

С. А. Демченко¹, О. Ю. Баглай¹, Н. М. Серединська¹,
О. Є. Ядловський¹, А. Є. Зелінська², Т. А. Бухтіарова¹,
Л. С. Бобкова¹, А. М. Демченко²

Синтез похідних бензенсульфонамідів і вивчення їхньої спорідненості до циклооксигенази-2 методом молекулярного докінгу

¹Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ

²Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя

Ключові слова: інгібітори циклооксигенази-2, похідні 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонамідів, молекулярний докінг

Пошук нових селективних інгібіторів циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) зумовлений доцільністю оптимізації фармакологічної корекції таких тяжких хронічних запальних процесів, як ревматичні захворювання та ін. Саме нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) отримали, фактично, найширше застосування за цих захворювань, що зумовлено їхньою здатністю усувати біль і запалення завдяки пригніченню активності циклооксигенази – ключового ферменту перетворення арахідонової кислоти в простагландини.

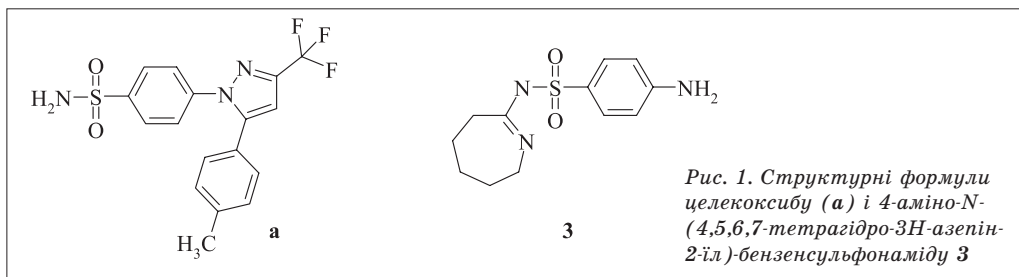
За даними клінічного досвіду застосування взагалі всіх препаратів групи НПЗП (неселективних і селективних до ЦОГ) в адекватних терапевтичних дозах визначено, що вони приблизно еквівалентні за знеболювальним, протизапальним і жарознижувальним ефектами. Водночас різні НПЗП суттєво відрізняються за переносимістю та ризиком розвитку побічної дії.

Найсерйознішими ускладненнями в разі застосування НПЗП є розвиток НПЗП-індукованих гастропатії, ентеропатії та кардіотоксичності [1]. Найбезпечнішими щодо шлунково-кишкового тракту вважають інгібітори саме ЦОГ-2. Однак ризик розвитку кардіоваскулярних ускладнень за лікування запаль-

них процесів є високим і суттєво різниться за ступенем для різних представників НПЗП цього класу. Ведуться наукові дискусії щодо кардіотоксичності НПЗП групи коксибів, яким притаманні високі анальгетична та протизапальна дії. Наявність суттєвих побічних (кардіотоксичних зокрема) ефектів препаратів цього класу зумовлює дозові обмеження та термін застосування [2]. Одним з найважливіших досягнень фармакології та клінічної медицини кінця ХХ століття є створення специфічних інгібіторів ЦОГ-2 (коксибів). Одним з найефективніших ЦОГ-2, впровадженим у клінічну практику, є препарат Целекоксиб (ЦК) [3].

Загальноприйнятими показаннями до застосування ЦК є остеоартроз, ревматоїдний артрит, анкілозуючий спондиліт, первинна дисменорея, а також інші захворювання, що супроводжуються запальною реакцією, больовим синдромом [4]. Водночас разом з позитивними ефектами та властивостями ЦК відомі випадки негативного впливу на серцево-судинну систему, шлунково-кишковий тракт, механізм протромботичного впливу тощо [5].

За хімічною структурою ЦК являє собою 4-[5-(метилфеніл)-3-(трифлюоролметил)-1H-піразол-1-іл] бензенсульфонамід). Ефективність ЦК пов'язана з особливостями його хімічної структури – наявністю бічної полярної сульфонамідної групи. Вважають, що бічна полярна сульфонамідна група проникає в активний центр ЦОГ-2, роз-



ташований всередині специфічної гідрофільної бічної «порожнини», і в неконкурентно залежний від часу спосіб пригнічує її активність. Навпаки, інша частина молекули міститься в гідрофобному центральному каналі ЦОГ-1, але слабо взаємодіє з його активною ділянкою, не викликаючи значного пригнічення активності цього ізоферменту [6]. Визначено *in vitro*, що ступінь комплементарності ЦК до ЦОГ-2 у 10–3000 разів (залежно від методики визначення) вище, ніж до ЦОГ-1. Зазначають, що така властивість ЦК, яка значно перевищує спорідненість до ЦОГ-2 мелоксикаму, німесуліді, зумовлена стереометричною структурою його молекули.

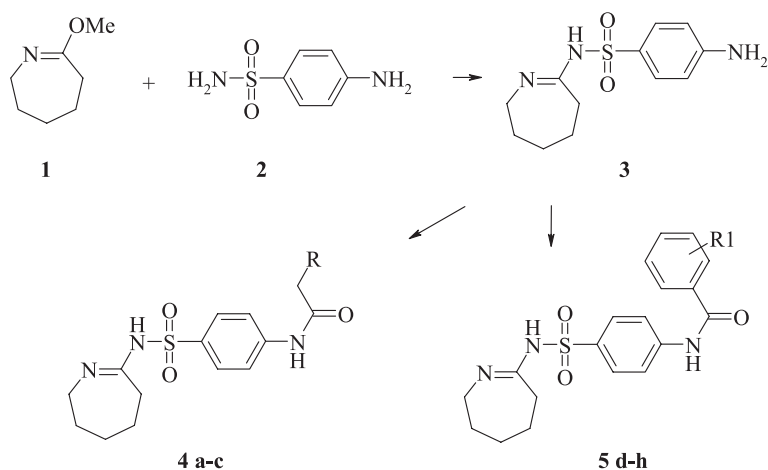
Висока селективність коксибів до ЦОГ-2, позитивний вплив щодо контролю болю та запалення, з одного боку, та можливий прояв побічної та/або не прогнозованих реакцій зумовлюють перспективи пошуку нових оригінальних речовин з рецепторним механізмом дії – перспективних лігандів ЦОГ-2 на основі молекулярного докінгу.

Як ліганди ЦОГ-2 були досліджені похідні 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-

3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду, характерною особливістю структури яких є наявність заміщеної в пара-положенні бензенсульфонамідної групи.

Мета дослідження – синтезувати й оцінити потенційну спорідненість до ЦОГ-2 похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду порівняно з ЦК, відомим селективним інгібітором ЦОГ-2 на етапі первинного молекулярного докінгу (рис. 1).

Матеріали та методи. Досліджувані сполуки – похідні 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду були синтезовані у відділі медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ». Для докінг-аналізу 3D моделі лігандів і рецептора готувались у програмному пакеті AutoDockTools [7]. Докінг був проведений за допомогою пакета AutoDock Vina. Структура рецептора ЦОГ-2 була взята з бази PDB (www.rcsb.org: 3LN1) [8], препаратом порівняння був ЦК (CID: 2662 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)) [9]. Досліджувані сполуки 4 а-с і 5 d-h синтезовані за схемою:



де 4,5 R= а) H, б) CH₃, в) CH₂CH₂CH₃, R1= d) H, е) 2-CH₃, ф) 4-CH₃, г) 2-OCH₃, h) 2-Cl

2-Метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7*H*-азепін **1** одержано алкілуванням капролактаму диметилсульфатом за методом [10].

Спектри ПМР були зареєстровані на спектрометрі Bruker DRX-300, робоча частота – 299,945 МГц, внутрішній стандарт ТМС у розчині – DMSO-d₆. Контроль ТМС за чистотою синтезованих сполук здійснювався за допомогою ТХС на пластинках Silufol UV-254 у системі хлороформ–метанол 9:1. Ліпофільність (LogP) синтезованих сполук була розрахована за допомогою програми ACD LogP [11].

Синтез 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду **3.** Суміш 12,7 г (0,1 моль) 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7*H*-азепіну **1** і 17,2 г (0,1 моль) 4-амінобензенсульфонаміду **2** у 100 мл толуолу кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 5 год. Після чого осад, що утворився, відфільтрували та кристалізували з пропанолу-2. Вихід – 17,1 г (64 %). $T_{пл.} = 152-153\text{ }^{\circ}\text{C}$. Знайдено, %: N = 15,9 C₁₂H₁₇N₃O₂S. Вираховано, %: N = 15,7. Спектр ПМР (ДМСО-d₆, ТМС): 1,43 (м, 4Н, (CH₂)₂), 1,60 (м, 2Н, CH₂), 2,48 (м, 2Н, CH₂), 3,22 (м, 2Н, CH₂), 5,82 (с, 2Н, NH₂), 6,56 і 7,45 (д-д, 4Н, C₆H₄, J = 8,7 Гц), 8,48 (уш. т., 1Н, NH). Log P = 0,23 ± 0,63.

Синтез N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-ілсульфамойл)-феніл]-ацетаміду **4 а.** Суміш 2,67 г (0,01 моль) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду **3** і 2 мл оцтового ангідриду кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 30 хв. Після охолодження додавали 150 мл води та залишали на 3 год до повного гідролізу залишків оцтового ангідриду. Осад, що утворився, відфільтрували та кристалізували з пропанолу-2. Вихід – 1,95 г (63 %). $T_{пл.} = 174-175\text{ }^{\circ}\text{C}$. Знайдено, %: N = 13,5 C₁₄H₁₉N₃O₃S. Вираховано, %: N = 13,6. Спектр ПМР (ДМСО-d₆, ТМС): 1,44 (м, 4Н, (CH₂)₂), 1,63 (м, 2Н, CH₂), 2,08 (с, 3Н, CH₃), 2,58 (м, 2Н, CH₂), 3,32 (м, 2Н, CH₂), 7,71 і 7,76 (д-д, 4Н, C₆H₄, J = 8,7 Гц), 8,66 (уш. т., 1Н, NH), 10,3 (с, 1Н, NH). Log P = 0,78 ± 0,64.

Синтез N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-ілсульфамойл)-феніл]-пропіонаміду **4 б.** Сполуку було одержано аналогічно ацетаміду **4 а** з 2,67 г (0,01 моль) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду **3** і 2 мл пропіонового ангідриду. Вихід – 1,78 г (55 %). $T_{пл.} = 187-188\text{ }^{\circ}\text{C}$ (із пропанолу-2). Знайдено, %: N = 13,3 C₁₅H₂₁N₃O₃S. Вираховано, %: N = 13,0. Спектр ПМР (ДМСО-d₆, ТМС): 1,10 (т, 3Н, CH₃), 1,44 (м, 4Н, (CH₂)₂), 1,62 (м, 2Н, CH₂), 2,36 (кв, 2Н, NHCOCH₂), 2,56 (м, 2Н, CH₂), 3,33 (м, 2Н, CH₂), 7,71 і 7,76 (д-д, 4Н, C₆H₄, J = 8,7 Гц), 8,67 (уш. т., 1Н, NH), 10,2 (с, 1Н, NH). Log P = 1,31 ± 0,64.

Синтез аміду [4-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-ілсульфамойл)-феніл]-пентаанової кислоти **4 с.** Сполуку було одержано аналогічно ацетаміду **4 а** із 2,67 г (0,01 моль) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду **3** і 2 мл ангідриду пентаанової кислоти. Вихід – 1,79 г (51 %). $T_{пл.} = 182-183\text{ }^{\circ}\text{C}$ (із пропанолу-2). Знайдено, %: N = 12,2 C₁₇H₂₅N₃O₃S. Вираховано, %: N = 12,0. Спектр ПМР (ДМСО-d₆, ТМС): 0,90 (т, 3Н, CH₃), 1,32 (м, 2Н, CH₂), 1,44 (м, 4Н, (CH₂)₂), 1,57 (м, 2Н, CH₂), 1,61 (м, 2Н, CH₂), 2,35 (т, 2Н, NHCOCH₂), 2,56 (м, 2Н, CH₂), 3,34 (м, 2Н, CH₂), 7,72 і 7,77 (д-д, 4Н, C₆H₄, J = 8,7 Гц), 8,66 (уш. т., 1Н, NH), 10,2 (с, 1Н, NH). Log P = 2,37 ± 0,64.

Синтез N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-ілсульфамойл)-феніл]-бензаміду **5 d.** До суспензії 2,67 г (0,01 моль) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду **3** у 20 мл 5 % водного розчину NaOH додавали 2,1 г (0,015 моль) бензоїлхлориду. Реакційну суміш ретельно стряхували 5 хв і залишали на 8 год до повного гідролізу надлишку бензоїлхлориду за кімнатної температури. Після чого реакційну суміш виливали в 150 мл води. Осад, що утворився, відфільтрували та кристалізували з етанолу. Вихід – 2,41 г (65 %). $T_{пл.} = 190-191\text{ }^{\circ}\text{C}$. Знайдено, %: N = 11,5 C₁₉H₂₁N₃O₃S. Вираховано, %: N = 11,3. Спектр ПМР (ДМСО-d₆, ТМС): 1,46 (м, 4Н, (CH₂)₂), 1,64 (м, 2Н, CH₂), 2,59 (м, 2Н, CH₂), 3,36 (м, 2Н, CH₂), 7,53–7,99 (м, 9Н, Ph + C₆H₄), 8,70 (уш. т., 1Н, NH), 10,6 (с, 1Н, NH). Log P = 2,31 ± 0,67.

Синтез 2-метил-N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їлсульфамойл)-феніл]-бензаміду 5 e. Сполуку було одержано аналогічно бензаміду 4 d із 2,67 г (0,01 моль) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їл)-бензенсульфонаміду 3 і 2,33 г (0,015 моль) 2-метилбензоїлхлориду. Вихід – 2,35 г (61 %). $T_{пл.} = 222-223\text{ }^{\circ}\text{C}$ (із етанолу). Знайдено, %: N = 10,8 $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$. Вираховано, %: N = 10,9. Спектр ПМР (ДМСО-d6, ТМС): 1,47 (м, 4H, $(\text{CH}_2)_2$), 1,64 (м, 2H, CH_2), 2,39 (с, 3H, CH_3), 2,58 (м, 2H, CH_2), 3,33 (м, 2H, CH_2), 7,29–7,50 (м, 4H, C_6H_4), 7,80 і 7,89 (д-д, 4H, C_6H_4 , J = 8,7 Гц), 8,69 (уш. т., 1H, NH), 10,6 (с, 1H, NH). Log P = 2,77 ± 0,67.

Синтез 4-метил-N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їлсульфамойл)-феніл]-бензаміду 5 f. Сполуку було одержано аналогічно бензаміду 4 d із 2,67 г (0,01 моль) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їл)-бензенсульфонаміду 3 і 2,33 г (0,015 моль) 4-метилбензоїлхлориду. Вихід – 2,43 г (63 %). $T_{пл.} = 192-193\text{ }^{\circ}\text{C}$ (із етанолу). Знайдено, %: N = 10,7 $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$. Вираховано, %: N = 10,9. Спектр ПМР (ДМСО-d6, ТМС): 1,46 (м, 4H, $(\text{CH}_2)_2$), 1,64 (м, 2H, CH_2), 2,39 (с, 3H, CH_3), 2,59 (м, 2H, CH_2), 3,35 (м, 2H, CH_2), 7,35 і 7,90 (м, 4H, C_6H_4 , J = 7,4 Гц), 7,82 і 7,96 (д-д, 4H, C_6H_4 , J = 8,4 Гц), 8,70 (уш. т., 1H, NH), 10,5 (с, 1H, NH). Log P = 2,77 ± 0,67.

Синтез 2-метокси-N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їлсульфамойл)-феніл]-бензаміду 5 g. Сполуку було одержано аналогічно бензаміду 4 d із 2,67 г (0,01 моль) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їл)-бензенсульфонаміду 3 і 2,57 г (0,015 моль) 4-метоксибензоїлхлориду. Вихід – 2,43 г (63 %). $T_{пл.} = 200-201\text{ }^{\circ}\text{C}$ (із етанолу). Знайдено, %: N = 10,4 $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$. Вираховано, %: N = 10,5. Спектр ПМР (ДМСО-d6, ТМС): 1,46 (м, 4H, $(\text{CH}_2)_2$), 1,64 (м, 2H, CH_2), 2,58 (м, 2H, CH_2), 3,35 (м, 2H, CH_2), 3,90 (с, 3H, OCH_3), 7,05–7,65 (м, 4H, C_6H_4), 7,80 і 7,89 (д-д, 4H, C_6H_4 , J = 8,4 Гц), 8,68 (уш. т., 1H, NH), 10,4 (с, 1H, NH). Log P = 2,04 ± 0,67.

Синтез 2-хлоро-N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їлсульфамойл)-феніл]-бензаміду 5 h. Сполуку було

одержано аналогічно бензаміду 4 d із 2,67 г (0,01 моль) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їл)-бензенсульфонаміду 3 і 2,63 г (0,015 моль) 2-хлорбензоїлхлориду. Вихід – 2,44 г (60 %). $T_{пл.} = 221-222\text{ }^{\circ}\text{C}$ (із оцтової кислоти). Знайдено, %: N = 10,5 $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{ClN}_3\text{O}_3\text{S}$. Вираховано, %: N = 10,3. Спектр ПМР (ДМСО-d6, ТМС): 1,47 (м, 4H, $(\text{CH}_2)_2$), 1,65 (м, 2H, CH_2), 2,58 (м, 2H, CH_2), 3,36 (м, 2H, CH_2), 7,45–7,64 (м, 4H, C_6H_4), 7,82 і 7,87 (д-д, 4H, C_6H_4 , J = 8,4 Гц), 8,70 (уш. т., 1H, NH), 10,8 (с, 1H, NH). Log P = 2,49 ± 0,67.

З метою оптимізації фармакологічних досліджень й обґрунтування доцільності проведення експериментального скринінгу протизапальної активності були проведені докінгові дослідження. Застосування *in silico* методів дає можливість зберегти лабораторних тварин у випадку низької афінності досліджуваних сполук до потенційних біомішеней.

Експериментальні дослідження з визначення антиноцицептивної та протизапальної активності проведені на статевозрілих нелінійних тваринах обох статей двох видів: білих мишах масою (22,0 ± 2,0) г і білих щурах масою (228,8 ± 7,2) г розведення віварію ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ», що утримувалися на стандартному режимі харчування у віварії з вільним доступом до води та їжі. Дослідження проведені з дотриманням відповідних правил щодо гуманного відношення до тварин [12]. Досліджувану сполуку 4 а і ЦК вводили внутрішньошлунково в дозі 15 мг/кг маси тіла тварин.

У дослідах на білих мишах оцінку знеболювальної активності проводили на моделі хімічної ноцицептивної стимуляції – вісцерального болю («корчі», викликані оцтовою кислотою). Досліджувану сполуку вводили за 30 хв до моделювання больового синдрому. Оцтовокислі «корчі» моделювали шляхом внутрішньоочеревинного введення розчину оцтової кислоти в дозі 0,1 мл/10 г маси тіла тварини. Порівнювали число корчів у тварин дослідної та контрольної груп. Як критерій оцінки ефективності використовували відсоток інгібіції числа «корчів» [13].

Протизапальну активність сполуки **4 а** у дослідях на білих мишах досліджували на моделі карагенанового набряку. Водний розчин карагенану (1 % розчин) вводили в апоневроз лапи тварин з розрахунку 0,05 мл на 10 г маси тіла тварини. Антиексудативну активність вимірювали на максимумі запальної реакції (через 3 год після введення флогогенного агента). Критерієм оцінки був відсоток інгібіції набряку [14].

У дослідях на білих щурах вивчення знеболювальної та протизапальної дії сполуки **4 а** та ЦК як препарату порівняння проводили на моделі запального процесу, індукованого субплантарним уведенням 0,1 мл 1 % водного розчину карагенану. Знеболювальну дію оцінювали за тестом «tail-flick» на установці Ugo Basile (Італія) з визначенням порога больової чутливості (ПБЧ) та аналгетичної активності (АА, %) за загальноприйнятим методом [15]. Протизапальну активність сполуки **4 а** та ЦК визначали за здатністю зменшувати набряк кінцівки, у яку було введено патогенний агент, з рестрацією об'єму стопи (у. о.) волюмометричним методом і розрахунком протинабрякової активності (ПНА, %). Тварини були розподілені за групами по 7 особин у кожній. До першої групи віднесено тварин контрольної групи (карагенан), до другої – тварин, яким за 30 хв до індукції запального процесу в шлунок через спеціальний металевий зонд у 1 % крохмальному завесі вводили ЦК у дозі 15 мг/кг маси тіла тварини, що є терапевтичною дозою в перерахунку на тварин з урахуванням видової чутливості. Аналогічно в тій самій дозі щурам третьої групи вводили сполуку **4 а**.

Статистична обробка. Дані щодо результатів фармакологічних досліджень визначали за нормальністю розподілу, який оцінювали за критерієм Shapiro-Wilk (W). Дані представлені у вигляді середнього арифметичного та стандартної похибки репрезентативності середнього значення. Вірогідність між середніми значеннями в двох вибірках визначали за критерієм Стьюдента в разі нормального розподілу. Статистично значущими вважали відмінності за рівня значущості не менше ніж 0,05 [16].

Результати та їх обговорення. Аналіз результатів докінгових досліджень показав, що всі сполуки показують хороші значення афінності до рецептора ЦОГ-2. Проте сполуки **3**, **4 а**, **4 б**, **4 с** займають положення в ніші, що є характерною для ЦК. Значення розрахованих вільних енергій зв'язування (E_{Doc}) для комплексів, що утворені молекулами синтезованих речовин і рецептором ЦОГ-2, і вірогідні міжмолекулярні взаємодії наведено в таблиці 1.

Усі моделі сполук з ЦОГ-2 показують хороші значення E_{Doc} . Проте тільки сполуки **3**, **4 а**, **4 б**, **4 с** займають положення в ніші, що є характерною для ЦК (рис. 2).

Сполука **3** ($E_{Doc} = -8,8$ ккал/моль) утворює комплекс з активним сайтом ЦОГ-2 за рахунок водневих зв'язків між аміногрупою на фенільному фрагменті та His75 і Arg499. Азот азепінового фрагмента ліганду **3** додатково взаємодіє з Ser516, Tyr371 (3,9Å, 4,7Å відповідно), а кисень сульфонільної групи ліганду – з Ser339 (5,0Å). Для фенільного кільця ліганду **3** характерною є міжмолекулярна взаємодія з Leu338, Ser339 (3,4Å, 3,8Å відповідно). Утворенню комплексу сполуки **4 а** ($E_{Doc} = -9,4$ ккал/моль) з рецептором сприяє водневий зв'язок з His75 (2,5Å) і додаткові міжмолекулярні взаємодії ліганду **4 а** з Ser516, His75 (4,4Å і 2,5Å відповідно). Сполука **4 с** ($E_{Doc} = -8,6$ ккал/моль) утворює комплекс з ЦОГ-2 за рахунок можливості утворення водневих зв'язків з Arg106 (2,3/2,4Å). Утворення комплексу сполуки **4 б** ($E_{Doc} = -8,6$ ккал/моль) з рецептором забезпечується міжмолекулярними взаємодіями з Arg106, Tyr341, Tyr371, Tyr373.

Сполуки, які мали додаткове бензольне кільце **5 d**, **5 h**, **5 f**, **5 e**, **5 g**, займали свої власні ніші на поверхні рецептора (сайт 2 і сайт 3 відповідно), не вбудовуючись в активний сайт, що є характерним для ЦК (рис. 3, 4). Це може бути пов'язано зі стеричними особливостями сполук, розміри яких не дозволяють зайняти простір активного сайту. Сполука **5 е** має значення енергії ($E_{Doc} = -11,1$ ккал/моль), яке близьке до ЦК. Сульфонільна група ліганду **5 е** може утворювати водневі зв'язки з

Вільна енергія зв'язування та вірогідні міжмолекулярні взаємодії похідних бензенсульфонамідів у сайті циклооксигенази-2

Сполука	Вільна енергія зв'язування, ккал/моль	Водневий зв'язок		Інші молекулярні взаємодії	
		залучений залишок (L, Å)	функціональна група	залучений залишок (L, Å)	функціональна група
<i>Спільні амінокислоти з оточення лігандів: целекоксибу, 3, 4 a-c</i>					
VAL335, LEU338, SER339, TRP373, PHE504, VAL509, GLY512, TYR371					
Целекоксиб	-11,9	Arg499 (2,4Å)	-SO ₂	Pi-cation Arg106 (5,9Å) Pi-cation Leu338 (6,5Å) Pi-Sigma Ser339 (2,3Å)	Pyrazole ring Phenyl ring Phenyl ring
3	-8,8	His75 (2,2Å) Arg499 (2,8Å)	-NH ₂ -NH ₂	Ser516 (3,9Å) Tyr371 (4,7Å) Ser339 (5,0Å) Leu338 (3,4Å) Pi-Sigma Ser339 (3,8Å)	-N- -N- -SO ₂ Phenyl ring Phenyl ring
4 a	-9,3	His75 (2,5Å)	-NH	Ser516 (4,4Å) His75 (2,5Å)	-SO ₂ -CO
4 b	-8,6	-	-	Arg106 (2,6Å) Tyr341 (3,1Å) Tyr341 (3,9Å) Tyr371 (4,5Å) Tyr373 (4,5Å)	-N-cycle -SO ₂ -NH -CO -CO
4 c	-8,6	Arg106 (2,4Å) Arg106 (2,3Å)	-CO -NH ₂	-	-
<i>Спільні амінокислоти з оточення лігандів: 5 d, f, h</i>					
ASN19, CYS21, ASN24, CYS26, CYS32, GLY121, LEU138, PRO139, PRO140, ALA142, GLU447					
5 d	-9,4	Pro140 (2,4Å) Asn24 (2,4Å)	-NH -NH	-	-
5 f	-9,3	Arg29 (2,6Å)	-CO	Gln447 (3,1Å) Arg455 (3,5Å)	-SO ₂ -CO
5 h	-9,4	-	-	Asn24 (3,4Å) Asn19 (3,1Å) Gly121 (2,9Å)	-NH -SO ₂ -NH
<i>Спільні амінокислоти з оточення лігандів: 5 e, g</i>					
GLN189, HIS193, PHE196, LYS197, THR198, HIS200, ASN368, HIS372, HIS374					
5 e	-11,1	Thr198 (2,1Å) Asn368 (2,3Å) His200 (2,2Å)	-SO ₂ -SO ₂ -N-cycle	Thr192 (3,1Å) His374 (3,1Å) Pi-Pi His372 (3,0Å) Pi-cation His193 (4,1Å)	-CO -NH Phenyl ring Phenyl ring
5 g	-8,2	His200 (2,1Å) His193 (2,1Å) His374 (2,2Å) Gln189 (1,7Å)	-O- -SO ₂ (O) -SO ₂ (O) -SO ₂ (O)	Gln189 (3,1Å) His374 (2,7Å) Pi-cation His193 (5,6Å) Pi-cation His374 (3,8Å)	-N- -NH

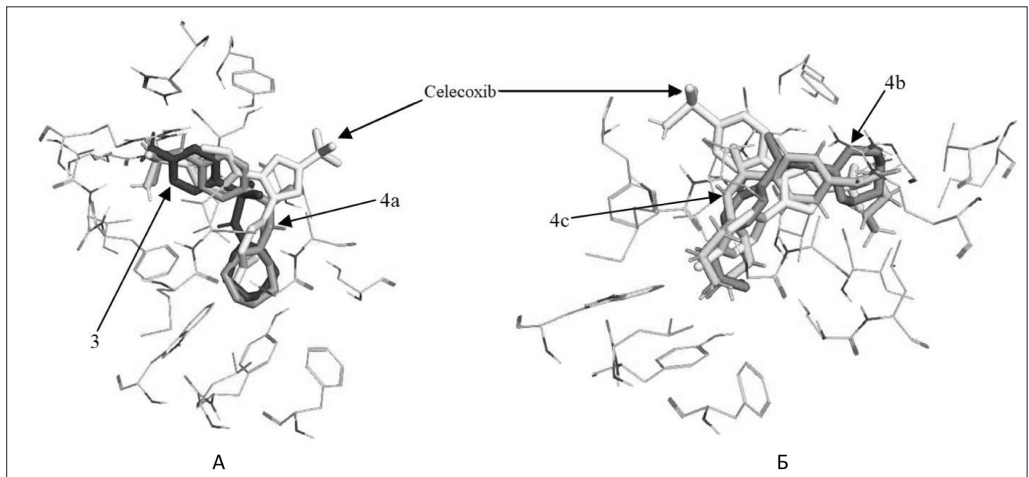


Рис. 2. Положення целекоксибу, 3, 4 а (поз. А); целекоксибу, 4 б, 4 с (поз. Б) в активному сайті циклооксигенази-2

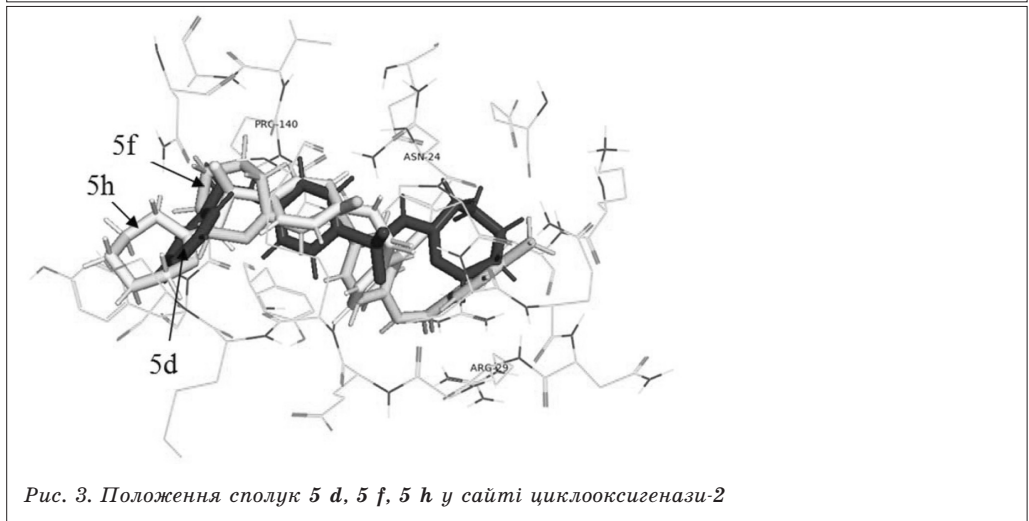


Рис. 3. Положення сполук 5 d, 5 f, 5 h у сайті циклооксигенази-2

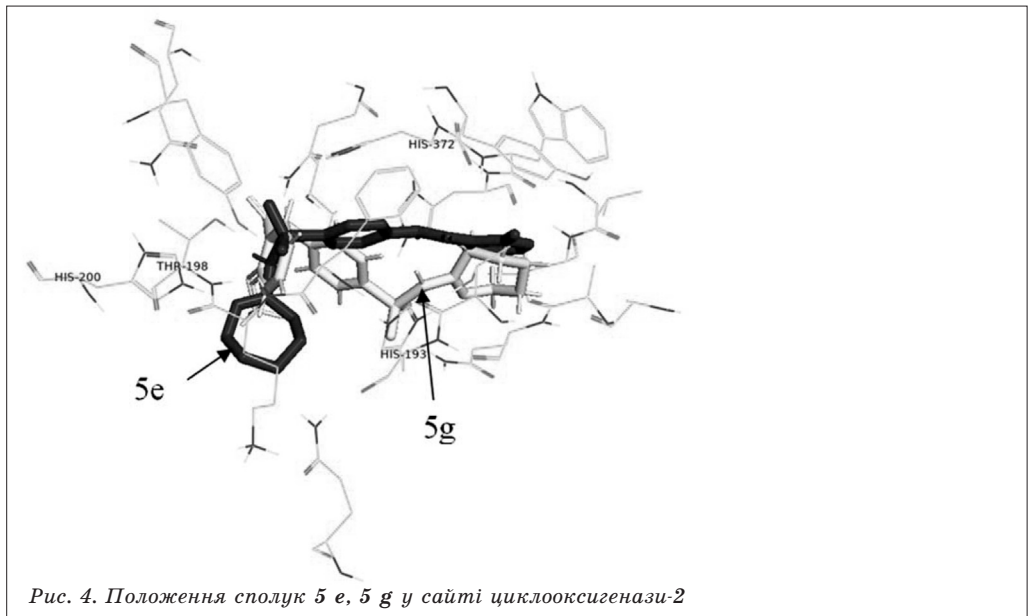


Рис. 4. Положення сполук 5 е, 5 г у сайті циклооксигенази-2

Thr198 і Asn368 (2,3Å 2,4Å відповідно), азот азеїнового фрагменту з His200 (2,2Å). Крім того можливими є міжмолекулярні взаємодії з Thr192 і His374, а фенільного кільця ліганду – з His372, His193. Аналогічно для сполуки 5 g характерним є водневий зв'язок з His200 (2,1Å) і міжмолекулярна взаємодія з His372, His193.

Сполуки 5 d, 5 f, 5 h докуються в окремий спільний для них сайт ЦОГ-2, але їхні міжмолекулярні взаємодії характеризуються різними амінокислотними залишками, що зумовлено особливостями структури арил-амідного фрагменту (Aryl = Ph, p-Me, o-Cl).

Таким чином, можна припустити, що інгібуючі властивості синтезованих сполук відносно рецептора ЦОГ-2 можуть бути реалізовані шляхом утворення між ними комплексів, стійкість яких забезпечується за рахунок енергетично вигідного геометричного розташування лігандів у ніші, яку вони займають у рецепторі; утворення водневих зв'язків між ними, міжмолекулярних електростатичних і донорно-акцепторних взаємодій.

Експериментальна верифікація прогнозу фармакологічної активності зазначених сполук була проведена на прикладі вивчення антиноцицептивної та протизапальної дії сполуки 4 а.

Як свідчать дані таблиці 2, сполука 4 а за внутрішньошлункового введення проявила протизапальну активність на рівні 28,8 % у досліді на білих

мишах, про що свідчить значне зниження ваги стопи тварини.

Свідченням антиноцицептивної дії сполуки 4 а є її здатність зменшувати кількість «корчів» у білих мишей майже на 27 % (табл. 3).

Отримані дані в досліді на білих щурах свідчать про виразність протибольової дії ЦК (табл. 4). Через 2 год і через 4 год після індукції запалення за введення ЦК спостерігалось зростання ПБЧ порівняно з вихідними даними на понад 26 % і на понад 25 % відповідно, що є свідченням зменшення больового відчуття в тварин упродовж тривалого часу. У ті самі терміни АА ЦК становила 45 % і 33 %.

За введення сполуки 4 а АА була найвищою через 2 год після введення карагенану (24,5 %) і поступово знижувалася до 15,7 % через 4 год запально-го процесу (табл. 4).

Отримані дані свідчать про наявність у сполуки 4 а суттєвої антиноцицептивної активності, однак вона є нижчою за активність ЦК.

У межах 14–17% коливалася ПНА ЦК у різні терміни спостереження, про що свідчить суттєве порівняно з даними тварин контрольної групи зменшення набряку кінцівок (табл. 5).

На відміну від ЦК, сполука 4 а проявляла протинабрякову дію лише через 4 год після індукції запалення, й її ПНА становила 15,00 %.

У досліді на різних видах лабораторних тварин доведено, що сполуці 4 а притаманна значна антиноцицептивна

Таблиця 2

Антиексудативна дія сполуки 4 а у нелінійних мишей на моделі карагенінового набряку (n = 6)

Параметр	Δ M, мг, контрольна група (M ± m)	Δ M, мг дослідна група (M ± m)	Зміна до контролю, %
Ступінь ексудації	9,60 ± 0,41	6,83 ± 0,83*	-28,8

Примітка. Тут і в табл. 3: *p ≤ 0,05 порівняно з контролем.

Таблиця 3

Антиноцицептивна активність сполуки 4 а у білих мишей на моделі оцтовокислих «корчів» (n = 6)

Параметр	Кількість «корчів» у контрольній групі (M ± m)	Кількість «корчів» у дослідній групі (M ± m)	Зміна до контролю, %
Антиноцицептивна дія	21,40 ± 0,41	15,57 ± 2,35*	-26,8

Поріг больової чутливості ($M \pm m$, с) та аналгезуюча активність (%) сполуки 4 а та целекоксибу на моделі карагенан-індукованого запалення в щурів

Група	Вихідне значення	Через 2 год після індукції запалення	Через 4 год після індукції запалення
Контроль, n = 18	13,60 ± 0,40	10,60 ± 0,70 [#]	11,50 ± 0,8 [#]
Відсоток до вихідного значення	-	-22,05	-15,44
Целекоксиб, n = 7	12,20 ± 1,60	15,40 ± 1,60*	15,30 ± 1,70*
Аналгезуюча активність, %	-	+45,28	+33,04
Сполука 4 а, n = 7	12,20 ± 1,60	13,20 ± 0,82*	13,30 ± 0,66*
Аналгезуюча активність, %	-	+24,52	+15,65

Примітка. Тут і в табл. 5: [#]p < 0,05 порівняно з вихідними даними, *p < 0,05 порівняно з даними тварин контрольної групи на відповідний термін спостереження.

Протинабрякова дія сполуки 4 а та целекоксибу на моделі карагенан-індукованого запалення в щурів

Група	Вихідне значення	Через 2 год після індукції запалення	Через 4 год після індукції запалення
Контроль, n = 18	1,43 ± 0,06	2,21 ± 0,05 [#]	2,40 ± 0,05 [#]
Відсоток до вихідного значення	-	+54,54	+67,83
Целекоксиб, n = 7	1,39 ± 0,04	1,90 ± 0,07*	2,0 ± 0,04*
Протинабрякова активність, %	-	-14,03	-16,67
Сполука 4 а, n = 7	1,36 ± 0,02	2,02 ± 0,11	2,04 ± 0,11*
Протинабрякова активність, %	-	-8,59	-15,00

активність, хоча вона є суттєво нижчою за активність ЦК. Достовірна антиноцицептивна активність сполуки 4 а на різних моделях больового синдрому («корчі», больовий синдром, індукований карагенаном) може бути свідченням різних механізмів реалізації її протибольового ефекту.

Через 2 год після індукції запалення сполука 4 а не проявляла протинабрякової дії. Фактично латентний період протизапальної дії новосинтезованої сполуки становив понад 3 год, а її ступінь була на рівні 15 % у щурів і 28 % у мишей. Різниця в силі протинабрякової дії сполуки 4 а у дослідках на мишах і щурах може бути свідченням видової чутливості, що потребує подальших досліджень.

Результати молекулярного докінгу щодо потенційної спорідненості до

ЦОГ-2 похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду та порівняльних досліджень з ЦК, як селективним інгібітором ЦОГ-2, дозволяють прогнозувати суттєву антиноцицептивну активність у сполук зазначеного хімічного ряду та передбачати, що один з механізмів цієї дії може бути опосередкований через взаємодію з ЦОГ-2. Отримані дані є свідченням перспективності пошуку активних сполук з властивостями інгібіторів ЦОГ-2 у зазначеному хімічному ряду.

Висновки

1. Синтезовано ряд похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл) бензенсульфонаміду конденсацією 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7H-азепіну з 4-амінобензенсульфонамідом і подальшим модифікуванням

- кінцевої аміногрупи. Будова всіх синтезованих сполук доведена за допомогою ПМР-спектрометрії.
- Молекулярний докінг синтезованих сполук показав, що базова молекула **3** і молекули з алкілацильними замісниками за аміногрупою **4 a**, **4 b** і **4 c** розміщуються в сайті зв'язування ЦОГ-2, що є характерним для ЦК. Їхня мінімальна E_{Doc} знаходиться в межах від -8,6 ккал/моль до -9,3 ккал/моль, що дає підставу досліджувати ці сполуки як потенційні інгібітори ЦОГ-2.
 - За результатами молекулярного докінгу виявлено, що введення амідноарильного фрагменту до базової молекули **3** не дозволяє цим сполукам (**5 d-h**) займати активний сайт ЦОГ-2.
 - Сполучі **4 a** притаманна суттєва

антиноцицептивна активність, про що свідчить значне підвищення ПБЧ за умов індукції болю карагеном і зменшення числа «корчів» у тварин, зумовлених введенням оцтової кислоти.

- Результати молекулярного докінгу щодо потенційної спорідненості до ЦОГ-2 похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонамідів та порівняльних досліджень з ЦК як специфічним інгібітором ЦОГ-2 дозволяють прогнозувати суттєву антиноцицептивну активність у сполук зазначеного хімічного ряду й передбачати, що один з механізмів цієї дії може бути опосередкований через взаємодію з ЦОГ-2.

- Котова О. В. НПВП: в поисках золотой середины – соотношение «безопасность / эффективность». Справочник поликлинического врача. 2013. № 1.
- Каратеев А. Е. Целекоксиб, эторикокиб, мелоксикам и нимесулид: достоинства и недостатки. ЭФ. Ревматология. Травматология. Ортопедия. 2011. № 1.
- Hawkey C. J. COX2 inhibitors. *Lancet*. 1999. V. 353. P. 307–314.
- Expression and selective inhibition of the constitutive and inducible forms of human cyclooxygenase. J. K. Gierse, S. D. Hauser, D. P. Creely et al. *Biochem. J.* 1995. V. 305. P. 479–484.
- Trott O., Olson A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. 2010. V. 31. P. 455–461.
- The Protein Data Bank: a computer-based archival file for macromolecular structures. F. C. Bernstein, T. F. Koetzle, G. J. B. Williams et al. *J. Mol. Biol.* 1977. V. 112. P. 535–542.
- Овчинникова Л. К., Овчинникова Е. А. Эффективность и безопасность селективных ингибиторов ЦОГ-2. *Новости медицины и фармации*. 2013. С. 13–14 (333–334).
- Каратеев А. Е. Что лучше для профилактики НПВП-гастропатии: коксибы или комбинация «традиционных» НПВП и гастропротектора? *РМЖ*. 2015. № 28. С. 673.
- URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2662>.
- Ацетали лактамов. VII. Исследование алкилирования N-метиллактамов и лактимных эфиров диметилсульфатом. В. Г. Граник, А. М. Жидкова, Н. С. Курятов и др. *ХГС*. 1973. № 11. С. 1532–1535.
- ACD/Structure Elucidator, version 2018.1, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, ON, Canada, www.acdlabs.com, 2019.
- Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації); за ред. О. В. Стефанова. Київ : Авіцена, 2001. 528 с.
- Wood R. L. Animal models in analgesic testing. *Analgesics: Neurochemical, Behavioral and Clinical Perspectives*; eds: M. Kuhar, J. Pasternak. New York : Raven Press, 1941. V. 42. P. 74.
- Тринус Ф. П., Мохорт Н. А., Клебанов Б. М. Нестероидные противовоспалительные средства. Київ : Здоров'я, 1975. 240 с.
- D'Amour F. E., Smith D. L. A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther*. 1941. V. 72, № 1. P. 74–78.
- Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистика в науке и бизнесе. Киев : Морион, 2002. 640 с.

С. А. Демченко, О. Ю. Баглай, Н. М. Серединська, О. Є. Ядловський, А. Є. Зелінська, Т. А. Бухтіарова, Л. С. Бобкова, А. М. Демченко
Синтез похідних бензенсульфонамідів і вивчення їхньої спорідненості до циклооксигенази-2 методом молекулярного докінгу

Відповідно до сучасних уявлень, інгібіцію циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) розглядають як один з важливих механізмів протизапальної активності нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП). Тому пошук нових НПЗП, селективних до ЦОГ-2, є дуже актуальним завданням.

Мета дослідження – синтезувати й оцінити потенційну спорідненість до ЦОГ-2 похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонамідів порівняно з целекоксибом (ЦК) – відомим селективним інгібітором ЦОГ-2 на етапі первинного молекулярного докінгу.

Кип'ятінням еквімолярних кількостей 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7H-азепіну та 4-амінобензенсульфонамідів в толуолі синтезовано 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонамід. Подальшим модифікуванням кінцевої аміногрупи синтезовані відповідні ацил-(**4 а-с**) і ароїл- похідні (**5 d-h**).

Визначено, що всі сполуки показують хороші значення вільної енергії зв'язування з сайтами ЦОГ-2. Проте базова молекула **3** і сполуки **4 а-с** займають положення в ніші, що є характерною для ЦК. Їхня мінімальна вільна енергія зв'язування знаходиться в межах від -8,6 ккал/моль до -9,3 ккал/моль, що дає підставу досліджувати ці сполуки як потенційні інгібітори ЦОГ-2.

Експериментальну верифікацію прогнозу протизапальної та анальгезуючої активності похідних бензолсульфонамідів було проведено на прикладі найактивнішої сполуки **4 а** з використанням білих мишей і шурів. Протизапальну активність сполуки **4 а** досліджували на моделі карагенанового набряку, а антиноцицептивну дію на моделі висцерального болю та більшої реакції, індукованої карагенаном. Порівняльні дослідження сполуки **4 а** з ЦК дозволяють передбачити, що один з механізмів протизапальної дії похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонамідів може бути реалізований шляхом взаємодії з ЦОГ-2. Отримані дані є свідченням перспективності пошуку активних сполук з властивостями інгібіторів ЦОГ-2 у зазначеному хімічному ряду.

Ключові слова: інгібітори циклооксигенази-2, похідні 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонамідів, молекулярний докінг

С. А. Демченко, А. Ю. Баглай, А. Е. Зелинская, Н. Н. Серединская, О. Е. Ядловский, Т. А. Бухтиарова, Л. С. Бобкова, А. М. Демченко
Синтез производных бензолсульфонамида и изучение их средства к циклооксигеназе-2 методом молекулярного докинга

Согласно современным представлениям, ингибирование ЦОГ-2 рассматривают как один из важнейших механизмов противовоспалительной активности нестероидных противовоспалительных средств (НПВС). Поэтому поиск новых НПВС, селективных к ЦОГ-2, является очень актуальной задачей.

Цель исследования – синтезировать и оценить потенциальное средство к ЦОГ-2 производных 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензолсульфонаміда в сравнении с целекоксибом (ЦК) – известным селективным ингибитором ЦОГ-2 на этапе первичного молекулярного докинга.

Кипячением эквимолярных количеств 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7H-азепіна и 4-амінобензолсульфонаміда в толуоле синтезирован 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензолсульфонамід. Дальнейшей модификацией конечной аминогруппы синтезированы соответствующие ацил-(**4 а-с**) и ароїлпроизводные (**5 d-h**).

Показано, что все соединения показали хорошие значения свободной энергии связывания с сайтами ЦОГ-2. Так, базовая молекула **3** и соединения **4 а-с** занимают положения в нише, которая является характерной для ЦК. Их минимальная свободная энергия связывания находится в области от -8,6 ккал/моль до -9,3 ккал/моль, что дает обоснование исследовать эти соединения как потенциальные ингибиторы ЦОГ-2.

Экспериментальная верификация прогноза противовоспалительной и анальгезирующей активности была проведена на примере соединения **4 а** с использованием белых мышей и крыс. Противовоспалительную активность соединения **4 а** исследовали на модели карагенанового отека, а антиноцицептивную активность – на модели висцерального болевого синдрома и боли, индуцированной введением карагенана. Сравнительные исследования соединения **4 а** с ЦК дали возможность предполагать, что один из механизмов противовоспалительной активности производных 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензолсульфонаміда может быть реализован путем взаимодействия с ЦОГ-2. Полученные результаты являются свидетельством перспективности поиска активных соединений со свойствами ингибиторов ЦОГ-2 в указанном химическом ряду.

Ключевые слова: ингибиторы циклооксигеназы-2, производные 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензолсульфонаміда, молекулярный докинг

S. A. Demchenko, A. Yu. Baglay, A. E. Zelinskaya, N. N. Seredinskaya, O. E. Yadlovsky, T. A. Bukhtiarova, L. S. Bobkova, A. M. Demchenko
Synthesis of benzenesulphonamide derivatives and study of their affinity for COX-2 by the molecular docking

According to modern views, COX-2 inhibition is observed as one of the most important mechanisms of anti-inflammatory activity of non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs). This is why search for new NSAIDs selective to COX-2 is a very relevant task.

The aim of the research is to synthesize and study an affinity of 4-amіно-N-(4,5,6,7-tetrahydro-3H-azepin-2-il)-benzenesulphonamide derivatives to COX-2 receptor compared with celecoxibe – known selective COX-2 inhibitor on the stage of primary molecular docking.

By boiling equimolar quantities of 2-metoxi-3,4,5,6-tetrahydro-7H-azepine and 4-aminobenzosulphonamide in tholuene, 4-amino-N-(4,5,6,7-tetrahydro-3H-azepine-2-il)-benzolosulphonamide was synthesized. By further modifications of final amino group, corresponding acyl-(**4 a-c**) and aroil derivatives (**5 d-h**) were synthesized.

There were indicated, that all compounds showed good values of affinity to cyclooxygenase 2. The basic molecule **3** and compounds **4 a-c** occupy position in niche, which characterizes celecoxibe. Their minimal free binding energy is located between -8,6 kcal/mol and 9,3 kcal/mol, which gives a basis to evaluate these compounds as potential COX-2 inhibitors. Experimental verification of anti-inflammatory and analgesic activity forecast was conducted on example of compound **4 a**, using white mice and rats. Anti-inflammatory activity of compound **4 a** was researched on carrageenan model and antinociceptive activity – on model of visceral pain syndrome and carrageenan induced pain. Comparative study of **4 a** compound and celecoxibe gave possibility to assume, that one of the mechanisms of anti-inflammatory activity of 4 amino-N-(4,5,6,7-tetrahydro-3H-azepin-2-il)-benzensulphonamides derivatives can be realized by interaction with COX-2. The results obtained indicate the prospect of searching for active compounds as COX-2 inhibitors in pointed chemical range.

Key words: cyclooxygenase 2 inhibitors, 4-amino-N-(4,5,6,7-tetrahydro-3H-azepin-2-il)- benzolosulphonamide derivatives, molecular docking

Надійшла: 15 листопада 2019 р.

Прийнята до друку: 12 лютого 2020 р.

Контактна особа: Демченко А. М., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 42 56.