

Л. С. Бобкова, Т. А. Бухтіарова, О. В. Середенко, О. Є. Ядловський

Порівняльний аналіз особливостей протеїн-лігандових взаємодій нестероїдних протизапальних препаратів як інгібіторів циклооксигенази

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ

*Ключові слова: НПЗП, протеїн-лігандові
взаємодії, інгібітори циклооксигенази*

Натепер традиційні нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) і селективні інгібітори циклооксигенази-2 – коксиби (COXIBs) залишаються найчастіше уживаними та клінічно значущими лікарськими засобами (ЛЗ) для лікування запальних захворювань і знеболення [1]. Проте за їхнього використання можуть виникати побічні реакції, зокрема ураження шлунково-кишкового тракту (ШКТ) [2]. Відомо, що більшість НПЗП зворотно пригнічують активність COX з різною селективністю щодо двох ізоформ. Згідно зі загальноприйнятою концепцією, системні побічні ефекти НПЗП є наслідком блокування активності COX-1, що призводить до зростання синтезу лейкотрієнів на фоні зниження синтезу простагландинів, які виконують захисну функцію щодо слизової оболонки шлунка. Тому селективне інгібування COX-2 розглядають як один з основних механізмів протизапальної активності НПЗП: у разі селективного інгібування COX-2 можливе значне зменшення проявів побічних реакцій, які мають місце за інгібування COX-1. Розробка коксибів частково вирішила проблему негативного впливу НПЗП на ШКТ, яка пов'язана з неселективним інгібуван-

ням COX [3]. Для селективних інгібіторів COX-2 також відомі побічні прояви, що пов'язані з ризиком кардіоваскулярних ускладнень, проте вони властиві не всьому класу коксибів. Теоретичною основою кардіоваскулярної безпеки інгібіторів COX-2 і неселективних НПЗП є гіпотеза про антагоністичну дію на тромбоцитарно-судинний гомеостаз двох продуктів COX – тромбоксану A₂ і простагландину I₂ (простацикліну), – можливого простациклін-тромбоксанового дисбалансу.

Сьогодні в усьому світі ведеться активний пошук шляхів потенціювання терапевтичних ефектів НПЗП (зокрема протизапального та знеболювального), а також підвищення їхньої безпечності.

Останніми десятиліттями зусилля деяких учених були спрямовані на розробку селективних інгібіторів COX-1, основою якого є припущення про недостатні знання біотрансформації COX-1 та її причетності до захворювань людини. Починаючи зі сполуки – лідера Р6 (3-(5-хлорфурфур-2-іл)-5-метил-4-фенілізоксазол), було отримано низку діарилгетероциклічних сполук з передбачуваною відсутністю токсичності для ШКТ [4]. Крім того, G. A. Singolani та співавт. вважали, що селективні НПЗП щодо COX є ще далеко не завершеною метою досліджень через подібність

між структурою активного сайту обох ізоформ, складну хімію взаємодії НПЗП у сайті зв'язування та можливість безпеки НПЗП нового покоління [4]. У цьому плані привертає увагу препарат Лікофелон – дуальний інгібітор COX/5-ЛОГ, який вивчали в клінічних випробуваннях для лікування остеоартрозу [5, 6]. Проте натепер препарат не набув очікуваної популярності через недостатньо вивчену побічну дію, хоча дуальний механізм його протизапальної дії передбачав мінімальні ризики розвитку її проявів [5].

Проблема негативного впливу НПЗП на ШКТ й інші органи та системи організму, зокрема на простациклін-тромбоксановий дисбаланс, мотивують доцільність спрямованого пошуку нових потенційних інгібіторів COX і є статистично надійною альтернативою для цілеспрямованого пошуку нових потенційних препаратів для регулювання болю та запалення [4, 7]. Сучасна концепція створення таргетних ЛЗ, включаючи *in silico* дослідження, зокрема молекулярний докінг, дозволяє визначати фармакологічний профіль відомих НПЗП (так зване *in silico* профілювання та перепрофілювання ЛЗ) і нових біологічно активних речовин (БАР), визначаючи пріоритетність при оцінюванні, зокрема для молекул «хіт-лідер», і вказуючи на покращення міжмолекулярну взаємодію з мішенню як об'єктивний параметр успішної оптимізації ліганду.

Мета дослідження – вивчення та порівняльний аналіз супрамолекулярних взаємодій НПЗП з ізоформами циклооксигенази.

Особливості міжмолекулярної взаємодії НПЗП є важливим елементом системи оцінки біологічних ефектів фізіологічно активних речовин у медичних технологіях спрямованого пошуку нових БАР.

Матеріали та методи. Дослідження особливостей комплексів відомих НПЗП та арахідонової кислоти (АК) з ізоформами COX були проведені за (PDB id, COX-1): ацетилсаліцилова кислота (1DIY); диклофенак (3N8y), алклофенак (1HT8), ібупрофен (1EQQ), флурбіпрофен (1CQE), саліцилгідроксамова кислота (1EBV), мелоксикам (4O1Z), німесулід (3N8X), целекоксиб (3KK6) [10]. А також (PDB id, COX-2): АК (3HS5); диклофенак (3LN1), ібупрофен (4PH9), флурбіпрофен (3RR3), мелоксикам (4M11), ізоксикам (4M10), напроксен (3NT1), целекоксиб (3LN1) [8]. Супрамолекулярні взаємодії НПЗП з ізоформами циклооксигенази виконували за кристалографічною та докінг формами.

Результати та їх обговорення. Для ефективного інгібування COX відзначимо кілька особливостей, які вважають важливими для протеїн-лігандової взаємодії НПЗП у активному сайті зв'язування. Відомо, що COX містять довгий гідрофобний канал (до 25 Å). Вхід цього каналу має звужену ділянку, утворену трьома важливими залишками *Arg120*, *Tyr355* і *Glu524*, через відкриття звуження забезпечується доступ субстратів або інгібіторів у гідрофобний канал. Зазвичай має місце взаємодія ліганду (за відповідних структурних особливостей молекули НПЗП та її орієнтації в активному сайті зв'язування) з амінокислотними залишками, які розташовані на вході до каналу – активного сайту зв'язування (*Arg120*, *Tyr355*). Тому є важливими водневі зв'язки з гідроксильною групою залишку *Tyr355* та з аміногрупою гуанідинового фрагменту залишку *Arg120*, зокрема за наявності карбоксилатної групи в структурі відомого чи потенційного НПЗП. Ці зв'язки, прив'язуючи певним чином ліганд, обмежують його селектив-

ність через зменшення свободи переміщення в каналі активного сайту [9]. Зазначимо, що такі водневі зв'язки зі залишками *Arg120* і *Tyr355* є характерними зв'язками для традиційних НПЗП як з COX-1, так і з COX-2 [9]. Іноді, якщо структура ліганду містить карбонільну групу, може мати місце її взаємодія через водневий зв'язок зі залишком серину *Ser530*. Так, карбонільна група сполуки (5-(((4-хлорфеніл)карбоніл)аміно)-1*H*-1,2,4-тріазол-3-іл) етилацетату (1) в сайті зв'язування COX-2 утворює водневий зв'язок з гідроксильною групою залишку *Ser530* на відстані 3,03 Å, а її карбоксилатний фрагмент зі залишками *Arg120* і *Tyr355* взаємодіє з утворенням водневих зв'язків на відстані 2,45 Å і 2,3 Å відповідно [10]. Загалом ароматичне кільце молекули НПЗП заповнює гідрофобну кишеню під каталітичним центром – залишком тирозину *Tyr385*, який розташований у верхній віддаленій частині кишені COX.

Так, вивчення центрів зв'язування активного сайту COX-1 з фторбіпрофеном та індометацином (PDB 1CQE, PDB 4COX) показало, що карбоксилатний фрагмент ліганду зв'язується водневими зв'язками з гідроксильною групою залишку *Tyr355* та з аміногрупою гуанідинового фрагменту залишку *Arg120*. На відміну від фторбіпрофену та індометацину карбоксилатний фрагмент диклофенаку (PDB

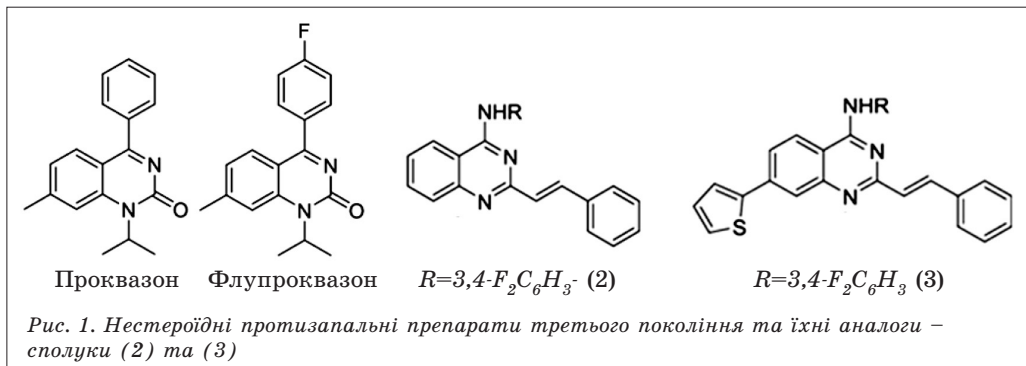
3N8Y) утворює водневий зв'язок з гідроксильною групою залишку *Ser530* ензиму COX-1, а з COX-2 (PDB1PXX) диклофенак взаємодіє в інвертованій формі щодо карбоксилатного фрагменту порівняно з іншими НПЗП, і його карбоксилатний фрагмент утворює водневий зв'язок зі залишками *Tyr385* і *Ser530* [4].

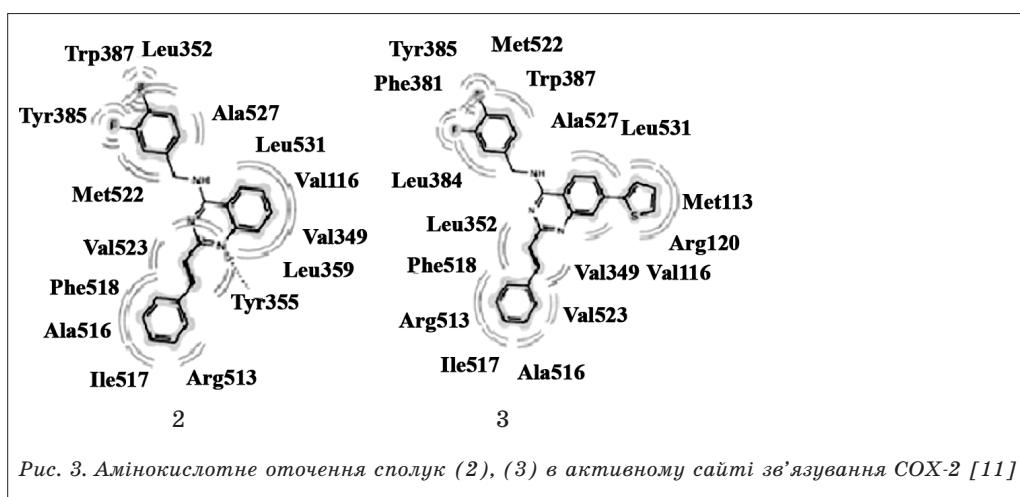
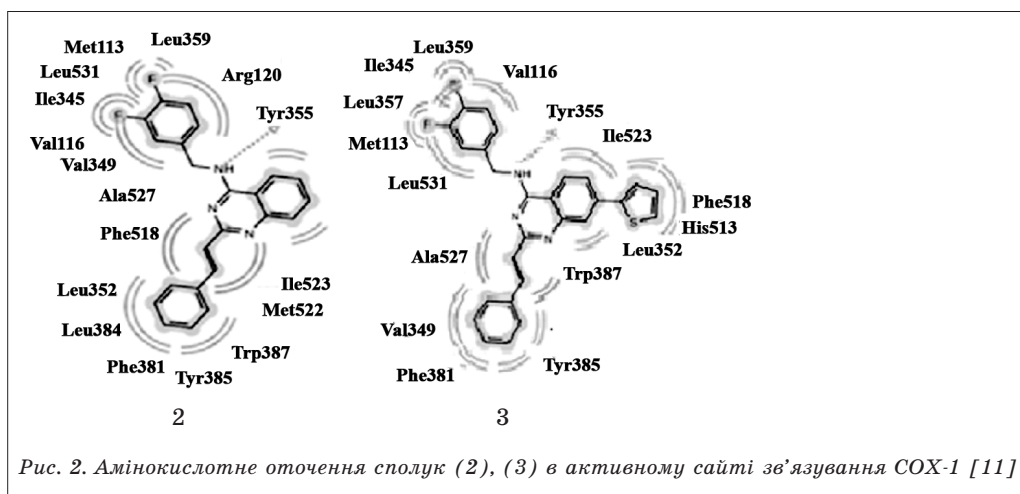
Селективному інгібітору COX-1 – мофезолаку та сполуці – лідеру Р6 (3-(5-хлорфуран-2-іл)-5-метил-4-феніл-ізоксазол), що отримана в результаті пошуку селективного інгібітора COX-1, властива також взаємодія карбоксильної групи та хлору відповідно зі залишками *Arg120* і *Tyr355* на вході в каталітичний центр [4].

Автори пояснюють особливість дії мофезолаку більш щільним приляганням замісників гетероциклу до сайту зв'язування COX-1 [4].

На рисунку 1 наведено структури відомих похідних хіназоліну – проквазону та флупроквазону як НПЗП третього покоління [11]. На прикладі сполук (2), (3) – потенційних НПЗП третього покоління, розглянемо особливості їхньої взаємодії з ізоформами циклооксигенази за результатами докінг-аналізу їхніх комплексів і визначимо їхні спільні риси та особливості (рис. 1) [11].

Сполука (2), об'єм молекули якої є меншим за об'єм молекули (3), проявила подвійну активність щодо COX-1 і COX-2. Молекула (3) – селективний





інгібітор COX-1, завдяки тіофеновому фрагменту в її структурі заповнює порожнину сайту, що веде до залишку *Phe518* та призводить до значної переваги інгібуючої активності щодо COX-1 (рис. 2, 3).

Характерною особливістю обох молекул (2, 3) є інвертована форма кожної з позицій в активному сайті COX-1 порівняно з відповідною позицією в COX-2, зокрема поруч зі залишком *Tyr385* фенілетеновий фрагмент в COX-1 змінюється на 3,4-дифторфенільний у COX-2 у позиціях обох молекул. Отже, сполука (2) зв'язується з COX-1 у такий самій орієнтації, що й сполука (3), утворюючи водневий зв'язок з *Tyr355*. Але

за відсутності тіофенового кільця, канал, що веде до залишку *Phe518*, є пустим, що призводить до зниження її інгібуючої активності щодо COX-1. У COX-2 молекула (2) також є перевернутою, але через менший її розмір піримідиновий фрагмент може взаємодіяти з *Tyr355*. Залишок *Arg513* активного сайту COX-2 знаходиться біля фенілетенового замісника піримідинового кільця обох сполук (2, 3).

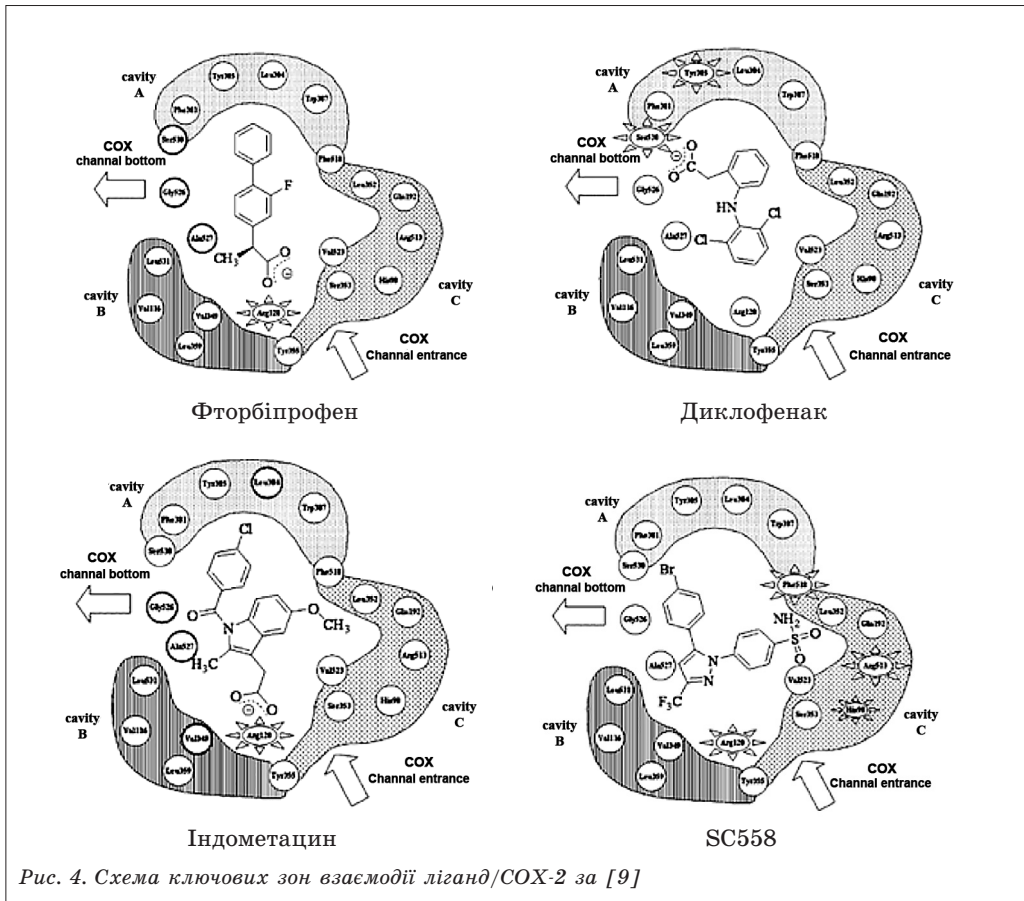
У роботі [12] зазначено, що молекула еторикоксибу (ЕТХ) взаємодіє з 19 амінокислотними залишками активного сайту зв'язування COX-2, більшість взаємодій є гідрофобними, та є лише один водневий зв'язок між воднем первинної аміногрупи бічного

ланцюга залишку *Arg513* та атомами кисню в сульфонільній групі ЕТХ. Проте атоми азоту піридинових фрагментів можуть утворювати сольовий місток з атомами кисню залишків *Ala527* і *Met522*, а між піридиновим циклом і пептидним зв'язком між залишками *Gly526* – *Ala527* також може відбуватися взаємодія [12].

У роботі [9] зазначено, що для зв'язування лігандів (флуорбіпрофену, індометацину, диклофенаку та SC558) з COX-2 ключовими є три зони активного сайту COX-2 (Cavity A, B, C). Зона А сформована амінокислотними залишками *Phe381*, *Tyr385*, *Leu384*, *Trp387* і *Phe518*, зона В – *Leu531*, *Val116*, *Val349*, *Leu359* і *Tyr355*, зона С – *Val523*, а також *Ser353* і *Tyr355* (рис. 4). За результатами дослідження виявлено, що для комплексів

неселективних інгібіторів з COX-2 характерними є позиції в зонах А та В, а для селективних – у всіх трьох зонах. Як вважають автори [9], результати докінгу молекул німесулід та рофекоксибу в COX-2 узгоджуються з цими висновками. Одним з ключових моментів ліганд-ферментної взаємодії для селективних інгібіторів COX-2 є позиція ліганду поруч зі залишком *Phe518* та взаємодія в окремій області зі залишком *Arg513* (зокрема для SC558) [9].

Враховуючи вищезазначене, в активному сайті зв'язування COX-1/2 можна виділити такі важливі зони: зона амінокислотних залишків, які контролюють вхід до каналу (*Arg120*, *Tyr355* і *Glu524*), зона каталітичного центру активного сайту зв'язування, який розташований у верхній віддаленій частині кишені COX (*Tyr385*), і зона



додаткової гідрофільної бокової кишені, яку характеризують амінокислотні залишки поряд з *Phe518* (*Phe518/ Ile523* (*Val523*). Доступу ліганду до цієї додаткової кишені в COX-1 перешкоджають об'ємні амінокислотні залишки *Ile523* і *Ile434*, які заміщені амінокислотами меншого об'єму в COX-2 (рис. 5).

Для інтерпретації результатів аналізу супрамолекулярних взаємодій НПЗП з ізоформами циклооксигенази будемо враховувати ці ключові моменти.

Дослідження особливостей комплексів відомих НПЗП та АК з ізоформами COX (COX-1 і COX-2). Дані про оточення лігандів амінокислотними залишками в сайтах зв'язування циклооксигенази (COX-1 і COX-2) наведено в таблицях 1, 2.

За порівняння оточення АК амінокислотними залишками в міжмолекулярних комплексах з COX-1 і COX-2 (1DIY і 3HS5 відповідно) встановлено, що в трьох зонах сайту зв'язування обох комплексів ліганду АК знаходяться такі спільні залишки, як *Arg120* (зона 1), *Leu381*, *Tyr385* і *Trp387* (зона 2), *Met522*, *Ile523*, *Gly526*, *Ala527* (зона 3). Такі самі залишки оточують молекулу мофезолаку в кишені COX-1 (проте до зони 2

замість *Leu381* входить *Leu384*). Аналогічно для комплексів мелоксикаму та ізоксикаму з COX-1 і з COX-2 отримано близький результат. Для ібупрофену, диклофенаку, флурбіпрофену (комплекси з COX-1 і з COX-2), німесуліді (з COX-1) і напроксену (з COX-2) у разі порівняння їхнього оточення в зазначених зонах також є характерні спільні залишки.

Міжмолекулярні комплекси традиційних НПЗП з COX-1 загалом характеризуються низкою спільних ознак – в оточенні лігандів спільні залишки: *Arg120*, *Val349*, *Leu352*, *Tyr355* у зоні 1, *Trp387* і здебільшого *Tyr385* у зоні 2, а також *Met522*, *Ile523* і *Gly526*, *Ala527*, *Leu531* у зоні 3 (табл. 1). Аналогічно традиційні НПЗП у комплексах з COX-2 оточені залишками: *Val116*, *Arg120*, *Leu352* (більшість) і *Val349*, *Leu359* у зоні 1, *Trp387* у зоні 2, *Ile523*, *Gly526*, *Ala527*, *Ser530*, *Leu531* у зоні 3 (табл. 2).

Проте для целекоксибу між його комплексами з COX-1 і з COX-2 у зазначених зонах є суттєві відмінності. Це пояснюється тим, що в активному сайті зв'язування COX-2 залишок ізолеїцину (*Ile523*) заміщений на залишок валіну (*Val523*). Така заміна призводить до збільшення ширини каналу та його більшої гнучкості,

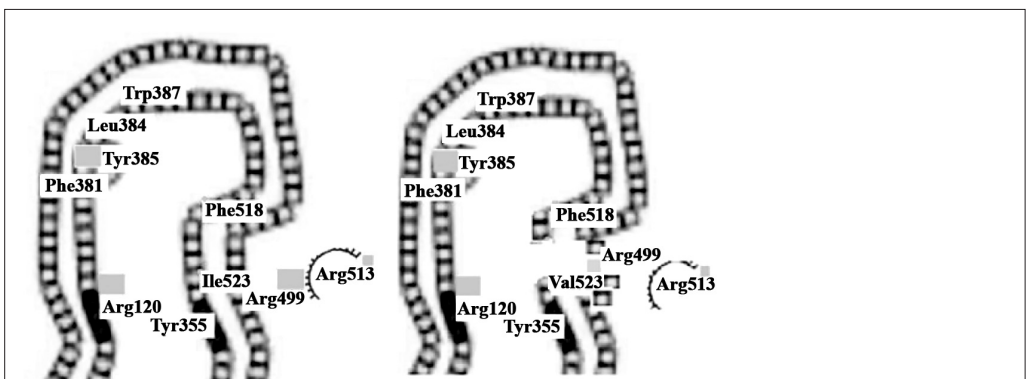


Рис. 5. Схема ключових зон взаємодії ліганд/COX

Примітка. *Arg120*, *Tyr355* – гідрофільна зона, що контролює вхід до кишені COX; *Tyr385* – зона каталітичного центру у віддаленій частині кишені; *Phe518/Ile523(Val523)* – зона гідрофобних взаємодій, що контролює вхід до зони специфічних взаємодій високоселективних інгібіторів COX-2 (закрита в COX-1 і відкрита в COX-2).

*Амінокислотне оточення лігандів (нестероїдних протизапальних препаратів)
у кишені COX-1*

Ліганд/ Мішень (pdb)	Амінокислотне оточення лігандів у кишені COX-1 у радіусі 4 Å				
	Зона 1		Зона 2	Зона 3	
	(Arg120)	(Tyr355)	(Tyr385)	(Ile523)	(Gly526– Ala527)
Саліцил-гідрокса- мова кислота/ COX-1 (1EBV)	Arg120	Val349, Leu352, Tyr355	Trp387	Met522, Ile523	Gly526, Ala527, Leu531
Ібупрофен/ COX-1 (1EQQ)	Val116, Arg120	Val349, Ser353, Tyr355, Leu359	Tyr385, Trp387	Met522, Ile523	–
Флурбіпрофен/ COX-1 (1CQE)	Val116, Arg120	Val349, Leu359, Tyr355	Tyr385, Trp387	Met522, Ile523	Gly526, Ala527, Ser530, Leu531
Диклофенак/ COX-1 (3N8y)	–	Tyr348, Val349, Leu352, Ser353, Tyr355	Tyr385, Trp387	Met522, Ile523	Gly526, Ala527, Ser530, Leu531
Алклофенак/ COX-1 (1HT8)	Val116, Arg120	Val349, Ser353, Tyr355, Leu359	Tyr385, Trp387	Phe518, Met522, Ile523	Gly526, Ala527, Ser530, Leu531
Мофезолак/ COX-1 (5WBE) (-8,3)	His90, Leu93, Val116, Arg120, Gln192	Val349, Leu352, Ser353, Tyr355, Leu359	Leu384, Tyr385, Trp387	Ser516, Ile517, Phe518, Met522, Ile523	Gly526, Ala527, Ser530, Leu531
Мелоксикам/ COX-1 (4O1Z)	Met113, Val116, Leu117, Arg120	Ile345, Val349, Leu352, Ser353, Tyr355, Leu359	Trp387	Ile517, Phe518, Met522, Ile523	Ser516, Gly526, Ala527, Ser530, Leu531, Leu534, Leu535
Німесулід/ COX-1 (3N8X)	His90, Arg120	Val349, Leu352, Ser353, Tyr355, Leu359	Tyr385, Trp387	Phe518, Met522, Ile523	Gly526, Ala527, Ser530, Leu531
Целекоксиб/ COX-1 (3KK6)	His90, Val116, Arg120, Gln192	Val349, Leu352, Ser353, Tyr355, Leu359	Phe381, Leu384, Tyr385, Trp387	Ser516, Ile517, Phe518, Met522, Ile523	Gly526, Ala527, Ser530, Leu531
<i>Спільні амінокислотні залишки в кишені COX-1 (в оточенні лігандів у радіусі 4 Å)</i>					
Нестероїдні протизапальні препарати/ COX-1	Arg120	Val349, Leu352, Tyr355	(Trp385), Trp387	Met522, Ile523	Gly526, Ala527, Leu531

*Амінокислотне оточення лігандів (нестероїдних протизапальних препаратів)
у кишені COX-2*

Ліганд/ Мішень (pdb)	Амінокислотне оточення лігандів у кишені COX-2 у радіусі 4 Å				
	Зона 1		Зона 2	Зона 3	
	(Arg120)	(Tyr355)	(Tyr385)	(Ile523)	(Gly526)
Ібупрофен/ COX-2 (4RN9)	Val116, Arg120	Val349, Tyr355, Leu359	Trp387	Met522, Ile523	Gly526, Ala527, Ser530, Leu531
Флурбіпрофен/ COX-2 (3RR3)	Val116, Arg120	Val349, Leu352, Tyr355, Leu359	Tyr385, Trp387	Ile523	Gly526, Ala527, Ser530, Leu531
Напроксен/ COX-2 (3NT1)	Val116, Arg120, Phe205	Val349, Leu352, Tyr355, Leu359	Tyr385, Trp387	Ile523	Gly526, Ala527, Ser530, Leu531
Диклофенак/ COX-2 (3LN1)	Phe205	Val344, Tyr348, Val349, Leu352, Ser353, Tyr355	Phe381, Leu384, Tyr385, Trp387	Phe518, Met522, Ile523	Gly526, Ala527, Ser530, Leu531, Leu534
Ізоксикам/ COX-2 (4M10)	Met113, Val116, Leu117, Arg120	Ile345, Val349, Leu352, Tyr355, Leu359	Trp387	Phe518, Met522, Ile523	Gly526, Ala527, Ser530, Leu531, Leu534
Мелоксикам/ COX-2 (4M11)	Met113, Val116, Leu117, Arg120	Ile345, Val349, Leu352, Leu359	Trp387	Phe518, Met522, Ile523	Gly526, Ala527, Ser530, Leu531, Leu534
<i>Спільні амінокислотні залишки в кишені COX-2 (в оточенні нестероїдних протизапальних препаратів у радіусі 4 Å)</i>					
Нестероїдні протизапальні препарати/COX-2	Val116, Arg120	Val349, Leu352, Leu359	Trp387	Ile523	Gly526, Ala527, Ser530, Leu531
<i>Амінокислотне оточення целекоксибу в кишені COX-2 у радіусі 4 Å (відмінні від спільних з такими для нестероїдних протизапальних препаратів/COX-2)</i>					
Целекоксиб/ COX-2 (3LN1)	His75, Arg106, Gln178	Val335, Leu338, Ser339, Tyr341, Leu345	Leu370, Trp387	Arg499, Ala502, Ile503, Phe504, Met508, Val509, Gly512, Ala513, Ser516, Leu517	-

спричиняє появу вторинної внутрішньої ніші в сайті зв'язування COX-2, яка відсутня в сайті зв'язування COX-1. У зв'язку з цим у структурі комплексів селективних інгібіторів з COX-2 є залишки, які входять у цю додаткову нішу [9, 13]. Так, в активному сайті зв'язування COX-1 молекула целекоксибу оточена амінокислотними залишками в зазначених зонах, які є спільними й для інших лігандів (традиційних НПЗП) (табл. 1). На відміну від цього амінокислотні залишки, що оточують молекулу целекоксибу в зазначених зонах як COX-2, так і COX-1, відрізняються. Показано, що розташування аміносольфонільного фрагменту селективного інгібітора COX-2 (целекоксибу) вирізняється окремою зоною з амінокислотними залишками *Arg499*, *Ala502*, *Ile503* в оточенні (різниця між оточенням порівнюваних лігандів НПЗП) (табл. 2). Отже, для комплексу целекоксибу з COX-2 в його оточенні є характерні залишки: *His75*, *Arg106*, *Gln178*, *Val335*, *Leu338*, *Ser339*, *Tyr341*, *Leu345* (1), *Leu370*, *Trp373* (2) і в зоні «COX-2 фармакофору» – залишок *Arg499*, а також додатково залишки *Ala502*, *Ile503*, *Phe504*, *Met508*, *Val509*, *Gly512*, *Ala513*, *Ser516*, *Leu517* (3) (табл. 2).

За даними порівняльного аналізу більшість досліджених лігандів (НПЗП) у комплексах з COX-1 і з COX-2 характеризуються важливими спільними ознаками – характерними амінокислотними залишками, що оточують ліганди в зазначених зонах (на віддалі, що забезпечує суттєві супрамолекулярні взаємодії). В оточенні специфічних лігандів у комплексах з COX-2 (целекоксиб та ін.) є характерними інші залишки в основній кишені активного сайту зв'язування, які відмінні від оточення більшості традиційних НПЗП. Най-

характернішими є залишки додаткової ніші, що пов'язано з COX-2-фармакофорами в структурі ліганду.

Простежується зв'язок між селективністю й особливостями позиції ліганду (молекули НПЗП) в активному сайті зв'язування, представленому в трьох зонах – гідрофільній (на вході в кишеню), гідрофобній (у віддаленій частині з каталітичним центром), гідрофобній (поруч з вторинною закритою в COX-1 або гідрофільною вторинною відкритою в COX-2).

Висока селективність молекул НПЗП діарилгетероциклічного ряду з двома арильними фрагментами, які сполучені з сусідніми атомами центрального п'ятичленного гетероциклу, пов'язана з їхніми позиціями в усіх трьох зонах (1, 2, 3 та 1, 2, 3' відповідно до COX-1 і COX-2). Водночас важливими є водневі зв'язки карбоксильної групи в зоні 1 (селективні COX-1) та сульфогрупи в додатковій зоні (селективні COX-2 інгібітори).

Для комплексів неселективних інгібіторів характерними є позиції з водневим зв'язком їхньої карбоксильної групи в зоні 1 і гідрофобними взаємодіями в зоні 2 за незаповненою порожнини в зоні 3, що впливає на їхню інгібуючу активність, знижуючи її.

Висновки

1. В активному сайті зв'язування циклооксигенази виділені важливі для позиції ліганду зони, а саме: зона амінокислотних залишків, які контролюють вхід до каналу (*Arg120*, *Tyr355*), зона каталітичного центру активного сайту зв'язування, розташованого у верхній віддаленій частині кишені COX (*Tyr385*), і зона поруч зі залишками (*Phe518/Ile523* (*Val523*)). Окремо вирізняється зона додаткової гідрофільної бокової кишені (вторинної внутрішньої ніші), що характеризує сайт

- зв'язування COX-2, доступ до якої закритий у сайті зв'язування COX-1.
- Узагальнені результати аналізу супрамолекулярних взаємодій між НПЗП і COX показали, що залишки *Arg120*, *Tyr355* гідрофільної зони обох ізоформ циклооксигенази утворюють водневі зв'язки з карбоксилатною (або гідроксильною, або аміною) групою відповідного ліганду, зменшуючи свободу його переміщення в каналі активного сайту, що, зазвичай, обмежує його селективність.
 - У віддаленій частині каналу активного сайту обох ізоформ циклооксигенази знаходиться каталітичний центр зі залишком тирозину *Tyr385*, під яким розміщується ароматичне кільце ліганду. Важлива ознака деяких лігандів (диклофенаку, аналогів проквазону та флупроквазону) полягала в інверсії позиції в COX-1 проти позиції в COX-2 (карбоксилатна група молекули диклофенаку та ароматичні фрагменти аналогів проквазону змінюють орієнтацію в COX-1 на протилежну в COX-2), чим пояснюють особливості їхніх фармакологічних властивостей.
 - Традиційні НПЗП, інгібітори COX-1 і COX-2, характеризуються спільними ознаками – характерними амінокислотними залишками, що оточують ліганди в трьох зонах («*Arg120*, *Val349*, *Leu352*, *Tyr355*, *Leu359*»; «*Tyr385*, *Trp387*»; «*Phe518*, *Ile523*»).
 - Для коксибів (наприклад, для целекоксибу) у всіх зазначених трьох зонах COX-1 характерні такі самі амінокислотні залишки, як і в оточенні традиційних НПЗП. Проте для коксибів (целекоксиб, рофекоксиб, еторикоксиб, SC558) в активному сайті зв'язування COX-2 ключовою є взаємодія фармакофорної групи ліганду (NH_2SO_2^- , CH_3SO_2^-) у додатковій зоні зі залишком *Arg499* (целекоксиб) або *Arg513* (SC558 та еторикоксиб), доступ до якої закритий в COX-1.

- Гладких Ф. В. Нестероїдні протизапальні засоби. Терапевтичні та небажані ефекти, шляхи їх оптимізації. Вінниця : ТВОРИ, 2022. 216 с. <https://doi.org/10.46879/2022.1>.
- Nonsteroid drug selectivities for cyclo-oxygenase-1 rather than cyclo-oxygenase-2 are associated with human gastrointestinal toxicity: a full *in vitro* analysis. T. D. Warner, R. Giuliano, I. Vojnovic et al. *Pharmacology*. 1999. V. 96. P. 7563–7568.
- Tacconelli S., Capone M. L., Patrignani P. Clinical pharmacology of novel selective COX-2 inhibitors. *Current Pharmaceutical Design*. 2004. V. 10, Is. 6. P. 589–601. <https://doi.org/10.2174/1381612043453108>.
- Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-1 (COX-1) by diarylisoaxazoles mofezolac and 3-(5-chlorofuran-2-yl)-5-methyl-4-phenylisoaxazole (P6). G. Cingolani, A. Panella, M. G. Perrone et al. *Eur. J. Med. Chem*. 2017. V. 138. P. 661–668. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.06.045>.
- Головач І. Ю. Інноваційний НПВС с гастропротекторними властивостями в ревматологічній практиці. *Укр. ревматологічний журнал*. 2016. № 1 (63). С. 48–50.
- Mahesh G., Kumar A. K. Overview on the discovery and development of anti-inflammatory drugs: should the focus be on synthesis or degradation of PGE2? *Journal of Inflammation Research*. 2021. V.14. P. 253–263. <https://doi.org/10.2147/JIR.S278514>.
- Praveen P. N. Rao, Saad N. Kabir, Tarek Mohamed. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): progress in small molecule drug development. *Pharmaceuticals*. 2010. V. 3 (5). P. 1530–1549. <https://doi.org/10.3390/ph3051530>.
- Proteins Data Bank (PDB). URL: <https://www.rcsb.org/>.
- Docking studies on NSAID/COX-2 isozyme complexes using Contact Statistics analysis. G. Ermondia, G. Carona, R. Lawrenceb, D. Longo. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 2004. V. 18. P. 683–696. <https://doi.org/10.1007/s10822-004-6258-1>.
- Design, synthesis and modeling study of acylated 1,2,4-triazole-3-acetates with potential anti-inflammatory activity. A. M. Abdel-Megeed, H. M. Abdel-Rhman, G.-E. S. Alkaramany et al. *Eur. J. Med. Chem*. 2009. V. 44. P. 117–123.
- Synthesis, inhibitory activity, and *in silico* modeling of selective COX-1 inhibitors with a quinazoline core. M. Dvorakova, L. Langhansova, V. Temml et al. *ACS Med. Chem. Lett*. 2021. V. 12, Is. 4. P. 610–616. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.1c0000/>.

-
-
- Theoretical investigation of the molecular structure and molecular docking of etoricoxib. K. Sadasivan, S. M. Guillermo, L. H. Mendoza-Huizar et al. *J. Chil. Chem. Soc.* 2020. V. 65, No. 2. P. 4804-4806.
 - Синтез похідних бензенсульфонамідів і вивчення їхньої спорідненості до циклооксигенази-2 методом молекулярного докінгу. С. А. Демченко, О. Ю. Баглай, Н. М. Серединська, О. Є. Ядловський, А. Є. Зелінська, Т. А. Бухтіарова, Л. С. Бобкова та ін. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2020. Т. 14, № 1. С. 24–35.

Л. С. Бобкова, Т. А. Бухтіарова, О. В. Середенко, О. Є. Ядловський
Порівняльний аналіз особливостей протеїн-лігандових взаємодій
нестероїдних протизапальних препаратів як інгібіторів циклооксигенази

Сьогодні в усьому світі ведеться активний пошук шляхів потенціювання протизапального та знеболювального ефектів нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП), а також підвищення їхньої безпеки. Відомо, що більшість НПЗП зворотно пригнічує активність циклооксигенази з різною селективністю щодо двох ізоформ. Особливості структури активного сайту обох ізоформ (подібність і специфічність), складність супрамолекулярних взаємодій НПЗП у сайті зв'язування та пов'язані з ними очікувані можливості безпеки НПЗП нового покоління залишаються актуальними й надалі вимагають нових пошуків і досліджень. Особливості міжмолекулярної взаємодії НПЗП як інгібіторів циклооксигенази є важливим елементом системи оцінки біологічних ефектів у медичних технологіях спрямованого пошуку нових біологічно активних речовин.

В активному сайті зв'язування циклооксигенази були визначені зони амінокислотних залишків, які є важливими для позиції ліганду. Загалом, за результатами дослідження виявлено, що в активному сайті зв'язування COX-1 і COX-2 такі амінокислотні залишки, як «Arg120, Val349, Leu352, Tyr355, Leu359» та «Tyr385, Trp387», «Phe518, Ile523», оточують молекули традиційних НПЗП. Вони є спільними ознаками, що важливі для трьох визначених зон залишків: на вході до каналу (неселективного сайту зв'язування), каталітичного центру (сайту конкурентного інгібування) та сайту гідрофобних взаємодій поруч зі залишками Phe518/Ile523 (при закритому доступі до вторинної внутрішньої ніші в активному сайті зв'язування COX-1). Особливою ознакою активного сайту зв'язування COX-2 є зона з відкритим доступом до вторинної внутрішньої ніші зі залишком Arg499 (целекоксиб) або Arg513 (SC558 та еторикоксиб), яка забезпечує ліганд-ферментну взаємодію специфічних інгібіторів COX-2. Важлива ознака деяких лігандів (молекул НПЗП) полягала в інверсії їхньої позиції в COX-1 проти позиції в COX-2, що пояснює особливості їхніх фармакологічних властивостей.

Ключові слова: НПЗП, протеїн-лігандові взаємодії, інгібітори циклооксигенази

L. S. Bobkova, T. A. Burhtiarova, O. V. Seredenko, O. E. Yadlovskiy
Comparative analysis of protein-ligand interactions of NSAIDs as cyclooxygenase
inhibitors

Features of the structure of the active binding site of both isoforms (similarity and specificity), the complexity of the supramolecular interactions of NSAIDs and expected safety features of the new generation NSAIDs remain relevant. The specificity of the supramolecular interactions of NSAIDs, as COX inhibitors, is an important element of the system for evaluating biological effects in medical technologies aimed at the search for new drugs.

Zones of amino acid residues important for the position of the ligand in the active binding site were determined. In general, according to the results of the comparative analysis, it was found that in the active binding site of COX-1 and COX-2, such residues as «Arg120, Val349, Leu352, Tyr355, Leu359», «Tyr385, Trp387», «Phe518, Ile523», surround the molecules of traditional NSAIDs. They are common features important for three zones of amino acid residues: the non-selective binding site (at the entrance to the channel), the site of competitive inhibition (catalytic center) and the site of hydrophobic interactions (near the Phe518/Ile523 residues) (with closed access to the secondary internal space in the active site of COX-1). A specific feature of the active binding site is a zone with open access to the secondary internal space with Arg499 (celecoxib) or Arg513 (SC558 and etoricoxib), which provides ligand – enzyme interaction of specific COX-2 inhibitors. An important feature of some ligands (NSAID molecules) is the inversion of the pose in COX-1 against the pose in COX-2, which explains the peculiarities of their pharmacological properties.

Key words: NSAIDs, protein-ligand interactions, cyclooxygenase inhibitors

Надійшла: 26 січня 2024 р.

Прийнята до друку: 20 березня 2024 р.

Контактна особа: Бобкова Людмила Станіславівна, доктор фармацевтичних наук, головний науковий співробітник, відділ медичної хімії, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 94 18.