** в результате моделирования не удалось получить структуру белок-субстратного комплекса, при изучении способа связывания использовался только белок-субстратный комплекс белка **O**.

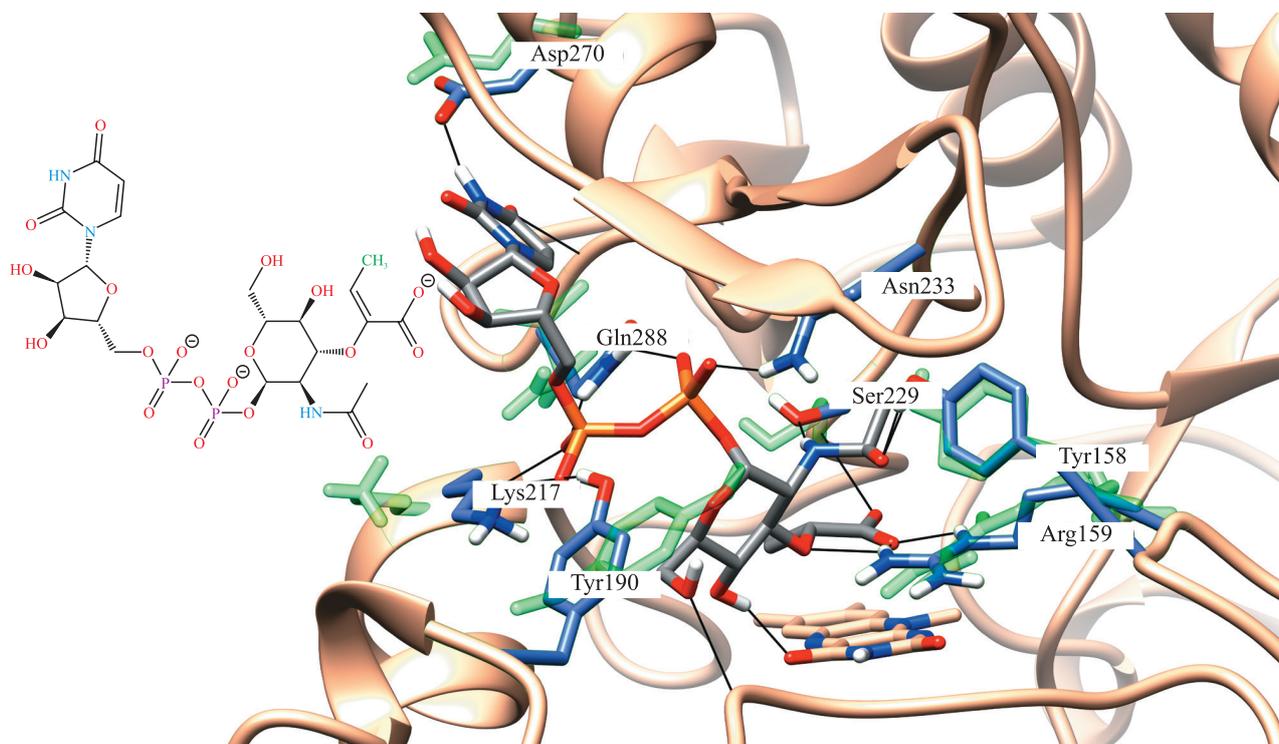


Рис. 5. Активный центр белка **O**. Слева – структура связанного лиганда, отличающегося от субстрата белка MurG на одну группу CH_3 , выделенную зеленым цветом. Черными линиями обозначены водородные связи между молекулой субстрата и белком **O**. Связывающие субстрат аминокислотные остатки белка **O** выделены синим цветом, их конформации в апоформе белка **O** – зеленым. Для кофермента ФАД показан только флавиновый гетероцикл

Fig. 5. Active site of protein **O** with bond molecule of derivative of natural substrate with extra CH_3 group, shown at left. Black lines stand for hydrogen bonds. Conformations of aminoacid residues in the apoform of protein is colored in blue, in the holoform – in green. Only flavine heterocycle of FAD is shown

Как видно из рис. 5, аминокислотные остатки, образующие активный центр белка **O**, претерпевают значительные конформационные изменения при связывании уридиндифосфат-N-ацетиленолпирувилглюкозамина. Стоит отметить, что отсутствие возможности учета изменения конформации активного центра белка MurB может привести к получению недостоверных расчетных данных. По этой причине остатки Arg159, Lys217, Ser229 и Gln288 белков **O** и **A** (претерпевающие наибольшие конформационные изменения) были выбраны в качестве «гибких», т. е. способных менять свою конформацию в процессе докинга.

Поскольку на момент проведения исследования в PDB отсутствовала структура белок-субстратного комплекса белка MurB микроорганизма *S. aureus*, определение ключевых для связывания субстрата аминокислотных остатков белка **B** проводилось посредством геометрического выравнивания моделей белков **O** и **B**, заключающегося в совмещении структур их активных центров.

Анализ геометрически выравненных структур активных центров белков **O** и **B** показал высокую степень схожести их строения (рис. 6), а также конформаций аминокислотных остатков, входящих в их состав. Отличия наблюдались только в случае аминокислотных остатков Gln288 и Asn233 белка **O**, на месте которых в белке **B** присутствуют остатки His217 и Arg242 соответственно. Несмотря на то что пары His – Gln и Arg – Asn не обладают сильным структурным подобием, они способны образовывать схожие системы водородных связей с субстратом.

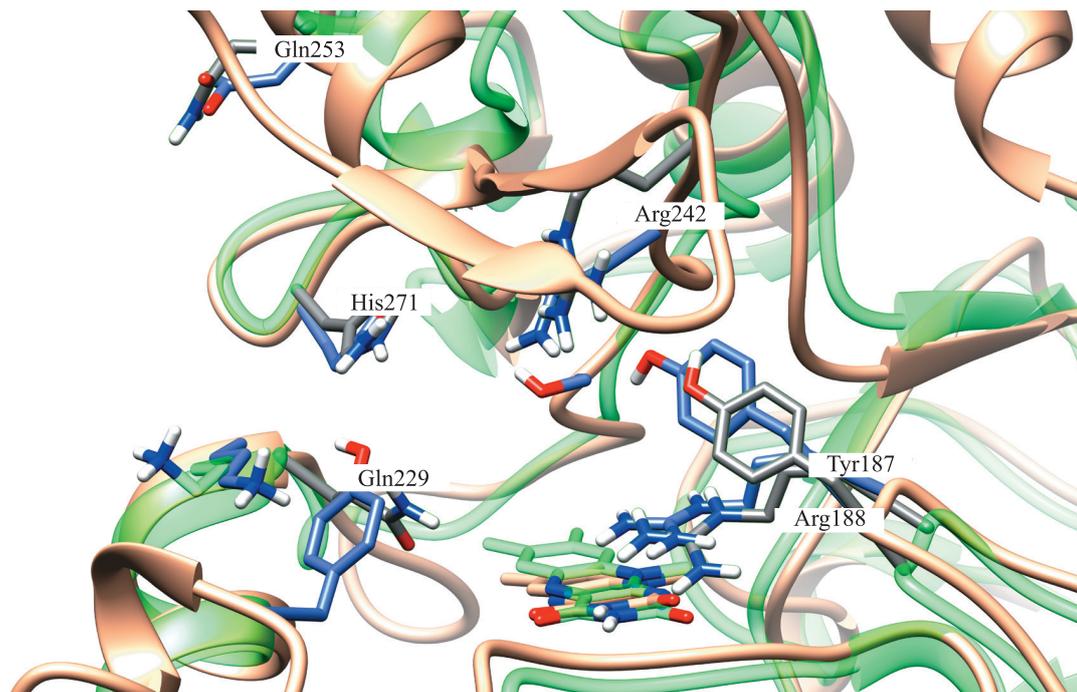


Рис. 6. Совмещенные активные центры белков **O** (бежевый цвет) и **B** (зеленый цвет).
Связывающие субстрат аминокислотные остатки белка **B** выделены серым цветом

Fig. 6. Superimposed active sites of protein **O** (beige) and **B** (green).
Aminoacid residues of protein **B** are colored in grey

Анализ связывания производных 1,4-ди- и 1,4,5-тризамещенных 1H-1,2,3-триазолов белком MurB

Анализ структур лиганд-белковых комплексов соединений 1–17 и белков **A** и **B** позволил выявить общие закономерности связывания. Для упрощения описания связывания веществ 1–17 белками **A** и **B** были введены условные обозначения областей активного центра белка MurB. Так, гидрофобная область, образованная неполярной частью флавинового кольца кофермента ФАД и связывающим его липофильным карманом, была обозначена как область ФАД (рис. 7). Данный фрагмент является мало-полярным и обладает достаточным размером для связывания больших липофильных заместителей триазольного цикла. Кроме того, в структуре активного центра имеется еще одна крупная липофильная область, образованная аминокислотными остатками, находящимися в структуре β-поворота (область β-поворота) (см. рис. 7). Эта область участвует в связывании липофильных заместителей триазольного цикла, однако ввиду ее меньшего размера аффинность липофильных заместителей к ней должна быть

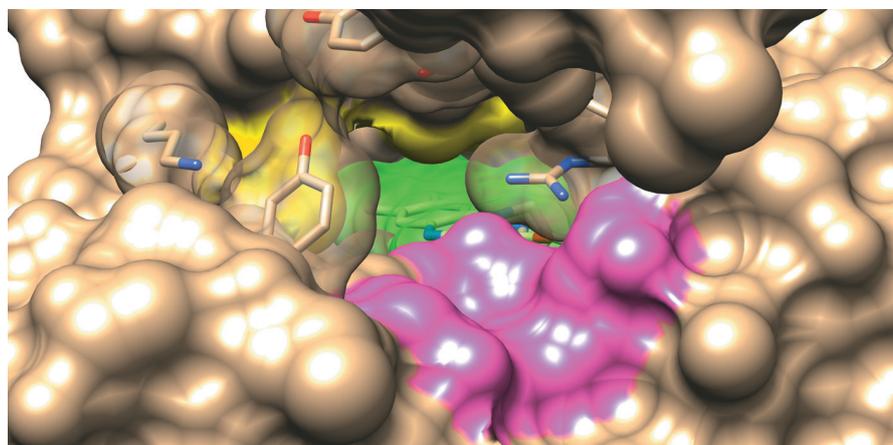


Рис. 7. Поверхность активного центра белка **A**. Поверхность кофермента ФАД показана зеленым цветом,
область ФАД – желтым, область β-поворота – розовым

Fig. 7. The surface of active site of protein **A**. Surface of FAD is colored in green,
FAD region is colored in yellow, β-turn region is colored in pink

небольшой. Область β -поворота в белках **A** и **B** образована малополярными аминокислотными остатками: Gly124 – Val125 – Glu126 – Leu127 и Gly153 – Ala154 – Tyr155 – Gly156 соответственно.

Анализ взаимодействия триазолов 1–17 с белком A. Так как взаимодействия соединений **1–17** (водородные связи, гидрофобные взаимодействия) с белком MurB реализуются одинаковым образом, то конформация каждого соединения внутри активного центра белка описывалась согласно следующим критериям: расположению заместителей в триазольном цикле, количеству водородных связей, а также взаимодействию с аминокислотным остатком Arg159, так как практически все исследованные триазолы образуют с ним несколько водородных связей (табл. 1).

Таблица 1

Анализ межмолекулярных взаимодействий между триазолами 1–17 и белком A

Table 1

Analysis of intermolecular interactions between triazoles 1–17 and protein A

Вещество	Количество водородных связей с остатком Arg159*	Количество других водородных связей	Расположение заместителя в положении 1 триазольного цикла	Расположение заместителя в положении 4 триазольного цикла
1	1: N2, 1: N3	–	Область β -поворота	Область ФАД
2		–	Область ФАД	Область β -поворота
3		–	Область β -поворота	Область ФАД
4		–		
5	1: N3	–	Открытая область	Над остатком Arg159
6	–	1: N2—Lys217	Все 3 заместителя триазольного кольца связаны гидрофобной областью, образованной Tyr125, Tyr190 и Tyr254	
7	–	1: N2—Lys217		
8	1: N2, 2: SO ₂	1: SO ₂ —Ser229	Открытая область	Область ФАД
9	2: SO ₂	–	Область β -поворота	
10	1: N3	1: SO ₂ —Tyr125		
11	1: N2	–		
12	1: N2, 1: N3	–		
13	1: N2	–		
14	1: N2, 2: CH ₂ CO ₂ Me	–	Рядом с Arg159	
15	1: N2, 1: CH ₂ CO ₂ Me	–		Область ФАД
16	1: N2	1: CH ₂ CO ₂ Me—Tyr125		Рядом с Lys217
17	1: CH ₂ CO ₂ Me	1: N2—Tyr125, 1: Py—Lys217		

*Кроме количеств водородных связей показаны группы атомов, участвующие в их образовании (N2 и N3 – соответствующие атомы триазольного цикла).

Водородные связи между атомами азота N2 и N3 триазольного цикла и аминокислотным остатком Arg159 представляют собой основной способ взаимодействия соединений **1–17** с белком MurB (рис. 8). Данные вещества, за исключением **6** и **7**, образуют с Arg159 до двух водородных связей за счет атомов азота триазольного цикла. Для веществ **8–10**, **14–17** могут реализовываться дополнительные водородные связи с данным остатком с помощью атомов кислорода тозилльной и метилацетильной групп (см. рис. 8). Соединения **5** и **17**, имеющие в положении 4 триазольного цикла анилиновый и пиридиновый заместители соответственно, обладают меньшей энергией связывания с белком. По всей видимости, уменьшение последней происходит за счет снижения эффективности взаимодействия этих заместителей с липофильной частью активного центра белка, что, вероятно, и заставляет соответствующие соединения принимать энергетически невыгодные конформации.

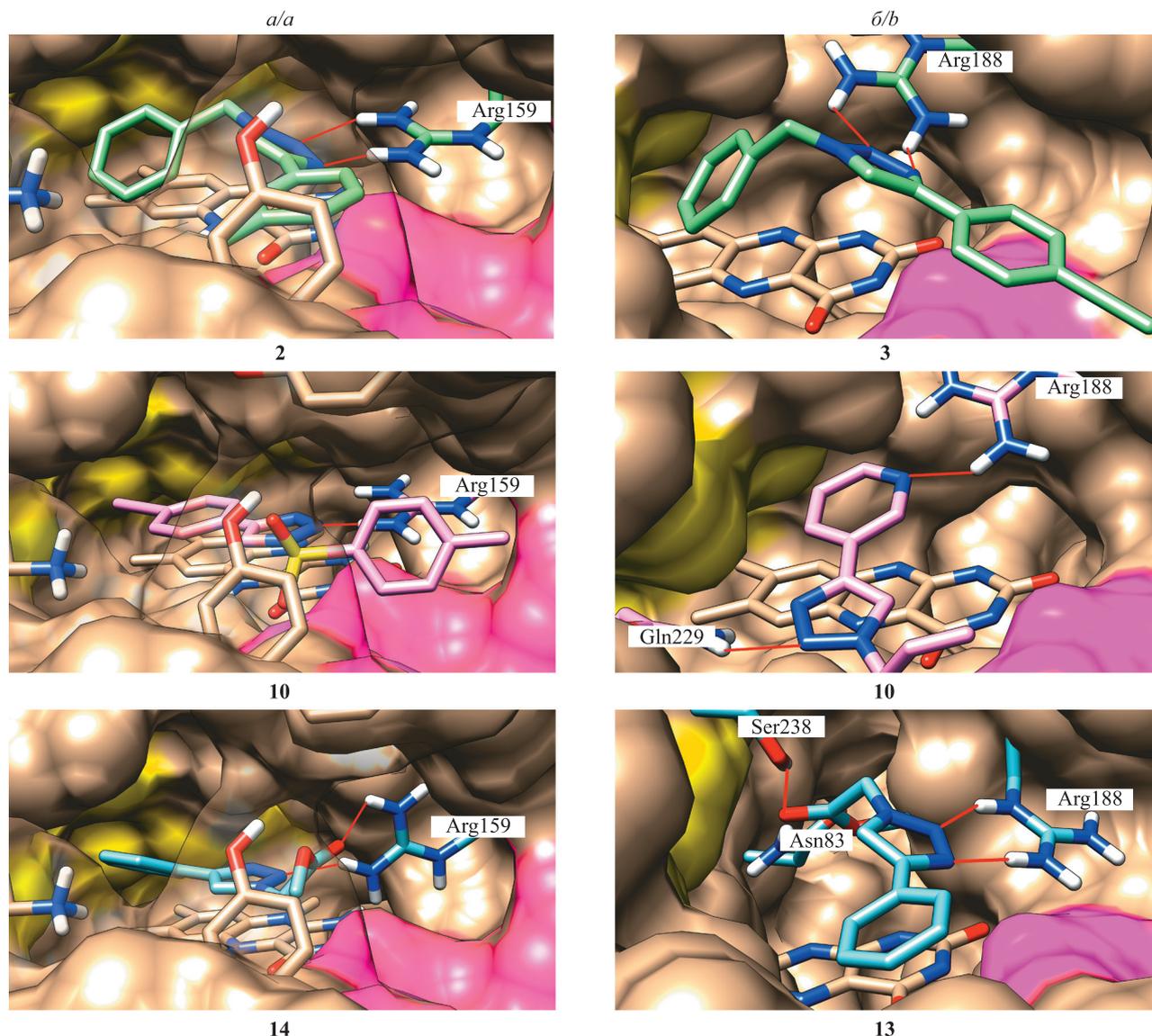


Рис. 8. Полученные в результате докинга конформации соединений **2**, **10**, **14** в активном центре белка **A** (а) и соединений **3**, **10**, **13** в активном центре белка **B** (б). Водородные связи изображены линиями красного цвета

Fig. 8. Active site conformations of **2**, **10**, **14** in protein **A** (a) and **3**, **10**, **13** in protein **B** (b). Hydrogen bonds are shown as red lines

Ввиду высокой липофильности заместители в триазилах **1–17** располагаются преимущественно в гидрофобных частях активного центра белка **A**: небольшие занимают область β -поворота, а большие – область ФАД. Следует отметить, что для соединений **3**, **10**, **12** и **16** наблюдается максимальная энергия взаимодействия с белком **A**, вероятно, в связи с реализацией наиболее эффективных гидрофобных взаимодействий между *para*-этинилфенильным заместителем и соответствующим ему по геометрическим характеристикам углублением в области ФАД.

Расположение 1,4,5-замещенных 1*H*-1,2,3-триазолов **6** и **7** в активном центре белка **A** отличается от расположения 1,4-дизамещенных производных 1,2,3-триазила. Данные соединения образуют водородные связи между триазольным циклом и остатками Lys217 и Gln288. Заместители в положениях 1 и 4 триазольного цикла занимают липофильную область, образованную Tyr125, Tyr190 и Tyr254, в то время как заместитель в положении 5 располагается в области β -поворота. В силу конформаций, полученных в результате докинга, 1,4,5-тризамещенные 1*H*-1,2,3-триазолы имеют отличающуюся от 1,4-дизамещенных производных связь *структура – действие* ввиду различного положения данных соединений в активном центре белка.

Анализ взаимодействия триазолов 1–17 с белком B. Как и в случае белка **A**, для белка **B** также проводился анализ структур лиганд-белковых комплексов с соединениями **1–17** (табл. 2). Активные центры белков **A** и **B** обладают рядом различий, что, вероятно, является причиной неодинаковой

активности указанных соединений по отношению к включенным в исследование микроорганизмам. Так, наибольшее влияние на способ связывания триазолов белком **B** оказывает наличие в его структуре остатка Phe274. Данный аминокислотный остаток закрывает значительную часть области ФАД. Таким образом, область β -поворота становится самой большой областью активного центра, способной связывать липофильные заместители триазольного цикла, в то время как размеры оставшейся открытой области ФАД не позволяют эффективно связываться с небольшими по размеру липофильными заместителями.

Таблица 2

Анализ межмолекулярных взаимодействий между триазолами 1–17 и белком **B**

Table 2

Analysis of intermolecular interactions between triazoles 1–17 and protein **B**

Вещество	Количество водородных связей с остатком Arg188*	Количество других водородных связей	Расположение заместителя в положении 1 триазольного цикла	Расположение заместителя в положении 4 триазольного цикла
1	1: N2, 1: N3	–	Область ФАД	Область β -поворота
2		–	Область β -поворота	Область ФАД
3		–	Область ФАД	Область β -поворота
4	1: Py	1: N2—Gln229	Рядом с областью β -поворота	Рядом с Arg188
5	1: N2	1: NH ₂ —Gln229	Область β -поворота	
6	–	1: N2—Gln229	Заместитель в положении 1 – в открытой области, 4 – в области ФАД, 5 – в области β -поворота	
7	–	1: N2—Gln288		
8	1: N3	1: SO ₂ —Ser229	Область ФАД	Область β -поворота
9		1: SO ₂ —Ser229		
10		1: SO ₂ —Ser229		
11		–		
12	1: N2, 1: N3	–		
13	1: Py	1: N2—Gln229	Рядом с областью β -поворота	Рядом с Arg188
14	1: N2, 1: N3	1: CH ₂ CO ₂ Me—Ser238	Рядом с Arg188	Рядом с областью β -поворота
15	1: N2	1: CH ₂ CO ₂ Me—Asn83		
16	1: N2, 1: N3	1: CH ₂ CO ₂ Me—Asn83		
17	1: CH ₂ CO ₂ Me	1: CH ₂ CO ₂ Me—Asn83, 1: N2—Gln229		

*Кроме количества водородных связей показаны группы атомов, участвующие в их образовании (N2 и N3 обозначают соответствующие атомы триазольного цикла).

Аналогично белку **A** основным способом взаимодействия триазолов 1–17 с активным центром белка **B** является образование водородных связей между атомами азота триазольного цикла N2 и N3 и аминокислотного остатка Arg188 (аналог остатка Arg159 белка **A**). Вещества 8–10 и 14–17 способны реализовывать дополнительные водородные связи с остатком Arg188 (см. рис. 8). Метилацетильная группа веществ 14–17 и тозилная группа веществ 8–10 образуют водородные связи с остатками Ser238 и Asn83, которые располагаются рядом с областью ФАД. Способ связывания триазолов 4, 13 и 17 с активным центром белка **B** отличается от такового остальных исследованных триазолов, вероятно, ввиду наличия в положении 4 триазольного цикла полярного пиридинового заместителя, дестабилизирующего липофильные взаимодействия с областью β -поворота. Для уменьшения числа невыгодных взаимодействий соединения 4, 13 и 17 принимают конформации, в которых пиридиновый заместитель образует водородные связи с Arg188, в то время как атом N2 триазольного цикла образует водородную связь с Gln223 (см. рис. 8).

Конформации веществ 6 и 7 в белке **B** аналогичны конформациям данных соединений в структуре белка **A**. Так как в белке **B** отсутствуют петли, несущие аминокислотные остатки Tyr190 и Tyr254,

образующие липофильную область для связывания данных веществ, они принимают конформации, в которых липофильные заместители в положениях 1, 4 и 5 триазольного цикла располагаются близко к поверхности активного центра белка, минимизируя контакты с полярной средой. Соединения **6** и **7** образуют водородные связи с остатком Gln229.

Корреляционный анализ расчетных и экспериментальных данных

В целях подтверждения полученной в результате докинга модели связывания исследованных веществ с белками MtrV был проведен корреляционный анализ с использованием значений диаметров зон угнетения роста тест-микроорганизмов (*E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 6538). Учитывая структурную схожесть всех исследованных триазолов, можно было предполагать их одинаковое поведение в процессе диффузии в агар, что позволяет сравнивать значения диаметра зон ингибирования роста для различных соединений. Концентрация растворов, используемых при проведении исследования активности данных соединений, равная 1 мг/мл, была пересчитана с учетом молярной массы и выражена в миллимолях на литр (табл. 3).

Таблица 3

Результаты исследования антибактериальной активности соединений 1–17

Table 3

Results of study of antibacterial action of compounds 1–17

Вещество	Диаметр зоны угнетения роста, мм*		Концентрация исследуемого раствора, ммоль/л	Удельная активность вещества по отношению к микроорганизму, мм · л/ммоль		Модуль энергии связывания веществ белком, ккал/моль	
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 6538		<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	А	В
1	15,8 ± 0,3	15,5 ± 0,5	4,250	3,718	3,647	7,09	8,02
2	17,8 ± 0,3	17,3 ± 0,3	4,011	4,438	4,313	7,50	8,64
3	15,5 ± 0,1	14,8 ± 0,3	3,856	4,019	3,838	6,49	7,22
4	16,3 ± 0,3	15,2 ± 0,3	4,232	3,851	3,591	7,07	8,29
5	14,5 ± 0,3	15,5 ± 0,3	3,995	3,630	3,880	7,08	7,67
6**	16,2 ± 0,3	15,7 ± 0,3	2,982	5,433	5,266	8,39	8,37
7**	18,7 ± 0,3	17,7 ± 0,3	2,751	6,797	6,433	8,97	9,21
8	18,3 ± 0,3	17,2 ± 0,3	3,341	5,478	5,149	10,41	8,87
9	18,0 ± 0,1	17,0 ± 0,1	3,191	5,641	5,327	9,29	10,22
10	18,3 ± 0,3	18,0 ± 0,1	3,092	5,918	5,821	10,17	9,45
11	16,3 ± 0,3	16,8 ± 0,3	5,389	3,019	3,112	6,27	6,62
12	18,5 ± 0,1	18,8 ± 0,3	4,779	3,871	3,934	6,80	6,73
13	15,5 ± 0,1	16,0 ± 0,1	5,370	2,886	2,980	6,37	7,06
14	16,3 ± 0,3	16,0 ± 0,1	4,604	3,541	3,476	6,66	8,16
15	16,5 ± 0,1	16,2 ± 0,3	4,324	3,816	3,746	7,92	7,83
16	15,5 ± 0,1	14,8 ± 0,3	4,145	3,739	3,570	7,47	7,28
17	14,8 ± 0,3	14,5 ± 0,1	4,583	3,230	3,164	6,51	7,51

*Количество независимых экспериментов равно 3. **Вещества, исключенные из корреляционного анализа.

Удельная активность А соединений 1–17 по отношению к микроорганизмам *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 6538 рассчитывалась согласно формуле (см. табл. 3)

$$A = \frac{d}{C},$$

где *d* – диаметр зоны угнетения роста микроорганизмов, мм; *C* – концентрация тестируемого вещества, ммоль/л.

Для полученных значений удельной активности был проведен линейный корреляционный анализ со значениями модуля энергии связывания исследуемых соединений с белком MurB соответствующего организма (рис. 9).

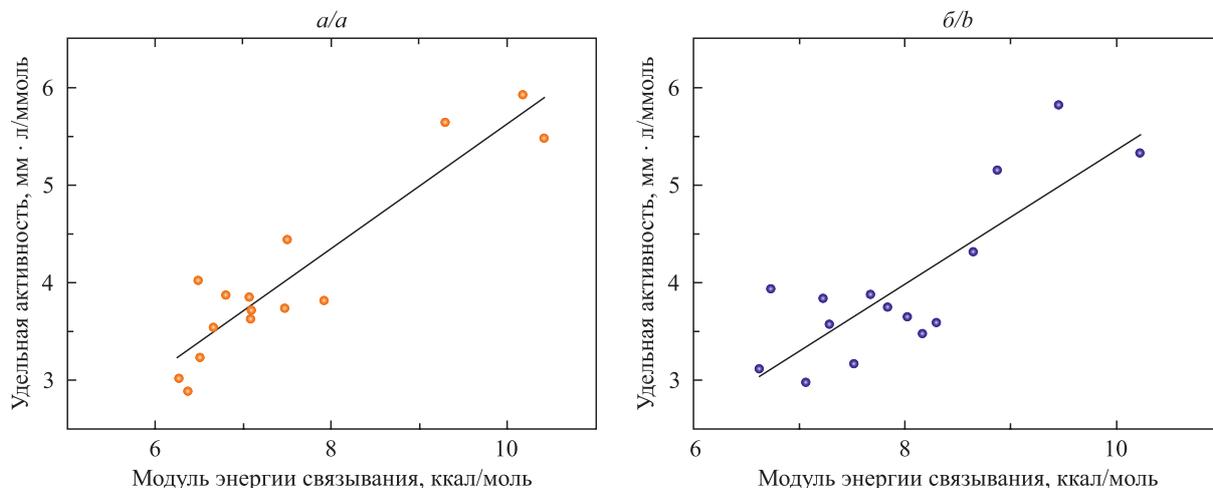


Рис. 9. Корреляция модуля энергии связывания и удельной активности соединений 1–5, 8–17 по отношению к *E. coli* ATCC 25922 (а) и *S. aureus* ATCC 6538 (б)

Fig. 9. Binding energy – specific activity correlation plots of tested compounds 1–5, 8–17 with respect *E. coli* ATCC 25922 (a) and *S. aureus* ATCC 6538 (b)

Линейная корреляция позволила получить следующие уравнения связи:

$$A_{E. coli} = 0,639 |\Delta G_A| - 0,766, R^2 = 0,862;$$

$$A_{S. aureus} = 0,687 |\Delta G_B| - 1,51, R^2 = 0,680,$$

где $A_{E. coli}$, $A_{S. aureus}$ – удельная активность соединений по отношению к *E. coli* и *S. aureus* соответственно; G_A , G_B – модуль энергии связывания для белков А и В соответственно.

Значение коэффициента линейной аппроксимации (R^2) выше 0,6 является показателем хорошей корреляции между массивами данных типа *структура – действие*, полученных в результате молекулярного моделирования биологических систем [33]. Поскольку для найденных зависимостей коэффициент линейной аппроксимации превышает 0,6, описательная способность предложенного механизма активности 1,4-дизамещенных 1*H*-1,2,3-триазолов может считаться удовлетворительной для прогнозирования антимикробной активности новых 1,4-дизамещенных 1*H*-1,2,3-триазолов.

Заключение

На основании анализа литературных данных о современных противомикробных препаратах и механизмах их биологической активности выделена предположительная мишень действия 1,4-ди- и 1,4,5-тризамещенных 1*H*-1,2,3-триазолов – белок уридиндифосфат-N-ацетиленолпирувилглюкозамин редуктаза (MurB). Исходя из полученных в результате докинга конформаций представительного ряда 1,4-ди- и 1,4,5-тризамещенных 1*H*-1,2,3-триазолов в активных центрах белка MurB микроорганизмов *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 6538, установлены белок-субстратные взаимодействия, определяющие антибактериальную активность замещенных 1*H*-1,2,3-триазолов. В частности, с увеличением размеров липофильных заместителей в триазольном цикле значение рассчитанной активности возрастает, что соответствует данным, полученным *in vitro*.

Рассчитанные значения энергий связывания для изученных 1,4-дизамещенных 1*H*-1,2,3-триазолов хорошо коррелируют с их экспериментально определенной антибактериальной активностью, что позволяет использовать установленные особенности соответствующих белок-субстратных взаимодействий для целенаправленного дизайна новых эффективных антибактериальных препаратов на основе 1*H*-1,2,3-триазолов.

Библиографические ссылки

1. Fonkwo PN. Pricing infectious disease. The economic and health implications of infectious diseases. *EMBO Reports*. 2008; 9(S1):S13–S17. DOI: 10.1038/embor.2008.110.
2. Kapiriri L, Ross A. The politics of disease epidemics: a comparative analysis of the SARS, zika, and ebola outbreaks. *Global Social Welfare*. 2020;7(1):33–45. DOI: 10.1007/s40609-018-0123-y.

3. Uchil RR, Kohli GS, Katekhaye VM, Swami OC. Strategies to combat antimicrobial resistance. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2014;8(7):ME01–ME04. DOI: 10.7860/JCDR/2014/8925.4529.
4. Caron WP, Mousa ASH. Prevention strategies for antimicrobial resistance: a systematic review of the literature. *Infection and Drug Resistance*. 2010;3:25–33. DOI: 10.2147/idr.s10018.
5. Kolb HC, Finn MG, Sharpless KB. Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. *Angewandte Chemie International Edition*. 2001;40(11):2004–2021. DOI: 10.1002/1521-3773(20010601)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.0.CO;2-5.
6. Xiangyi Jiang, Xia Hao, Lanlan Jing, Gaochan Wu, Dongwei Kang, Xinyong Liu, Peng Zhan. Recent applications of click chemistry in drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2019;14(8):779–789. DOI: 10.1080/17460441.2019.1614910.
7. Tornøe ChW, Christensen C, Meldal M. Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-triazoles by regioselective copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *Journal of Organic Chemistry*. 2002;67(9):3057–3064. DOI: 10.1021/jo011148j.
8. Bonandi E, Christodoulou MS, Fumagalli G, Perdicchia D, Rastelli G, Passarella D. The 1,2,3-triazole ring as a bioisostere in medicinal chemistry. *Drug Discovery Today*. 2017;22(10):1572–1581. DOI: 10.1016/j.drudis.2017.05.014.
9. Lopez-Rojas P, Janeczko M, Kubiński K, Amesty Á, Maslyk M, Estévez-Braun A. Synthesis and antimicrobial activity of 4-substituted 1,2,3-triazole-coumarin derivatives. *Molecules*. 2018;23(1):199–217. DOI: 10.3390/molecules23010199.
10. Sumangala V, Poojary B, Chidananda N, Fernandes J, Kumari NS. Synthesis and antimicrobial activity of 1,2,3-triazoles containing quinoline moiety. *Archives of Pharmacal Research*. 2010;33(12):1911–1918. DOI: 10.1007/s12272010-1204-3.
11. Shaikh MH, Subhedar DD, Shingate BB, Kalam Khan FA, Sangshetti JN, Khedkar VM, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular docking of novel coumarin incorporated triazoles as antitubercular, antioxidant and antimicrobial agents. *Medicinal Chemistry Research*. 2016;25(4):790–804. DOI: 10.1007/s00044-016-1519-9.
12. Ghiano DG, de la Iglesia A, Liu N, Tonge PJ, Morbidoni HR, Labadie GR. Antitubercular activity of 1,2,3-triazolyl fatty acid derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;125:842–852. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.09.086.
13. Krajczyk A, Kulinska K, Kulinski T, Hurst BL, Day CW, Smee DF, et al. Antivirally active ribavirin analogues – 4,5-disubstituted 1,2,3-triazole nucleosides: biological evaluation against certain respiratory viruses and computational modeling. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*. 2014;23(4):161–171. DOI: 10.3851/IMP2564.
14. de Lourdes G, Ferreira M, Pinheiro LCS, Santos-Filho OA, Peçanha MDS, Sacramento CQ, Machado V, et al. Design, synthesis, and antiviral activity of new 1*H*-1,2,3-triazole nucleoside ribavirin analogs. *Medicinal Chemistry Research*. 2014;23(3):1501–1511. DOI: 10.1007/s00044-013-0762-6.
15. Micetich RG, Maiti SN, Spevak P, Hall TW, Yamabe Sh, Ishida N, et al. Synthesis and β -lactamase inhibitory properties of 2 β -[(1,2,3-triazol-1-yl)methyl]-2 α -methylpenam-3 α -carboxylic acid 1,1-dioxide and related triazolyl derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1987;30(8):1469–1474. DOI: 10.1021/jm00391a032.
16. Im Ch, Maiti SN, Micetich RG, Daneshxalab M, Atchison K, Phillips OA, Kunugita Ch. Synthesis and β -lactamase inhibitory activity of 6-[(1-heteroarylthioethyl-1,2,3-triazol-4-yl)-methylene]penam sulfones. *Journal of Antibiotics*. 1994;47(9):1030–1040. DOI: 10.7164/antibiotics.47.1030.
17. Aufort M, Herscovici J, Bouhours P, Moreau N, Girard C. Synthesis and antibiotic activity of a small molecules library of 1,2,3-triazole derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2007;18(3):1195–1198. DOI: 10.1016/j.bmcl.2007.11.111.
18. Costa MS, Boechat N, Rangel EA, da Silva Fde C, de Souza AM, Rodrigues CR, et al. Synthesis, tuberculosis inhibitory activity, and SAR study of *N*-substituted-phenyl-1,2,3-triazole derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2006;14(24):8644–8653. DOI: 10.1016/j.bmc.2006.08.019.
19. Gallardo H, Conte G, Bryk F, Lourenço MCS, Costa MS, Ferreira VF. Synthesis and evaluation of 1-alkyl-4-phenyl-[1,2,3]-triazole derivatives as antimycobacterial agent. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2007;18(6):1285–1291. DOI: 10.1590/S0103-50532007000600027.
20. Bakunov SA, Bakunova SM, Wenzler T, Ghebru M, Werbovets KA, Brun R, Tidwell RR. Synthesis and antiprotozoal activity of cationic 1,4-diphenyl-1*H*-1,2,3-triazoles. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2010;53(1):254–272. DOI: 10.1021/jm901178d.
21. Зураев АВ, Лишай АВ, Григорьев ЮВ, Ивашкевич ОА. Синтез и антибактериальная активность некоторых 1,4- и 1,4,5-замещенных 1*H*-1,2,3-триазолов по отношению к штамму *Staphylococcus aureus*. *Доклады Национальной академии наук Беларуси*. 2018;62(3):293–297. DOI: 10.29235/1561-8323-2018-62-3-293-297.
22. Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW. GenBank. *Nucleic Acids Research*. 2016;44(D1):D67–D72. DOI: 10.1093/nar/gkv1276.
23. Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, Studer G, Tauriello G, Gumienny R, et al. SWISS-MODEL: homology modeling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*. 2018;46(W1):W296–W303. DOI: 10.1093/nar/gky427.
24. Becke AD. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *Journal of Chemical Physics*. 1993;98(7):5648–5652. DOI: 10.1063/1.464913.
25. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, et al. Gaussian 09, revision D01, 2012; Gaussian, Inc. Wallingford, USA, 2009.
26. Halgren TA. Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. *Journal of Computational Chemistry*. 1996;17(5–6):490–519. DOI: 10.1002/(SICI)1096-987X(199604)17:5/6<490::AID-JCC1>3.0.CO;2-P.
27. Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, Olson AJ. AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*. 2009;30(16):2785–2791. DOI: 10.1002/jcc.21256.
28. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin ThE. UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*. 2004;25(13):1605–1612. DOI: 10.1002/jcc.20084.
29. Kotnik M, Anderlüh PS, Prezelj A. Development of novel inhibitors targeting intracellular steps of peptidoglycan biosynthesis. *Current Pharmaceutical Design*. 2007;13(22):2283–2309. DOI: 10.2174/138161207781368828.
30. Hrast M, Sosič I, Šink R, Gobec S. Inhibitors of the peptidoglycan biosynthesis enzymes MurA–F. *Bioorganic Chemistry*. 2014;55:2–15. DOI: 10.1016/j.bioorg.2014.03.008.
31. Yang Y, Severin A, Chopra R, Krishnamurthy G, Singh G, Hu W, et al. 3,5-Dioxypyrazolidines, novel inhibitors of UDP-*N*-acetylenolpyruvylglucosamine reductase (MurB) with activity against gram-positive bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2006;50(2):556–564. DOI: 10.1128/AAC.50.2.556-564.2006.

32. Lalthruaitluanga J, Pachuau Z. Gas phase computational studies of C-substituted tetrazoles. *IOSR Journal of Applied Chemistry*. 2015;8(2):63–76. DOI: 10.9790/5736-08226376.
33. Alexander DLJ, Tropsha A, Winkler DA. Beware of R^2 : simple, unambiguous assessment of the prediction accuracy of QSAR and QSPR models. *Journal of Chemical Information Modeling*. 2015;55(7):1316–1322. DOI: 10.1021/acs.jcim.5b00206.

References

1. Fonkwo PN. Pricing infectious disease. The economic and health implications of infectious diseases. *EMBO Reports*. 2008;9(S1):S13–S17. DOI: 10.1038/embor.2008.110.
2. Kapiriri L, Ross A. The politics of disease epidemics: a comparative analysis of the SARS, zika, and ebola outbreaks. *Global Social Welfare*. 2020;7(1):33–45. DOI: 10.1007/s40609-018-0123-y.
3. Uchil RR, Kohli GS, Katekhaye VM, Swami OC. Strategies to combat antimicrobial resistance. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2014;8(7):ME01–ME04. DOI: 10.7860/JCDR/2014/8925.4529.
4. Caron WP, Mousa ASH. Prevention strategies for antimicrobial resistance: a systematic review of the literature. *Infection and Drug Resistance*. 2010;3:25–33. DOI: 10.2147/idr.s10018.
5. Kolb HC, Finn MG, Sharpless KB. Click chemistry: diverse chemical function from a few good reactions. *Angewandte Chemie International Edition*. 2001;40(11):2004–2021. DOI: 10.1002/1521-3773(20010601)40:11<2004::AID-ANIE2004>3.0.CO;2-5.
6. Xiangyi Jiang, Xia Hao, Lanlan Jing, Gaochan Wu, Dongwei Kang, Xinyong Liu, Peng Zhan. Recent applications of click chemistry in drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2019;14(8):779–789. DOI: 10.1080/17460441.2019.1614910.
7. Tornøe ChW, Christensen C, Meldal M. Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-triazoles by regioselective copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *Journal of Organic Chemistry*. 2002;67(9):3057–3064. DOI: 10.1021/jo011148j.
8. Bonandi E, Christodoulou MS, Fumagalli G, Perdicchia D, Rastelli G, Passarella D. The 1,2,3-triazole ring as a bioisostere in medicinal chemistry. *Drug Discovery Today*. 2017;22(10):1572–1581. DOI: 10.1016/j.drudis.2017.05.014.
9. Lopez-Rojas P, Janeczko M, Kubiński K, Amesty Á, Maslyk M, Estévez-Braun A. Synthesis and antimicrobial activity of 4-substituted 1,2,3-triazole-coumarin derivatives. *Molecules*. 2018;23(1):199–217. DOI: 10.3390/molecules23010199.
10. Sumangala V, Poojary B, Chidananda N, Fernandes J, Kumari NS. Synthesis and antimicrobial activity of 1,2,3-triazoles containing quinoline moiety. *Archives of Pharmacological Research*. 2010;33(12):1911–1918. DOI: 10.1007/s12272010-1204-3.
11. Shaikh MH, Subhedar DD, Shingate BB, Kalam Khan FA, Sangshetti JN, Khedkar VM, et al. Synthesis, biological evaluation and molecular docking of novel coumarin incorporated triazoles as antitubercular, antioxidant and antimicrobial agents. *Medicinal Chemistry Research*. 2016;25(4):790–804. DOI: 10.1007/s00044-016-1519-9.
12. Ghiano DG, de la Iglesia A, Liu N, Tonge PJ, Morbidoni HR, Labadie GR. Antitubercular activity of 1,2,3-triazolyl fatty acid derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017;125:842–852. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.09.086.
13. Krajczyk A, Kulinska K, Kulinski T, Hurst BL, Day CW, Smee DF, et al. Antivirally active ribavirin analogues – 4,5-disubstituted 1,2,3-triazole nucleosides: biological evaluation against certain respiratory viruses and computational modeling. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*. 2014;23(4):161–171. DOI: 10.3851/IMP2564.
14. de Lourdes G, Ferreira M, Pinheiro LCS, Santos-Filho OA, Peçanha MDS, Sacramento CQ, Machado V, et al. Design, synthesis, and antiviral activity of new 1*H*-1,2,3-triazole nucleoside ribavirin analogs. *Medicinal Chemistry Research*. 2014;23(3):1501–1511. DOI: 10.1007/s00044-013-0762-6.
15. Micetich RG, Maiti SN, Spevak P, Hall TW, Yamabe Sh, Ishida N, et al. Synthesis and 6-lactamase inhibitory properties of 2β-[(1,2,3-triazol-1-yl)methyl]-2α-methylpenam-3α-carboxylic acid 1,1-dioxide and related triazolyl derivatives. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1987;30(8):1469–1474. DOI: 10.1021/jm00391a032.
16. Im Ch, Maiti SN, Micetich RG, Daneshxalab M, Atchison K, Phillips OA, Kunugita Ch. Synthesis and β-lactamase inhibitory activity of 6-[(1-heteroarylthioethyl-1,2,3-triazol-4-yl)-methylene]penam sulfones. *Journal of Antibiotics*. 1994;47(9):1030–1040. DOI: 10.7164/antibiotics.47.1030.
17. Aufort M, Herscovici J, Bouhours P, Moreau N, Girard C. Synthesis and antibiotic activity of a small molecules library of 1,2,3-triazole derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2007;18(3):1195–1198. DOI: 10.1016/j.bmcl.2007.11.111.
18. Costa MS, Boechat N, Rangel EA, da Silva Fde C, de Souza AM, Rodrigues CR, et al. Synthesis, tuberculosis inhibitory activity, and SAR study of N-substituted-phenyl-1,2,3-triazole derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2006;14(24):8644–8653. DOI: 10.1016/j.bmc.2006.08.019.
19. Gallardo H, Conte G, Bryk F, Lourenço MCS, Costa MS, Ferreira VF. Synthesis and evaluation of 1-alkyl-4-phenyl-[1,2,3]-triazole derivatives as antimycobacterial agent. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2007;18(6):1285–1291. DOI: 10.1590/S0103-50532007000600027.
20. Bakunov SA, Bakunova SM, Wenzler T, Ghebru M, Werbovets KA, Brun R, Tidwell RR. Synthesis and antiprotozoal activity of cationic 1,4-diphenyl-1*H*-1,2,3-triazoles. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2010;53(1):254–272. DOI: 10.1021/jm901178d.
21. Zuraev AV, Lishai AV, Grigoriev YuV, Ivashkevich OA. Synthesis and antibacterial activity of some 1,4- and 1,4,5-substituted-1*H*-1,2,3-triazoles in relation to the *Staphylococcus aureus* strain. *Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*. 2018;62(3):293–297. Russian. DOI: 10.29235/1561-8323-2018-62-3-293-297.
22. Clark K, Karsch-Mizrachi I, Lipman DJ, Ostell J, Sayers EW. GenBank. *Nucleic Acids Research*. 2016;44(D1):D67–D72. DOI: 10.1093/nar/gkv1276.
23. Waterhouse A, Bertoni M, Bienert S, Studer G, Tauriello G, Gumienny R, et al. SWISS-MODEL: homology modeling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*. 2018;46(W1):W296–W303. DOI: 10.1093/nar/gky427.
24. Becke AD. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *Journal of Chemical Physics*. 1993;98(7):5648–5652. DOI: 10.1063/1.464913.
25. Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, et al. Gaussian 09, revision D01, 2012; Gaussian, Inc. Wallingford, USA, 2009.
26. Halgren TA. Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. *Journal of Computational Chemistry*. 1996;17(5–6):490–519. DOI: 10.1002/(SICI)1096-987X(199604)17:5/6<490::AID-JCC1>3.0.CO;2-P.

27. Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, Olson AJ. AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*. 2009;30(16):2785–2791. DOI: 10.1002/jcc.21256.
28. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin ThE. UCSF Chimera – a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*. 2004;25(13):1605–1612. DOI: 10.1002/jcc.20084.
29. Kotnik M, Anderluh PS, Prezelj A. Development of novel inhibitors targeting intracellular steps of peptidoglycan biosynthesis. *Current Pharmaceutical Design*. 2007;13(22):2283–2309. DOI: 10.2174/138161207781368828.
30. Hrast M, Sosič I, Šink R, Gobec S. Inhibitors of the peptidoglycan biosynthesis enzymes MurA-F. *Bioorganic Chemistry*. 2014;55:2–15. DOI: 10.1016/j.bioorg.2014.03.008.
31. Yang Y, Severin A, Chopra R, Krishnamurthy G, Singh G, Hu W, et al. 3,5-Dioxypyrazolidines, novel inhibitors of UDP-N-acetylenolpyruvylglucosamine reductase (MurB) with activity against gram-positive bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2006;50(2):556–564. DOI: 10.1128/AAC.50.2.556-564.2006.
32. Lalhrualtuanga J, Pachau Z. Gas phase computational studies of C-substituted tetrazoles. *IOSR Journal of Applied Chemistry*. 2015;8(2):63–76. DOI: 10.9790/5736-08226376.
33. Alexander DLJ, Tropsha A, Winkler DA. Beware of R^2 : simple, unambiguous assessment of the prediction accuracy of QSAR and QSPR models. *Journal of Chemical Information Modeling*. 2015;55(7):1316–1322. DOI: 10.1021/acs.jcim.5b00206.

Статья поступила в редакцию 06.11.2019.
Received by editorial board 06.11.2019.