

**Міністерство освіти і науки України
Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя
Природничо-географічний факультет**

Кафедра хімії та фармації

Магістерська робота на тему:

**«ПОШУК НОВИХ СЕЛЕКТИВНИХ ІНГІБІТОРІВ
ЦИКЛООКСИГЕНАЗИ П СЕРЕД 4-АМІНО-N-(4,5,6,7-ТЕТРАГІДРО-3Н-
АЗЕПІН-2-ЇЛ)-БЕНЗЕНСУЛЬФОНАМІДІВ»**

Виконала:

студентка другого (магістерського) рівня,
групи Хкм-61

Освітньо-професійної програми «Хімія,
медична та фармацевтична хімія»

зі спеціальності 102 Хімія

Зелінська Анна Євгенівна

Науковий керівник:

д.фарм.н., проф. Демченко А.М.

Рецензенти:

д.хім.н., проф. Суховєєв В.В.

к.хім.н., доц. Семеніхін А.В.

ЗМІСТ

	С.
Вступ	3
Розділ 1. ПОШУК НОВИХ НЕСТЕРОЇДНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ СЕЛЕКТИВНИХ ІНГІБІТОРІВ ЦОГ-2.....	6
.	
1.1 Основні шляхи пошуку нових лікарських препаратів	6
1.2 Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) як інгібітори циклооксигенази	8
1.3 Целекоксиб як приклад селективного НПЗП	11
1.4 Розширення перспектив направленої синтезу завдяки моделюванню активних речовин	14
Розділ II. Матеріали та методи	18
Розділ III. ПОШУК НОВИХ СЕЛЕКТИВНИХ ІНГІБІТОРІВ ЦИКЛООКСИГЕНАЗИ II СЕРЕД 4-АМІНО-N-(4,5,6,7-ТЕТРАГІДРО- 3Н-АЗЕПІН-2-ЇЛ)-БЕНЗЕНСУЛЬФОНаМІДІВ.....	21
.	
Висновки	43
Список використаних джерел	44
Додатки	48

ВСТУП

Дослідження механізмів болю, знеболювальної та протизапальної дії нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗП) та неопіоїдних анальгетиків лежать в основі оптимізації пошуку нових лікарських засобів та розробки підходів до прогнозування рівня їх фармакологічної активності.

На сьогодні визнано, що механізм протизапальної та знеболювальної дії НПЗП пов'язаний з пригніченням ферменту циклооксигенази (ЦОГ), що регулює біотрансформацію арахідонової кислоти в простагландини (ПГ) і простацикліни (ПЦ), як основні медіатори запалення та болю. Пригнічення активності циклооксигеназ зменшує утворення простагландинів E2 (ПГЕ2) і простациклінів (ПЦ), усуваючи їх сенсibiliзуючий вплив на больові рецептори, зменшуючи реакцію на брадикінін та інші медіатори запалення.

Сучасні підходи до створення нових лікарських препаратів характеризуються чітко визначеною тенденцією переходу до науково обґрунтованих віртуальних методів для раціонального відбору оптимальної біоізостерної сполуки для синтезу та наступних досліджень. Один із основних напрямків виконуваних досліджень пов'язаний з використанням методів *in silico* для аналізу даних, планування експериментів та обробки їх результатів. Серед методів *in silico* метод молекулярного моделювання (молекулярний докінг) дозволяє прогнозувати орієнтацію, найбільш вигідну для утворення стійкого комплексу, та особливості положення молекули потенційного препарату по відношенню до білка.

Згідно до сучасних уявлень, інгібіцію ЦОГ-2 розглядають як один із важливих механізмів протизапальної активності НПЗП. Целекоксиб, як один з селективних інгібіторів ЦОГ-2, був вибраний у якості препарату порівняння для *in silico* досліджень. Використання методу молекулярного докінгу дозволило провести віртуальний скринінг досліджуваних молекул за результатами їх взаємодії з ЦОГ-2 (енергії зв'язування, оцінка рівня зв'язування з білком, амінокислотний склад сайту зв'язування тощо), сформуванати рейтинг сполук та

обґрунтувати вибір нових потенційних інгібіторів ЦОГ-2. Підходи, засновані на пошуку нових інгібіторів ЦОГ-2, є ефективною і статистично надійною альтернативою для драг-дизайну як цілеспрямованого пошуку нових потенційних препаратів для регулювання болю і запалення.

Актуальність теми.

Необхідність пошуку нових нестероїдних протизапальних препаратів селективних до ЦОГ-2, у зв'язку з наявністю серйозної побічної дії відомих на сьогодні препаратів цієї групи, є актуальною хіміко-фармацевтичною задачею.

Мета роботи: Синтез та аналіз похідних 4-аміно-*N*-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-їл)-бензенсульфонаміду з потенційною аналгетичною та протизапальною активністю на основі структурної оптимізації та молекулярного докінгу.

Для досягнення мети роботи поставлені наступні завдання:

1. Опрацювати доступні літературні джерела з метою встановлення механізмів дії сучасних НПЗП, принципів молекулярного моделювання та направленої синтезу.
2. Синтезувати нові похідні 4-аміно-*N*-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-їл)-бензенсульфонаміду для подальших досліджень їх потенційної біологічної активності.
3. Провести аналіз отриманих сполук методом ядерного магнітного резонансу на ядрах протонів та здійснити інтерпретацію результатів.
4. Змоделювати отримані структури за допомогою програмного забезпечення. Провести оптимізацію їх геометрії та здійснити докінг-аналіз на предмет можливості інгібувати циклооксигеназу-2.
5. Провести аналіз результатів моделювання та встановити перспективність подальшого дослідження фармакологічних властивостей цих сполук.

Предмет дослідження: Афінність до рецептору ЦОГ-2 похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їл)-бензенсульфонаміду.

Об'єкт дослідження: Нові похідні 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їл)-бензенсульфонаміду, як можливі інгібітори ЦОГ-2.

Наукова новизна одержаних результатів: Синтетична частина роботи виконана у відділі медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» під керівництвом Демченка А.М. Синтезовано 9 нових похідних азепінілбензенсульфонаміду. Проведений молекулярний докінг синтезованих похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їл)-бензенсульфонаміду в рецептор циклооксигенази II (ЦОГ-2). Показана можливість похідних азепінілбензенсульфонаміду вбудовуватись в активний сайт рецептору, як і відомий селективний інгібітор Целекоксиб, що дає підставу досліджувати ці сполуки як потенційні інгібітори ЦОГ-2.

Практичне значення одержаних результатів: Результати дослідження можуть бути основою для створення нових НПЗП селективних до ЦОГ-2.

Особистий внесок дослідника: студентом під керівництвом наукового керівника виконана експериментальна частина роботи. Ідея розробки належить науковому керівникові. Обговорення результатів дослідження, вдосконалення структури роботи, формулювання висновків проводились разом з керівником.

Апробація результатів дослідження: Результати дипломної роботи опубліковані в матеріалах II науково-практичної internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 2019).

Структура і обсяг магістерської роботи. Робота викладена на 49 сторінках і включає вступ, три розділи, висновки, список використаних джерел та додатки.

РОЗДІЛ I. ПОШУК НОВИХ НЕСТЕРОЇДНИХ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ СЕЛЕКТИВНИХ ІНГІБІТОРІВ ЦОГ-2

1.1 Основні шляхи пошуку нових лікарських препаратів

На сьогодні створення лікарських засобів є одним із основних напрямків розвитку сучасних технологій. Одним із важливих аспектів сфери виготовлення ліків є розробка та пошук нових, невідомих досі, діючих речовин лікарських засобів.

Історично першим способом отримання (виробництва) ліків була переробка природної сировини. Наявність у компонентів тих або інших властивостей встановлювали шляхом спостережень за навколишнім світом, зазвичай, не знаючи безпосередніх хімічних формул та механізмів дії. Важливо, що деякі рослини, мінерали та інші види природної сировини містять у собі компоненти, які позитивно впливають у тих чи інших ситуаціях, наприклад знижують жар чи прибирають больовий синдром. Природні органічні та неорганічні сполуки виділяли з такої сировини різними методами та використовували для виготовлення лікарських засобів. Сьогодні така практика також широко застосовується, за виключенням того, що механізми дії більшості подібних речовин вивчені та методи виділення їх з природної сировини дещо осучаснилися. Приклади таких сполук наведено нижче:

- Мінеральні сполуки (магній сульфат, натрій сульфат).
- Тканини і органи тварин (інсулін, препарати гормонів щитовидної залози, ферментні препарати, речовини, що регулюють травлення).
- Рослини (серцеві глікозиди, морфін, резерпін).
- Мікроорганізми (пеніцилін, цефалоспорини, макроліди та ін.)

Фактично переломним етапом у фармакології стало те, що людство, приблизно із середини 19-го сторіччя, досягло такого рівня технічного прогресу, коли діючі речовини лікарських засобів стало можливо одержувати синтетичним шляхом. Нині величезна кількість фармацевтичних препаратів є продуктами

хімічного синтезу.

Наступним важливим історичним періодом є стрімкий розвиток науки, починаючи з другої половини 20-го століття, а саме важливі досягнення в області органічної та фармацевтичної хімії, біотехнології, генної інженерії, удосконалення фізико-хімічних та біотехнологічних методів дослідження. Вони дозволили перейти до цілеспрямованого пошуку цікавих для людини хімічних сполук, які можна було б використати як лікарські засоби.

Цілеспрямований пошук конкретних груп діючих речовин лікарських засобів ґрунтується на встановленні зв'язку між фармакологічною дією та їх фізичними властивостями [1].

Сучасний пошук діючих речовин проводиться трьома основними шляхами: емпіричним, шляхом направленої синтезу та шляхом цілеспрямованого синтезу.

Емпіричний напрямок включає в себе скринінг та випадкові знахідки. Основою цього шляху лежить метод перебору, при якому науковці беруть ряд хімічних сполук і визначають за допомогою набору біологічних тестів на різних рівнях організації живого організму і встановлюють наявність або відсутність у них певної фармакологічної активності. Зокрема, наявність протимікробної активності визначають на мікроорганізмах. Потім серед досліджуваних хімічних речовин вибирають найбільш активні і порівнюють ступінь їх фармакологічної активності і токсичності з існуючими лікарськими засобами, котрі використовуються в якості стандарту. Такий шлях відбору активних речовин отримав назву лікарського скринінгу (від англ. Screen - відсівати, сортувати). Великий спектр препаратів був впроваджений в медичну практику в результаті випадкових знахідок.

Направлений синтез базується на отриманні сполук з певним видом фармакологічної активності. Початковий етап такого синтезу полягає у відтворенні речовин, що утворюються в живих організмах. Таким шляхом були одержано адреналін, норадреналін, ряд гормонів, простагландини та вітаміни. На

наступному кроці проводять хімічну модифікацію вже відомих молекул, що дозволяє створити лікарські речовини наділені більш вираженим фармакологічним ефектом, селективністю і меншою побічною дією. Таким шляхом дуже часто йдуть хіміки-синтетики замінюючи в існуючій сполучі один радикал іншим, вводять до складу вихідної молекули інші хімічні елементи або проводять інші модифікації [2].

Цілеспрямований синтез лікарських речовин передбачає пошук сполук з наперед заданими фармакологічними характеристиками. Створення нових препаратів з прогнозованою активністю найчастіше відбувається у межах того ж класу хімічних сполук, де вже є відома направленість дії речовини. Суттєві складнощі викликає підбір речовин серед малодосліджених класів хімічних сполук, зокрема через відсутність необхідних первинних даних про зв'язок фармакологічної активності зі структурою речовини. В цьому випадку необхідно одержати додаткові відомості вищезгадані властивості.

Подальша робота вже з обраною сполучою часто полягає в її наступній хімічній модифікації, метою якої є покращення розчинності у ліпідах та воді шляхом додавання певних замісників. У найкращому випадку синтезована речовина має бути розчинною одночасно і в воді, і в жирах, з тією метою, щоб вона могла всмоктатися в кров, та перейти з неї через гематотканинні бар'єри в тканини і клітини і потім вступити в зв'язок з клітинними мембранами або проникнути через них всередину клітини і з'єднатися з молекулами ядра і цитозоля [3].

1.2. Нестероїдні протизапальні препарати як інгібітори циклооксигенази

Циклооксигеназа (ЦОГ) - поширена назва гемвмісного, пов'язаного з клітинною мембраною ферменту, що відповідальний за синтез простаноїдів, включаючи тромбоксан і простагландини. В даний час визнано існування двох ізоформ ферменту: ЦОГ-1 і ЦОГ-2, які незначно відрізняються за молекулярною масою. ЦОГ каталізує реакцію перетворення арахідонової кислоти в

простагландин H₂ (PGH₂), попередник інших простагландинів, простацикліну і тромбоксану A₂ [4 – 6].

Простагландини (PG) - клас фізіологічно активних речовин які утворюються в організмі шляхом ферментації арахідонової, гамма-ліноленової і ейкозапентаєнової жирних кислот і містять 20-членний карбоновий ланцюг. Простагландини є медіаторами з вираженим фізіологічним ефектом.

ЦОГ-1 і ЦОГ-2 складаються з надзвичайно подібної одне до одної амінокислотної послідовності, каталітичні сайти також дуже схожі. Молекулярна маса мало відрізняється у ЦОГ 1 вона 70 кДа , а у ЦОГ 2 - 72 кДа. Незважаючи на високий ступінь ідентичності важливою відмінністю є те, що ЦОГ-1 в 523 положенні містить більш гідрофобну амінокислоту – ізолейцин, натомість ЦОГ-2 у аналогічному становищі містить валін.

Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) - лікарські засоби, які найбільш широко застосовуються для контролю запальних процесів та зниження больового синдрому за рахунок інгібування циклооксигеназ ЦОГ-1 і ЦОГ-2 - ферментів, відповідальних за синтез простагландинів (ПГ). Перевагами НПЗП є те, що вони не викликають звикання, поєднують анальгетичні та антипіретичні ефекти та мають протизапальний ефект, за рахунок чого є одними з найпоширеніших лікарських засобів у світі.

НПЗП мають надзвичайну клінічну значимість через поширеність та універсальність запальних процесів, що можуть активуватись великим переліком різних антигенних стимулів: бактеріями, паразитами, вірусами, аутоантигенами, ендотоксинами та ін.

Гіпотези Вейна [7] щодо різної ролі ЦОГ-1 і ЦОГ-2 в фізіологічних і патологічних процесах привели до створення нових протизапальних засобів і сприяли проведенню повної переоцінки вже існуючих НПЗП. За фармакодинамікою НПЗП відрізняються своєю здатністю інгібувати ЦОГ-1 і ЦОГ-2 по різному. ЦОГ-1 є конститутивною і безперервно відіграє важливе значення у ряді важливих фізіологічних процесів: згортання крові, нормалізація

кровообігу, вироблення захисних факторів слизової оболонки шлунково-кишкового тракту (ШКТ) – простациклінів. ЦОГ-2 є індукцйбельною - за нормальних умов є неактивною і демонструє свої ефекти переважно при виникненні запального процесу.

Відмінності ролі ЦОГ-1 і ЦОГ-2 в організмі людини спонукали до створення цілого спектру нових НПЗП та детального дослідження раніше створених ЛЗ цього типу. Тому зараз доцільним є пошук нових, більш безпечних НПЗП селективних до ЦОГ-2. Дослідження деяких НПЗП продемонстрували їх як помірну (мелоксикам, целекоксиб), так і високу (рофекоксиб) селективність до ЦОГ-2 і вищий ступінь гастроінтестинальної безпеки [8].

Ускладнення з боку ШКТ є одними з найпоширеніших проявів побічної дії (8,5%) при застосуванні НПЗП. Цей факт додатково демонструє актуальність пошуку селективних до ЦОГ-2 препаратів [9].

Проте відомі селективні інгібітори ЦОГ-2 не проявили свою цілковиту безпечність до ШКТ. Згідно з даними масштабного дослідження у 2013 році, в якому оцінювали ризик розвитку побічних реакцій з боку серцево-судинної системи і шлунково-кишкового тракту при застосуванні диклофенаку, ібупрофену, напроксену та коксибів, останні показали незадовільні результати через ризик розвитку побічних реакцій з боку шлунково-кишкового тракту, де повинні були б демонструвати очевидну перевагу в порівнянні з неселективними НПЗП [10].

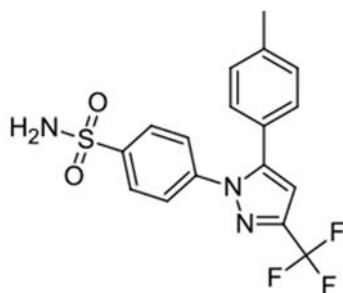
Згідно з результатами зазначеного дослідження, коксиби не відрізнялися від диклофенаку за частотою ураження шлунково-кишкового тракту.

Застосування селективних НПЗП може викликати ускладнення пов'язані із серцево-судинною системою. Подібні негативні ефекти можуть бути пояснені декількома теоріями. Перша теорія базується на тому факті, що селективний до ЦОГ-2 НПЗП порушує фізіологічну рівновагу синтезу тромбоксану (протромботичного агента) по відношенню до простацикліну (антитромботичного агента). Синтез тромбоксану здійснюється тромбоцитами, які містять тільки ЦОГ-

1. Натомість синтез простацикліну відбувається в ендотелії. Таким чином, при застосуванні ЦОГ-2-селективних НПЗП синтез простацикліну знижується і динамічна рівновага зміщується у напрямку згортання крові [11, 12]. Друга теорія пояснює причину ускладнень через нестабільності атеросклеротичних бляшок за рахунок окиснення ліпідів [13]. Зокрема еторикоксиб і рофекоксиб можуть спричинити омиленням холестерину який формує бляшку, як наслідок вона збільшується у розмірах, що може загрожувати вторинною емболією.

1.3 Целекоксиб як приклад селективного НПЗП

Целекоксиб (рис. 1.1) - лікарський засіб, представник нового покоління НПЗП, відноситься групи коксибів – селективних інгібіторів ЦОГ-2. Препарат демонструє виражену протизапальну і аналгетичну дію [14]. Призначається для лікування остеоартриту, ревматоїдного артрити, при гострих болях, болісних менструаціях і менструальних симптомах, а також для зменшення кількості поліпів товстої і прямої кишки.



Систематична назва:

4-[5-(4-Метилфенил)-3-(трифторметил)-1Н-піразол-1-ил]бензолсульфонамід

Брутто-формула: C₁₇H₁₄F₃N₃O₂S

Рис. 1.1. Целекоксиб, представник селективних інгібіторів ЦОГ-2

Неселективні НПЗП (такі як аспірин, напроксен та ібупрофен) інгібують як ЦОГ-1, так і ЦОГ-2. Інгібування ЦОГ-1 (який целекоксиб не інгібує в терапевтичних концентраціях) знижує вироблення простагландинів та вироблення тромбоксану А₂, активатора тромбоцитів. ЦОГ-1 відіграє роль у захисті слизової шлунково-кишкового тракту, гемодинаміці нирок та тромбогенезі тромбоцитів. ЦОГ-2, навпаки, широко експресується в клітинах, що беруть участь у запаленні, і регулюється бактеріальними ліпополісахаридами, цитокінами, факторами росту та промоторами пухлини.

Целекоксиб приблизно в 10-20 разів більш селективний для інгібування ЦОГ-2 щодо ЦОГ-1. [15–18]. Він зв'язується зі своїм бічним ланцюгом полярного сульфонаміду до гідрофільної області, близької до активного сайту зв'язування ЦОГ-2. [19] Теоретично ця селективність дозволяє целекоксибу та іншим інгібіторам ЦОГ-2 знижувати запалення (та біль), зводячи до мінімуму негативні реакції на шлунково-кишковий тракт (наприклад, виразки шлунка), які є загальними для неселективних НПЗП.

Для розробки нових селективних інгібіторів циклооксигенази у формі ЦОГ-2 важливим є механізм інгібування. У процесі інгібування утворюється комплекс інгібітора з активними сайтами фермента та відбувається інгібування його дії. Наведена на рис. 2 структура ЦОГ-2 з інгібітором у активному центрі ілюструє типовий механізм роботи нестероїдних протизапальних препаратів.



Рис. 2. Структура комплексу ЦОГ-2 з селективним інгібітором ЦОГ-2 у активному центрі [20]

Взаємодії між субстратом (молекулою ЦОГ) та лігандом (інгібітор) можна описати за супрамолекулярним механізмом «гість-хазяїн» і відповідно розглядати з точки зору супрамолекулярної хімії. Типові зв'язки, які грають роль

у взаємодіях такого типу, це водневі зв'язки, зв'язки Ван-дер-Ваальса, гідрофобні та електростатичні взаємодії. Прорахувати та передбачити подібні взаємодії найефективніше саме за рахунок комп'ютерного моделювання. Дослідження в сфері супрамолекулярної хімії дають змогу реалізувати такі розрахунки за допомогою спеціальних комп'ютерних систем.

Синтез целекоксибу передбачає використання наступних механізмів: 1,3-диполярне циклоприєднання, реакції сполучення, реакції конденсації

Використання механізму 1,3-диполярного циклоприєднання є однією з корисних стратегій в синтетичній органічній хімії для формування різних гетероциклічних структур [21]. Цей механізм широко використовується у органічному синтезі і часто є важливим кроком у регіонально-селективній побудові п'ятичленного кільця [22]. Типовий спосіб, що веде до циклізації, 1,3-диполярне/[2 + 3] -диполярне циклоприєднання- це взаємодія 1,3-диполя з диполярофілом в узгодженій формі.

Реакція конденсації є прикладом органічної реакції, де дві молекули або фрагменти контактують і об'єднуються з утворенням однієї молекули. Конденсації зазвичай асоціюються з втратою малих молекул (наприклад, води) [23]. Реакції конденсації мають важливе значення в органічному синтезі і широко використовуються в синтезі гетероциклічних кілець різних розмірів.

Один з перших задокументованих результатів синтезу та біологічної оцінки целекоксибу повідомили Penning з колегами [24]. Ці результати викликали великий інтерес науковців, що призвело до ґрунтовного дослідження декількох піразолів та інших гетероциклів, що представляють біомедичний інтерес.

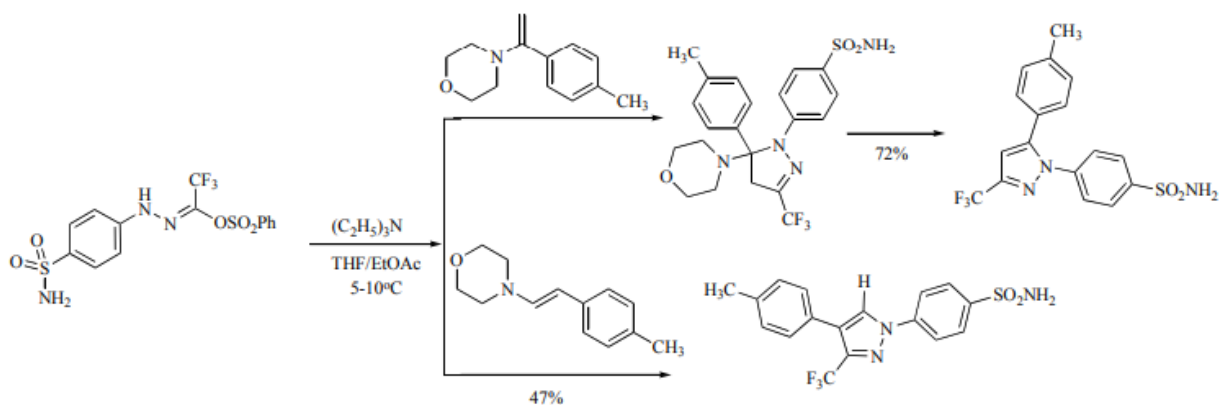


Рис. 3 Схема синтезу целекоксибу [25]

1.4. Розширення перспектив направлено синтезу завдяки моделюванню активних речовин

Одною з основних проблем з якою стикаються фахівці в галузі органічного синтезу є пошук шляхів для оптимізації робочого процесу, який може бути досягнутий зміною підходу до синтезу речовин із наперед прогнозованими властивостями на основі комп'ютерного молекулярного моделювання. Таким чином, ключем до вирішення проблеми попереднього прогнозування перспективних хімічних сполук, з наперед заданими властивостями, є розвиток існуючих теоретичних підходів до моделювання та їх використання для направлено синтезу у різних галузях хімії. Для попереднього моделювання структури основною умовою має бути наявність нерозривного зв'язку із заданими властивостями і подальшим експериментальним підтвердженням.

Зараз відома низка робіт присвячених молекулярному дизайну сполук у направлено синтезі, що використовують дані самих речовин так і дані про сполуки з якими вони взаємодіють і використовують різноманітні шляхи підбору дескрипторів, що визначають властивості речовини, а також способів їх порівняння [26–31].

Значне розділення методів пошуку потенційно активних сполук для подальшого направлено синтезу полягає у різних підходах до моделювання їх

активності.

Ситуація 1. Дослідник не володіє жодною інформацією стосовно експериментальних даних про механізм прояву шуканої активності або навіть структуру обох вихідних речовин. У такому випадку доводиться використовувати непрямі дані. У такому підході певні експериментально визначені показники активності безпосередньо пов'язані зі структурною інформацією [32–34].

Ситуація 2. Коли відомі експериментальні дані про структури взаємодіючих субстратів як активної речовини, так і мішені. У такому разі, використовують математичні і хімічні інструментами, дослідник може змодельовати фізичну картину взаємодії субстратів і розрахувати енергію такої взаємодії, зобразити її і розрахувати ступінь прояву шуканої активності досліджуваної сполуки. Підходи, що ґрунтуються на знанні структури взаємодіючих молекул особливо ефективні, коли до інформації про структуру додається знання про структуру активного центру рецептора, відповідального за цільову активність.

При проведенні молекулярного моделювання властивостей потенційної діючої речовини важливе місце займає метод молекулярного докінгу або молекулярного стикування. Цей метод застосовується для встановлення оптимальної структури та оптимального положення однієї молекули відносно іншої при їх взаємодії, для отримання комплексної сполуки з максимальною стійкістю комплексу. Молекулярний докінг – це один із найпрогресивніших методів передбачення утворення найбільш перспективних термодинамічно стабільних комплексів, що базується на оцінці найбільш вигідної орієнтації та конформації ліганда по відношенню до центру зв'язування рецептора і це дає можливість певною мірою спрогнозувати міжмолекулярну взаємодію. Згідно основних законів термодинаміки вільна енергія утворених комплексів має бути мінімальною.

Першою роботою в якій була використана достатньо примітивна з точки

зору сьогодні комп'ютеризована побудова молекулярної моделі для дослідження взаємодії гемоглобіну в серповидно-клітинних волокнах і була опублікована в 1975 році. [35]. Комп'ютерні розрахунки тоді базувалися лише на спрощеній взаємодії білків і не враховували електростатичні взаємодії, і можливість утворення водневих зв'язків. У 1990-х обчислювальні можливості зрости і це дозволило враховувати вже електростатичні взаємодії.

Зараз область молекулярного моделювання широко застосовується у області створення біологічно активних сполук як інгібіторів чи активаторів певних білків. Тому терапевтична дія певних речовин пояснюється їх компліментарністю до біологічної мішені живого організму. Завдяки тривалому накопиченню даних зараз науковці у вільному доступі мають 3D-структури основних мішеней.

Особливо важливим метод докінгу є коли проводяться дослідження комплексів за участю складних біологічних макромолекул, наприклад протеїнів, нуклеїнових кислот, складних полісахаридів. Зокрема методи докінгу активно використовуються і для передбачення структури чи потенційних терапевтичних властивостей нових молекул, які заплановано використовувати як діючі речовини лікарських засобів, ефект яких повинен базуватись на супрамолекулярних взаємодіях типу «гість-хазяїн» зі складними біомолекулами такими як пептиди, антитіла та ферменти.

Завдяки докінгу суттєво полегшується мета направленої синтезу, тобто синтез тільки тих сполук які мають афінність до мішені. У більшості випадків ми отримуємо не ковалентний комплекс ліганду з білком, що впливає на його активність. Залишається необхідним передбачити міцність, структуру такого комплексу та оцінити енергетичні ефекти комплексоутворення.

Для розробки діючих речовин нестероїдних протизапальних препаратів, принцип дії яких базується на селективному інгібуванні циклооксигеназ докінг має важливе значення, адже інгібування ЦОГ передбачає взаємодії саме такого типу. Приклади використання методів докінгу в таких дослідженнях наведені у

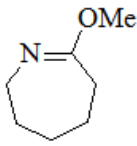
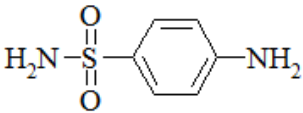
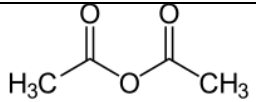
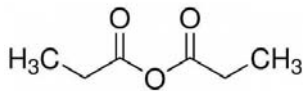
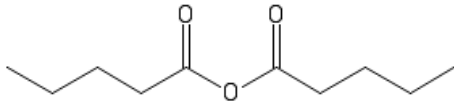
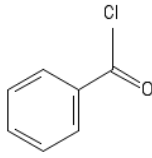
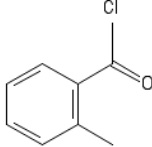
багатьох дослідженнях вітчизняних та зарубіжних науковців. Smaranda Dafina Oniga з колегами на базі Університету медицини та фармації імені Керол Девіла, Бухарест, Румунія провели ряд досліджень 2-(триметоксіфеніл)-тіозолів для встановлення їх впливу на циклооксигеназу [36] та встановили наявність інгібуючого впливу ряду сполук на ЦОГ1/2 та деякі селективні інгібітори ЦОГ-2аналогічні до мелоксікаму. Аналогічно доктор медичних наук Jahangir Alam з колегами досліджували інгібування ЦОГ методами докінгу для ряду похідних піразолу та встановили ряд потенційно селективних інгібіторів ЦОГ-2.[37]

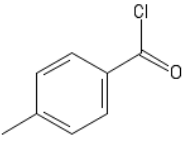
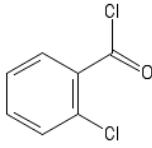
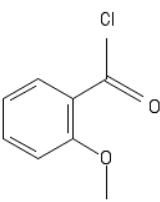
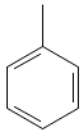
Таким чином, огляд літературних джерел висвітлює сучасні тенденції стосовно пошуку нових лікарських препаратів, а саме перехід до науково обґрунтованих віртуальних методів для раціонального відбору оптимальної біоізостерної сполуки для синтезу та наступних досліджень. Показана необхідність створення нових селективних інгібіторів ЦОГ-2. Отже, синтез нових похідних азепінілбензенсульфонаміду має не лише науковий, а й прикладний інтерес.

РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для проведення синтетичної частини роботи використовувалися вихідні речовини, структура та назва яких наведена у табл. 2.1.

Таблиця 2.1. Вихідні сполуки для синтезу похідних азепінілбензенсульфонаміду.

№	Назва сполуки	Структурна формула	Мол. маса (г/моль)
1	2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7H-азепін		113
2	4-амінобензенсульфонамід		172
3	оцтовий ангідрид		102
4	пропіоновий ангідрид		132
5	ангідрид пентанової кислоти		186
6	бензоїлхлорид		140
7	2-метилбензоїлхлорид		154.5

8	4-метилбензоїлхлорид		154.5
9	2-хлорбензоїлхлорид		175
10	4-метоксибензоїлхлорид		170.5
11	толуол		92

2-Метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7Н-азепін 1 одержано алкілуванням капролактаму диметилсульфатом за методом [38]. Структурну відповідність сполук встановлювали методом ядерного магнітного резонансу на ядрах ^1H . Спектри ПМР були зареєстровані на спектрометрі Bruker DRX -300, робоча частота 299,945 МГц, внутрішній стандарт ТМС в розчині DMSO-d₆. Контроль за чистотою синтезованих сполук здійснювався за допомогою ТХС на пластинках Silufol UV -254 в системі хлороформ - метанол 9:1. Ліпофільність (LogP) синтезованих сполук була розрахована за допомогою програми ACD LogP.

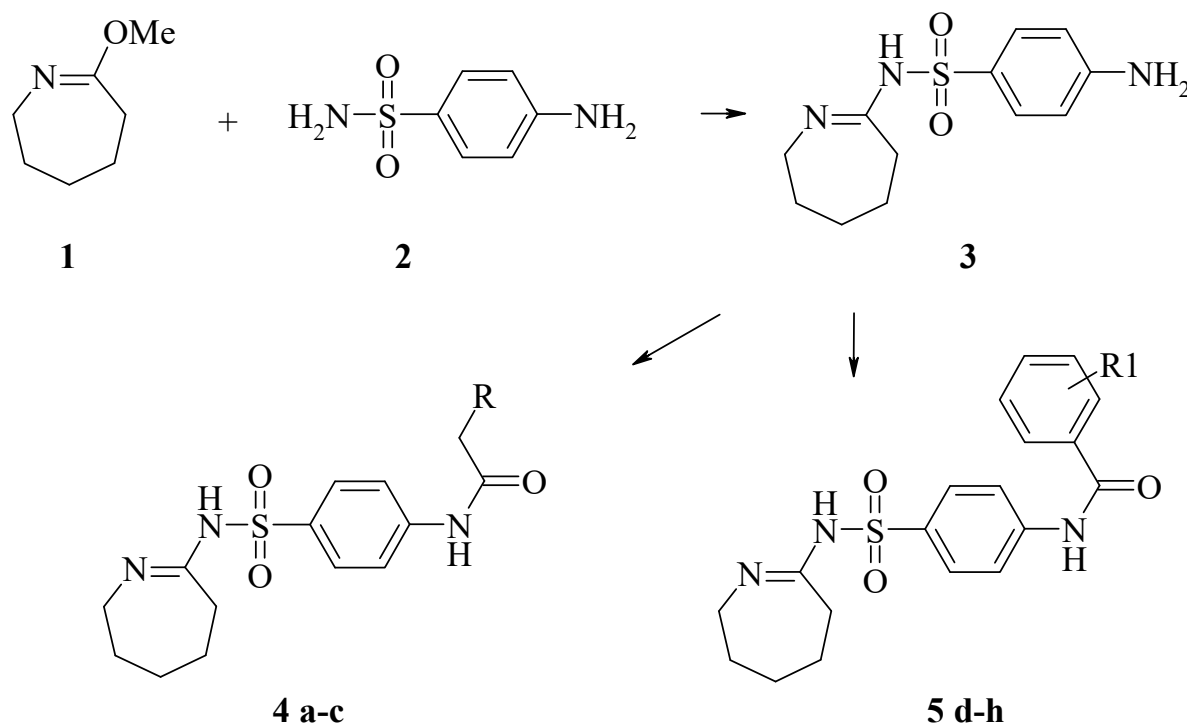
Дизайн досліджень з молекулярного моделювання включав наступні етапи: оптимізацію структури досліджуваних молекул за алгоритмом Парра-Паризера-Попла (до градієнту 0,1 ккал/моль/град), пошук макромолекули ЦОГ-2 в базі даних білків, підготовку файлів оптимізованих молекул та макромолекули ЦОГ-2 (субодиниця А) для AutodockVina, пошук оптимального розміщення молекули ліганду на білку ЦОГ-2 для кожної молекули, аналіз та

візуалізація результатів докінгу.

Комплекс ЦОГ-2 з Целекоксибом отриманий із файлу 3LN1.pdb [39]. Переведення формату файлів здійснювали за програмою OpenBabel 2.4.0. [40]. Підготовка файлів для AutodockVina виконали у форматі AutodockTools 1.5.6 [41]. Докінг досліджуваних молекул у ЦОГ-2 (субодиниця А) проведений за програмою AutodockVina за умови, що передбачала гнучкий ліганд, жорсткий рецептор [42, 43]. За результатами докінгу здійснювали 2D- та 3D-візуалізацію, використовуючи програму LigPlot+ (версія 1.4) для дослідження можливих зв'язків ліганду в амінокислотному оточенні сайту зв'язування за схематичним 2D-зображенням [44]. Загальну оцінку положення ліганду в комплексі «ліганд - рецептор» та дослідження сайту зв'язування за амінокислотним оточенням ліганду в радіусі 4 анстрем виконали за 3D-візуалізацією у програмі PyMol 2.3 [45]. Геометричні параметри комплексу «ліганд - рецептор» отримали за 3D-візуалізацією у програмі Chimera 1.13.1.[46].

РОЗДІЛ ІІІ. ПОШУК НОВИХ СЕЛЕКТИВНИХ ІНГІБІТОРІВ ЦИКЛООКСИГЕНАЗИ ІІ СЕРЕД 4-АМІНО-N-(4,5,6,7-ТЕТРАГІДРО-3H- АЗЕПІН-2-ІЛ)-БЕНЗЕНСУЛЬФОНАМІДІВ

Відповідно до поставленої задачі було проведено синтез похідних азепінілбензенсульфонаміду за схемою 3.1.



де **4,5R= a) H, b) CH₃, c) CH₂CH₂CH₃, R₁= d) H, e) 2-CH₃, f) 4-CH₃, g) 2-OCH₃, h) 2-Cl**

Схема 3.1. Синтез 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду та його похідних

Сполуку **3** одержано при кип'ятінні впродовж 5 годин 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7H-азепіну **1** та 4-амінобензенсульфонаміду **2** у співвідношенні (1:1) в толуолі. Сполуки **4 a,b,c** отримали після 30 хв. кип'ятіння 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду **3** з ангідридом оцтової, пропіонової та пентанової кислоти відповідно. Сполуки **5 d,e,f,g,h** одержували додаванням (0.015 моля) бензоїлхлориду, 2-метилбензоїлхлориду, 4-метилбензоїлхлориду, 4-метоксибензоїлхлориду відповідно до суспензії (0.01

моля) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-їл)-бензенсульфонаміду **3** в 20 мл 5% водного розчину NaOH. Реакційну суміш ретельно струшували 5 хвилин та залишали на 8 годин при кімнатній температурі. Після чого реакційну суміш виливали в 150 мл води. Осади відфільтрували та кристалізували із пропанолу-2 (**3**, **4 a,b,c**), етанолу (**5 d,e,f,g**), оцтової кислоти (**5h**).

Для всіх вихідних та синтезованих речовин, наведених на схемі 3.1, встановлені температури плавлення та отримані їх характеристики за даними результатів спектроскопії ядерного магнітного резонансу на ядрах протонів. Синтезовані похідні азепінілбензенсульфонаміду характеризуються температурою плавлення (152 – 153) °C, (174 – 175) °C, (187 – 188) °C та (182 – 183) °C (**3**, **4 a,b,c** відповідно), (190 – 191) °C та (192 – 193) °C (**5 d,f** відповідно), (221 – 222) °C, (222 – 223) °C та (200 – 201) °C (**5 e,h,g** відповідно). В ПМР спектрах сигнали протонів CH₂ груп азепінового фрагменту знаходяться при 1,4 м.д., 1,6 м.д., (2,4 – 2,6) м.д. та (3,2 – 3,9) м.д. у вигляді мультиплету, сигнали протонів арильних груп – біля 7 (8) м.д. на ділянці протонів ароматичних груп.

Синтез 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-їл)-бензенсульфонаміду **3.** Суміш 12.7 г (0.1 моль) 2-метокси-3,4,5,6-тетрагідро-7*H*-азепіну **1** та 17.2 г (0.1 моль) 4-амінобензенсульфонаміду **2** в 100 мл толуолу кип'ятили зі зворотним холодильником протягом п'яти години. Після чого осад, що утворився, відфільтрували та кристалізували із пропанолу-2. Вихід 20.8 г (78 %). *T*_{пл.} (152 – 153) °C. Знайдено, %: N 15.9 C₁₂H₁₇N₃O₂S. Обчислено, %: N 15.7. Спектр ПМР (ДМСО-d₆, TMC): 1.43 (м, 4H, (CH₂)₂), 1.60 (м, 2H, CH₂), 2.48 (м, 2H, CH₂), 3.22 (м, 2H, CH₂), 5.82 (с, 2H, NH₂), 6.56 та 7.45 (д-д, 4H, C₆H₄, J=8.7 Гц), 8.48 (уш.с., 1H, NH).

Синтез N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-їлсульфамойл)-феніл]-ацетаміду **4 a.** Суміш 2.67 г (0.01 моля) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-їл)-бензенсульфонаміду **3** та 2 мл оцтового ангідриду кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 30 хвилин. Після охолодження додавали 150 мл води та залишали на 3 години до повного гідролізу залишків оцтового ангідриду.

Осад, що утворився, відфільтрували та кристалізували із пропанолу-2. Вихід 1.95 г (63 %). $T_{пл.}$ (174-175) °C. Знайдено, %: N 13.5. $C_{14}H_{19}N_3O_3S$. Обчислено, %: N 13.6. Спектр ПМР (ДМСО-d₆, ТМС), м.д.: 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 та 7.76 (д-д, 4Н, C₆H₄, J=8.7 Гц), 8.66 (уш.с., 1Н, NH), 10.3 (с, 1Н, NH).

Синтез N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їлсульфамойл)-феніл]-пропіонаміду 4 b. Сполукубуло одержано аналогічно ацетаміду 4 a із 2.67 г (0.01 моля) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їл)-бензенсульфонаміду 3 та 2 мл пропіонового ангідриду. Вихід 1.78 г (55 %). $T_{пл.}$ (187-188) °C (із пропанолу-2). Знайдено, %: N 13.3. $C_{15}H_{21}N_3O_3S$. Обчислено, %: N 13.0. Спектр ПМР (ДМСО-d₆, ТМС), м.д.: 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 та 7.76 (д-д, 4Н, C₆H₄, J=8.7 Гц), 8.67 (уш.с., 1Н, NH), 10.2 (с, 1Н, NH).

Синтез аміду [4-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їлсульфамойл)феніл]-пентанової кислоти 4 c. Сполуку було одержано аналогічно ацетаміду 4 a із 2.67 г (0.01 моля) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їл)бензенсульфонаміду 3 та 2 мл ангідриду пентанової кислоти. Вихід 1.79 г (51 %). $T_{пл.}$ (182-183) °C (із пропанолу-2). Знайдено, %: N 12.2 $C_{17}H_{25}N_3O_3S$. Обчислено, %: 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 та 7.77 (д-д, 4Н, C₆H₄, J=8.7 Гц), 8.66 (уш.с., 1Н, NH), 10.2 (с, 1Н, NH).

Синтез N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їлсульфамойл)феніл]-бензаміду 5 d. До суспензії 2.67 г (0.01 моля) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їл)-бензенсульфонаміду 3 в 20 мл 5% водного розчину NaOH додавали 2.1 г (0.015 моля) бензоїлхлориду. Реакційну суміш ретельно струшували 5 хвилин та залишали на 8 годин до повного гідролізу надлишку бензоїлхлориду при кімнатній температурі. Після чого реакційну суміш виливали в 150 мл води. Осад, що утворився, відфільтрували та кристалізували із етанолу. Вихід 2.41 г

(65 %). $T_{пл.}$ (190-191) °C. Знайдено, %: N 11.5. $C_{19}H_{21}N_3O_3S$. Обчислено, %: N 11.3. Спектр ПМР (ДМСО- d_6 , ТМС), м.д.: 1.46 (м, 4Н, $(CH_2)_2$), 1.64 (м, 2Н, CH_2), 2.59 (м, 2Н, CH_2), 3.36 (м, 2Н, CH_2), (7.53 - 7.99) (м, 9Н, Ph+ C_6H_4), 8.70 (уш.с., 1Н, NH), 10.6 (с, 1Н, NH).

Синтез 2-метил-N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-ілсульфамойл)-феніл]бензаміду 5 e. Сполуку було одержано аналогічно бензаміду 4 d із 2.67 г (0.01 моля) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду 3 та 2.33 г (0.015 моля) 2-метилбензоїлхлориду. Вихід 2.35 г (61 %). $T_{пл.}$ (222-223) °C (із етанолу). Знайдено, %: N 10.8 $C_{20}H_{23}N_3O_3S$. Обчислено, %: N 10.9. Спектр ПМР (ДМСО- d_6 , ТМС): 1.47 (м, 4Н, $(CH_2)_2$), 1.64 (м, 2Н, CH_2), 2.39 (с, 3Н, CH_3), 2.58 (м, 2Н, CH_2), 3.33 (м, 2Н, CH_2), (7.29 - 7.50) (м, 4Н, C_6H_4), 7.80 та 7.89 (д-д, 4Н, C_6H_4 , J=8.7 Гц), 8.69 (уш.с., 1Н, NH), 10.6 (с, 1Н, NH).

Синтез 4-метил-N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-ілсульфамойл)-феніл]бензаміду 5 f. Сполуку було одержано аналогічно бензаміду 5 d із 2.67 г (0.01 моля) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)бензенсульфонаміду 3 та 2.33 г (0.015 моля) 4-метилбензоїлхлориду. Вихід 2.43 г (63 %). $T_{пл.}$ (192-193) °C (із етанолу). Знайдено, %: N 10.7 $C_{20}H_{23}N_3O_3S$. Обчислено, %: N 10.9. Спектр ПМР (ДМСО- d_6 , ТМС), м.д.: 1.46 (м, 4Н, $(CH_2)_2$), 1.64 (м, 2Н, CH_2), 2.39 (с, 3Н, CH_3), 2.59 (м, 2Н, CH_2), 3.35 (м, 2Н, CH_2), 7.35 та 7.90 (м, 4Н, C_6H_4 , J=7.4 Гц), 7.82 та 7.96 (д-д, 4Н, C_6H_4 , J=8.4 Гц), 8.70 (уш.с., 1Н, NH), 10.5 (с, 1Н, NH).

Синтез 2-метокси-N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-ілсульфамойл)-феніл]бензаміду 5 g. Сполуку було одержано аналогічно бензаміду 5 d із 2.67 г (0.01 моля) 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду 3 та 2.33 г (0.015 моля) 4-метоксибензоїлхлориду. Вихід 2.43 г (63 %). $T_{пл.}$ (200-201) °C (із етанолу). Знайдено, %: N 10.4 $C_{20}H_{23}N_3O_4S$. Обчислено, %: N 10.5. Спектр ПМР (ДМСО- d_6 , ТМС), м.д.: 1.46 (м, 4Н, $(CH_2)_2$), 1.64 (м, 2Н, CH_2), 2.58 (м, 2Н, CH_2), 3.35 (м, 2Н, CH_2), 3.90 (с, 3Н, OCH_3), (7.05 - 7.65) (м, 4Н, C_6H_4), 7.80 та 7.89 (д-д, 4Н, C_6H_4 , J=8.4 Гц), 8.68 (уш.с., 1Н, NH), 10.4 (с, 1Н, NH).

Синтез 2-хлоро-*N*-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-їлсульфамойл)-феніл]бензаміду 5 h. Сполуку було одержано аналогічно бензаміду 5 d із 2.67 г (0.01 моля) 4-аміно-*N*-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-їл)бензенсульфонаміду 3 та 2.33 г (0.015 моля) 2-хлорбензоїлхлориду. Вихід 2.44 г (60 %). $T_{пл}$ (221-222) °С (із оцтової кислоти). Знайдено, %: *N* 10.5 C₁₉H₂₀ClN₃O₃S. Обчислено, %: *N* 10.3. Спектр ПМР (ДМСО-*d*₆, ТМС), м.д.: 1.47 (м, 4H, (CH₂)₂), 1.65 (м, 2H, CH₂), 2.58 (м, 2H, CH₂), 3.36 (м, 2H, CH₂), (7.45 - 7.64) (м, 4H, C₆H₄), 7.82 та 7.87 (д-д, 4H, C₆H₄, J=8.4 Гц), 8.70 (уш.с., 1H, NH), 10.8 (с, 1H, NH).

З метою визначення ризиків щодо біодоступності похідних азепініл-бензенсульфонаміду були розраховані так звані “лікоподібні характеристики” (drug-likeness) (табл. 3.1). Грунтуючись на результатах досліджень властивостей сполук, які впливають на біодоступність Ліпінський сформулював емпіричні правила (правила Ліпінського, або “правила п’яти”). Ці правила регламентують найбільш вигідні та необхідні властивості сполук, які впливають на біологічну доступність, а саме: молекулярна маса (*m*_w) – не більше 500; ліпофільність (*logP*) – не більше 5; кількість донорів водневого зв’язку (*h* donors) в молекулі – не більше п’яти; кількість акцепторів водневого зв’язку (*h* acceptors) – не більше 10. Якщо двох або більше вимог з цих правил не буде дотримано, то існує великий ризик поганої біодоступності сполуки. Дескриптор, який моделює розподіл речовини між водною та ліпідною фазами, – ліпофільність (*logP*), належить до найважливіших молекулярних дескрипторів.

Таблиця 3.1. “Лікоподібні характеристики” (drug-likeness) похідних азепінілбензенсульфонаміду

№ п/п	№ сполуки (за схемою 3.1)	R'	<i>M_r</i>	MR*	<i>logP</i>	<i>h</i> acceptors	<i>h</i> donors
1	3	-	267.35	71.946	1.520	5	3
2	4a	-H	309.38	81.837	1.896	6	2
3	4b	-CH ₃	323.41	86.454	2.286	6	2

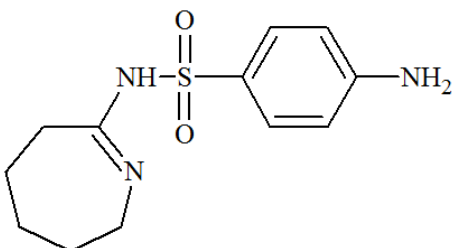
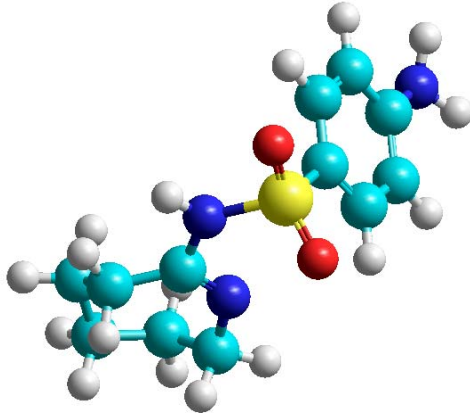
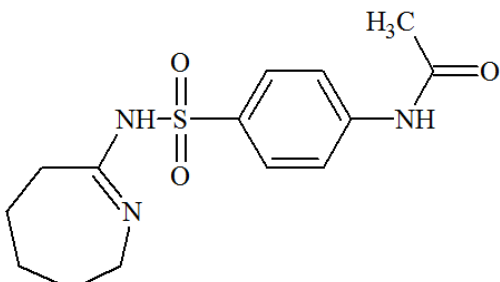
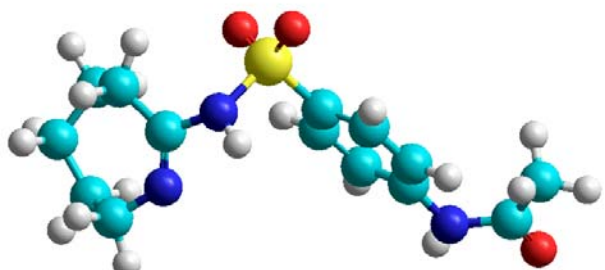
4	4c	-CH ₂ CH ₂ CH ₃	351.46	95.688	3.066	6	2
5	5d	-H	371.45	101.929	3.190	6	2
6	5g	2-OCH ₃	401.48	108.481	3.198	7	2
7	5f	4-CH ₃	385.48	106.666	3.498	6	2
8	5h	2-Cl	405.90	106.939	3.843	6	2
9	5e	2-CH ₃	385.48	106.666	3.498	6	2

Примітка. *MR – молярна рефракція, logP – ліпофільність, h acceptors – кількість акцепторів водневого зв'язку, h donors – кількість донорів водневого зв'язку

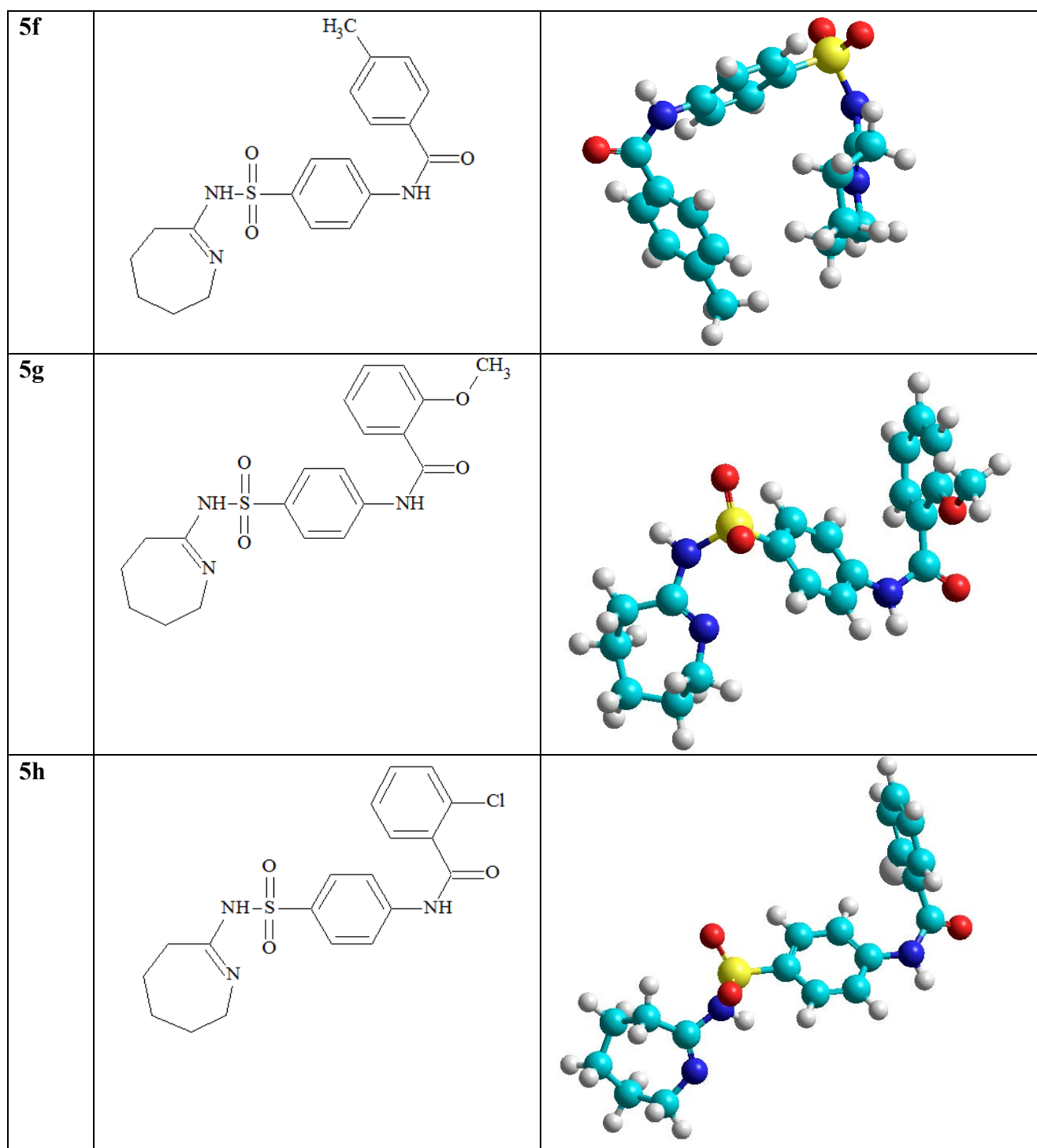
Досліджені похідні 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3Н-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду є ліпофільними, тому що характеризуються оптимальними значеннями «лікоподібних» характеристик, в тому числі, ліпофільність у межах від 1,520 до 3,843.

Для виконання докінгу молекул похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3Н-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду було здійснено оптимізацію їх структур (табл. 3.2). Молекули похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3Н-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду оптимізували до градієнту 0,01 ккал/моль/град.

Таблиця 3.2. Оптимізовані молекули похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3Н-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду

№	Структурна формула	Оптимізована структурна формула
3		
4a		

<p>4b</p>		
<p>4c</p>		
<p>5d</p>		
<p>5e</p>		



З метою оптимізації фармакологічних досліджень і обґрунтування доцільності проведення експериментального скринінгу на протизапальну активність, було проведено молекулярне моделювання (докінг). Застосування *in silico* методів оптимізує експериментальні дослідження, сприяє зменшенню кількості лабораторних тварин для випадків низької афінності до потенційних

біомішеней досліджуваних сполук.

Проведений докінг аналіз (гнучкий ліганд, жорсткий рецептор) похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду у ЦОГ-2 (субодиниця А) за умовами, що враховують для молекул ліганду та рецептору наявність полярних атомів водню або всіх атомів водню молекули. З метою пошуку оптимального розміщення молекули ліганду на білку ЦОГ-2 для кожної молекули відповідно до умов експериментів виконано 32 дослідження.

Для похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду мінімальна вільна енергія зв'язування, отримана за умови врахування полярних атомів водню для молекул ліганду та рецептору, знаходиться в межах від -7,2 ккал/моль до -9,1 ккал/моль. Серед досліджених похідних молекули 4с, 3, 4b, 4a розміщується в сайті зв'язування ЦОГ-2, характерному для Целекоксибу, та мінімальна вільна енергія зв'язування знаходиться у межах від -7,5 ккал/моль до -9,3 ккал/моль. Сполуки 5d, 5g, 5f, 5h, 5e займають свої характерні ніші на поверхні рецептору з високими вільними енергіями, проте також можуть взаємодіяти (утворювати комплекс) з рецептором поблизу активного сайту, але вільна енергія такого комплексу значно відрізняється від значень найбільш енергетично вигідних положень для ліганду (для цих сполук) відповідно (на величину ΔE від -1,5 ккал/моль до -2 ккал/моль).

Значення мінімальної вільної енергії похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду у ЦОГ-2 за результатами докінгу наведено у табл. 3.3.

Таблиця 3.3. Результати докінгу (гнучкий ліганд, жорсткий рецептор) похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3Н-азепін-2-їл)-бензенсульфонамідів у ЦОГ-

Сполука			Значення мінімальної вільної енергії E(ккал/моль),							
			номер досліду							
Шифр	УМОВИ	Smiles-code	1	2	3	4	5	6	7	8
4c	PH_L	<chem>CCCCC(=O)Nc2ccc(S(=O)(=O)NC1=NCCCC1)cc2</chem>	-8,2	7,7*	-8	-8*	6,3**	7,9*	-8,3	7,9
	PH_L H		-8,3	8,3	-8,3	8,3	8,3	7,9*	-8*	8,3
	P_L		-8,2*	7,8	8,2*	8,1*	8,2*	7,5*	-8,4	8,2*
	P_LH		-8,7	8,9	-8,8	8,8	8,8	-8,6	8,5*	8,8
3	PH_L	<chem>Nc2ccc(S(=O)(=O)NC1=NCCCC1)cc2</chem>	-7,5	8,6	-8,6	7,2**	7,5**	-8,6	-8,4	8,6
	PH_L H		-8,2	8,2	-8,1	8,2	8,2	-8,2	-8,2	8,2
	P_L		-8,7	8,8	-8,8	8,8	8,8	-8,8	-8,7	7,6*
	P_LH		-8,3	8,3	-8,3	8,3	8,3	-8,3	-8,3	8,3
4b	PH_L	<chem>CCC(=O)Nc2ccc(S(=O)(=O)NC1=NCCCC1)cc2</chem>	-8,3*	8,3	-8,2	8,3*	6,2**	8,2*	8,2*	7,5*
	PH_L H		-8,2	8,2	-8,2	8,2	8,2	8,2*	-8,2	8,2
	P_L		-8,6	-8	6,9*	8,6	8,6	-8,6	8,6*	8,6
	P_LH		-8,3	8,3	-8,3	8,3	8,3	-8,3	-8,3	8,3
5d	PH_L	<chem>O=C(Nc2ccc(S(=O)(=O)NC1=NCCCC1)cc2)c</chem>	-7,5*	7,5	7,6*	8,3	7,6	-9**	8,9*	9,

		3ccccc3	*	**	*	**	**		*	1*
	PH_L H		- 9,3*	- 9,4**	- 9,4*	- 9,2**	- 9,4**	- 9,2*	- 9,3*	- 9,4*
	P_L		- 8,2*	- 8,1**	- 8,2*	- 8,7**	- 8,4*	- 9,1*	- 9**	- 8,2*
	P_LH		- 9,3*	- 9,3*	- 9,3*	- 9,3**	- 9,3**	- 9,3*	- 9,3*	- 8,6*
5g	PH_L	COc1ccccc1C(=O)Nc3cc(S(=O)(=O)NC2=NC(CCCC2)cc3	- 7**	- 7,5**	- 7,5*	- 7,1**	- 7,1**	- 7,1*	- 7,5*	- 7,6*
	PH_L H		- 7,5*	- 7,5**	- 7,5*	- 7,5**	- 7,5**	- 7,4*	- 7,5*	- 7,5*
	P_L		- 7,4*	- 7,5**	- 8*	- 7,5**	- 8*	- 7,5*	- 7,5*	- 7,5*
	P_LH		- 8,2*	- 8,2**	- 7,7*	- 8,2**	- 8,1**	- 8,1*	- 8,1*	- 8,1*
5f	PH_L	Cc3ccc(C(=O)Nc2ccc(S(=O)(=O)NC1=NCCCC1)cc2)cc3	- 6,8*	- 9,1*	- 6,9*	- 7,1*	- 7,5*	- 7*	- 7,1*	- 7,7*
	PH_L H		- 9,3*	- 7,1*	- 9,3*	- 9,3*	- 9,3*	- 9,3*	- 7,1*	- 9,3*
	P_L		- 7,7*	- 8,4**	- 7,3*	- 7,3**	- 7,7**	- 7,7*	- 7,7*	- 7,7*
	P_LH		- 9,3*	- 7,4*	- 9,3*	- 9,3*	- 7,4*	- 7,4*	- 7,4*	- 7,4*
5h	PH_L	O=C(Nc2ccc(S(=O)(=O)NC1=NCCCC1)cc2)c3ccccc3Cl	-8**	- 8,1**	- 7,3*	- 7,3**	- 7,7**	- 7,2*	- 8,2*	- 7,7**
	PH_LH		- 8,3*	- 7,9**	- 9,4*	- 8,3*	- 8,3*	- 9,4*	- 8,3*	- 8,3**
	P_L		- 8,3*	- 8,9*	- 8,4*	- 8,3**	- 8,3*	- 8,3*	- 8,9*	- 8,3**

	P_LH		- 8,6* *	- 8,6 **	- 9,4* *	- 9,4 **	- 8,6 *	- 8,6* *	- 8,6* *	- 9,4 **
4a	PH_L	CC(=O)Nc2ccc(S(=O)(=O)NC1=NCCCCC1)cc2	-9	- 8,2	-8,2	- 7,6	- 7,8	-8,2	-9	- 8,2 *
	PH_LH		-8	-8	-8	-8	-8	-8	-7,9	- 7,9 *
	P_L		-8	- 9,3	-9,2	- 9,3	- 9,2	-8,5	-8,4	- 8,5 **
	P_LH		-8,1	- 8,2	-8,2	- 8,1	- 8,1	-8,1	-8,1	- 8,1
5e	PH_L	Cc1cccc1C(=O)Nc3ccc(S(=O)(=O)NC2=NCCCCC2)cc3	- 9,4* *	- 9,1 **	- 8,2* *	- 9,4 **	- 9,4 **	- 9,5* *	- 9,9* *	- 7,7 **
	PH_LH		- 9,7* *	- 9,6 *	- 9,7* *	- 9,6 *	- 9,7 *	- 9,7* *	- 9,7* *	- 9,7 *
	P_L		- 11,1 **	- 9,7 **	- 11**	- 9,6 **	- 10, 7* *	- 9,6* *	- 9,6* *	- 9,2 **
	P_LH		- 10,9 *	- 10, 9* *	- 10,9 *	- 10, 7* *	- 10, 8* *	- 10,9 *	- 10,9 *	- 10, 9* *

Примітка 1.*) Зазначено положення молекули у COX2 інше, ніж для целекоксибу,

Примітка 2.**) Зазначено положення молекули у COX2, близьке до сайту зв'язування целекоксибу.

Примітка 3.P – молекула рецептору з полярними атомами водню, L – молекула ліганду з полярними атомами водню, PH - молекула рецептору зі всіма атомами водню, LH - - молекула ліганду зі всіма атомами водню

Для підтвердження достовірності використаного нами методу напівгнучкого докінгу у програмному пакеті AutodockVina (гнучкий ліганд, жорсткий рецептор) було проведено докінг молекули Целекоксибу в ЦОГ-2 з урахуванням всієї поверхні білкової молекули (без просторового обмеження зони зв'язування ліганду). Це дозволило встановити відповідність розміщення ліганду у сайті зв'язування ЦОГ-2 для кристалічної структури комплексу ЦОГ-2 з Целекоксибом та для моделі комплексу ЦОГ-2 з Целекоксибом за методом напівгнучкого докінгу. Оточення молекули Целекоксибу амінокислотними

залишками для кристалічної структури комплексу ЦОГ-2 з Целекоксибом, отримане із файлу 3LN1.PDB, показано на рис. 3.1. Найбільш енергетично вигідне просторове положення молекули Целекоксибу в ЦОГ-2, отримане в результаті молекулярного моделювання, відповідає експериментальним даним (рис. 3.2). Вільна енергія зв'язування комплексу «Целекоксиб – ЦОГ-2» за даними проведеного молекулярного моделювання становить (-11,2) ккал/моль. За даними проведеного молекулярного моделювання до активного центру зв'язування молекули Целекоксибу входить залишок Arg499, водень азоту гуанідинового фрагменту якого утворює водневий зв'язок із киснем аміносольфонільного фрагменту Целекоксибу (віддаль 3,35 Å), що відповідає такій характеристиці для кристалографічної структури (рис. 3.3).

За отриманими результатами докінг аналізу досліджені похідні азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду (№ 3, 4) розміщуються в сайті зв'язування ЦОГ-2, характерному для структури комплексу ЦОГ-2 з Целекоксибом.

Результати аналізу особливостей амінокислотного оточення похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду в сайті зв'язування ЦОГ-2 наведено у таблиці 3.4.

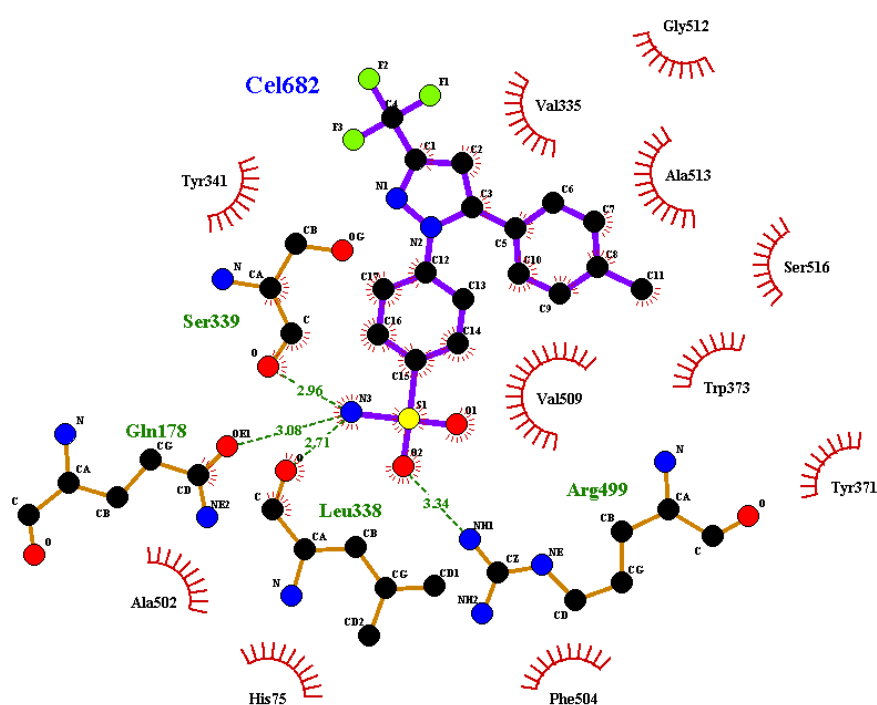


Рисунок 3.1. Оточення молекули Целекоксибу амінокислотними залишками у сайті зв'язування ЦОГ-2 із PDB (3LN1).

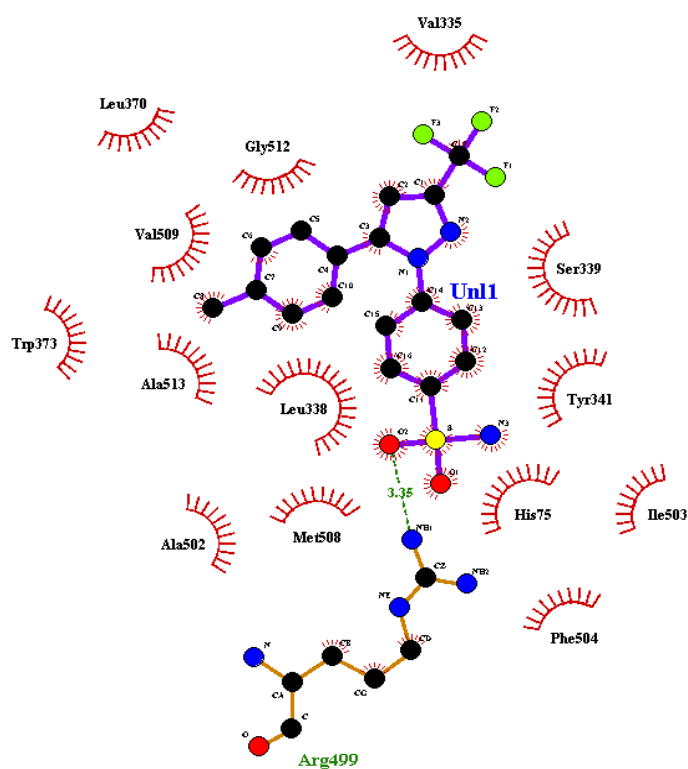
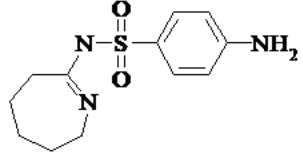
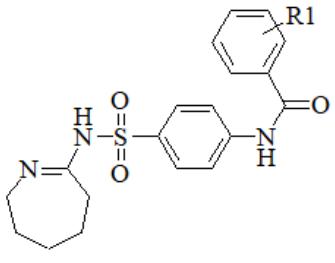
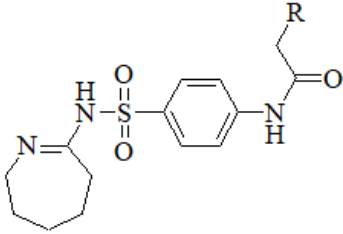
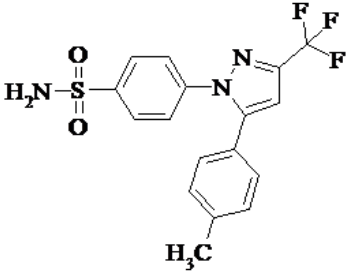


Рисунок 3.2. Оточення молекули Целекоксибу амінокислотними залишками у сайті зв'язування ЦОГ-2 за методом напівгнучкого докінгу.

Таблиця 3.4: Значення вільної енергії та амінокислотне оточення похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонамідів комплексі з циклооксигеназою II

Сполука	Формула	R	ΔE_{Doc} kcal/mol	Амінокислотне оточення ліганда
(3)			-8,8	HIS75, VAL335, LEU338, SER339, LEU370, TYR371, TRP373, ALA502, PHE504, MET508, VAL509, GLY512, SER516
(5d)		-H	-9,4	ASN19, CYS21, ASN24, PRO25, CYS26, CYS32, GLY121, TYR122, LEU138, PRO139, PRO140, ALA142, GLU447, GLU451
(5g)		-2-OCH ₃	-8,2	ALA185, GLN189, HIS193, PHE196, LYS197, THR198, HIS200, ASN368, HIS372, HIS374, LEU377, VAL433
(5f)		-4-CH ₃	-9,3	ASN19, CYS21, ASN24, CYS26, ARG29, CLY30, GLY31, CYS32, TYR116, GLY121, LEU138, PRO139, PRO140, ALA142, GLN447, ARG455,
(5h)		-2-Cl	-9,4	ASN19, CYS21, ASN24, CYS26, GLY30, GLY31, CYS32, SER34, TYR116, GLY121, TYR122, LEU138, PRO139, PRO140, ALA142, GLN447,
(5e)		-2-CH ₃	-11,1	ALA188, GLN189, THR192, HIS193, PHE196, LYS197, THR198, HIS200, GLN275, ASN368, TYR371, HIS372, TRP373, HIS374, LEU376

(4c)		$-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	-8,6	MET99, VAL102, ARG106, ILE331, VAL335, LEU338, SER339, TYR341, LEU345, TYR371, TRP373, PHE504, MET508, VAL509, GLY512, ALA513, LEU517
(4b)		$-\text{CH}_3$	-8,6	VAL102, ARG106, VAL335, LEU338, SER339, TYR341, LEU345, LEU370, TYR371, TRP373, PHE504, ALA509, GLY512, ALA513, SER516, LEU517
(4a)		$-\text{H}$	-9,3	HIS75, GLN178, VAL335, LEU338, SER339, TYR341, LEU370, TYR371, TRP373, ARG499, ALA502, ILE503, PHE504, MET508, VAL509, GLY512, ALA513, SER516
Целекоксиб			-11,9	HIS75, GLN178, VAL335, LEU338, SER339, TYR341, TRP373, ARG499, ALA502, ILE503, PHE504, MET508, VAL509, GLY512, ALA513

Усі сполуки показують хороші значення афінності до рецептору ЦОГ-2, але їх розміщення в ЦОГ-2 є різним щодо активного сайту зв'язування Целекоксибу. Зокрема, тільки сполуки **3**, **4a**, **4b**, **4c** займають положення в ніші ЦОГ-2, що є характерним для Целекоксибу.

Сполука **3** ($\Delta E_{\text{Doc}} = -8,8 \text{ kcal/mol}$) утворює комплекс з рецептором циклооксигенази II (ЦОГ-2) за рахунок можливості утворення електростатичної взаємодії між аміногрупою на фенільному фрагменті сполуки і HIS75 та ARG499 становить 2,20 Å та 3,24 Å відповідно (рис. 3.3).

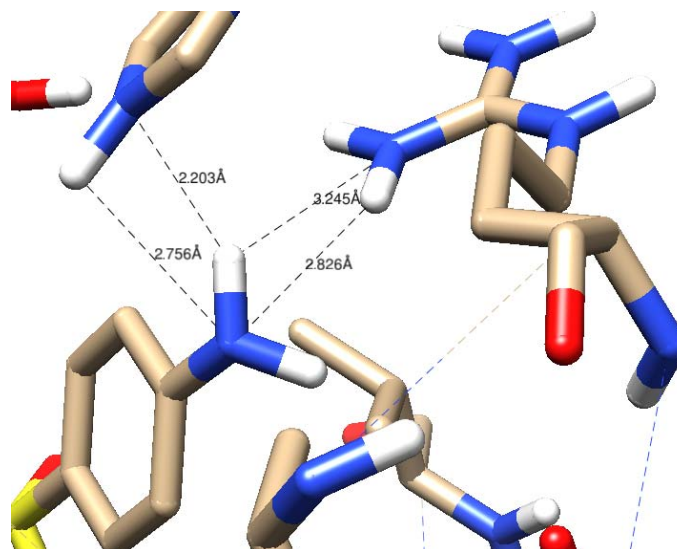


Рисунок 3.3. Фрагмент комплексу сполуки 3 з ЦОГ-2

Фенільне кільце сполуки 3 додатково взаємодіє за допомогою гідروفобного впливу з амінокислотними залишками *VAL509*, *PHE504*, *LEU338*. Положення азепінового гетероциклу додатково фіксується за гідروفобним впливом *MET508*, *GLY512*, *TRP373*, *TYR371*, *SER516*, *LEU370*.

Положення молекули сполуки 3 в активному сайті рецептора циклооксигенази II показано на рисунку 3.4.

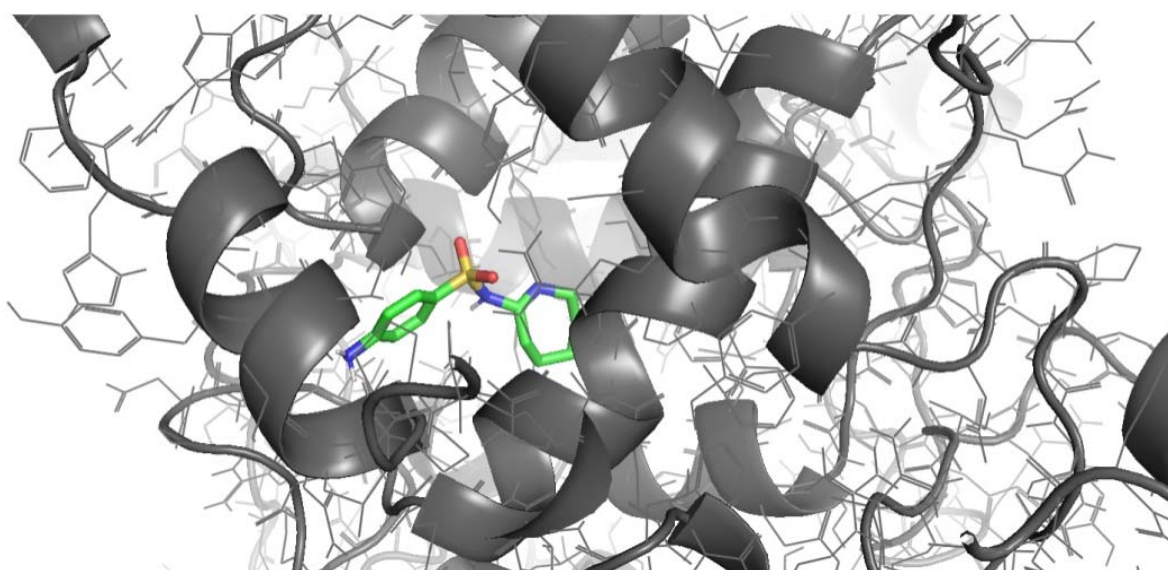


Рисунок 3.4. Положення молекули сполуки 4-аміно-*N*-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду (сполука 3) в активному сайті рецептора циклооксигенази II

Утворенню комплексу сполуки **4a** ($\Delta E_{\text{Doc}} = -9,4$ kcal/mol) з рецептором сприяють електростатична взаємодія між аміно- та кето-групою ліганда і *HIS75* (відстань між киснем кетогрупи ліганда і воднем аміногрупи *HIS75* – $2,51\text{\AA}$, $\angle NHO=109^\circ$) (рис. 3.5).

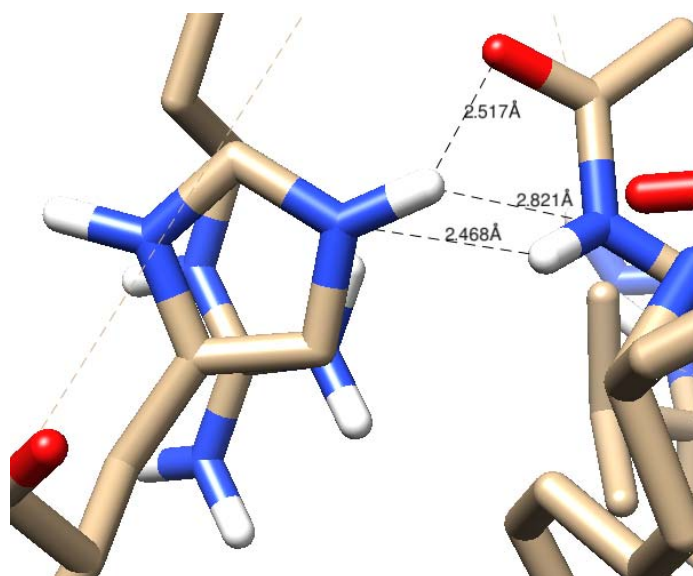


Рисунок 3.5. Фрагмент комплексу сполуки **4a** з ЦОГ-2

Фенільне кільце (сполука **4a**) додатково фіксується за допомогою гідрофобного впливу *VAL509*, *TYR341*, *LEU338*, *SER339*. Положення азепінового фрагменту додатково фіксується за гідрофобним впливом *MET508*, *GLY512*, *TRP373*, *TYR371*, *SER516*, *LEU370*, *PHE504*..

Положення молекули сполуки **4a** в активному сайті рецептора циклооксигенази II показано на рисунку 3.6.

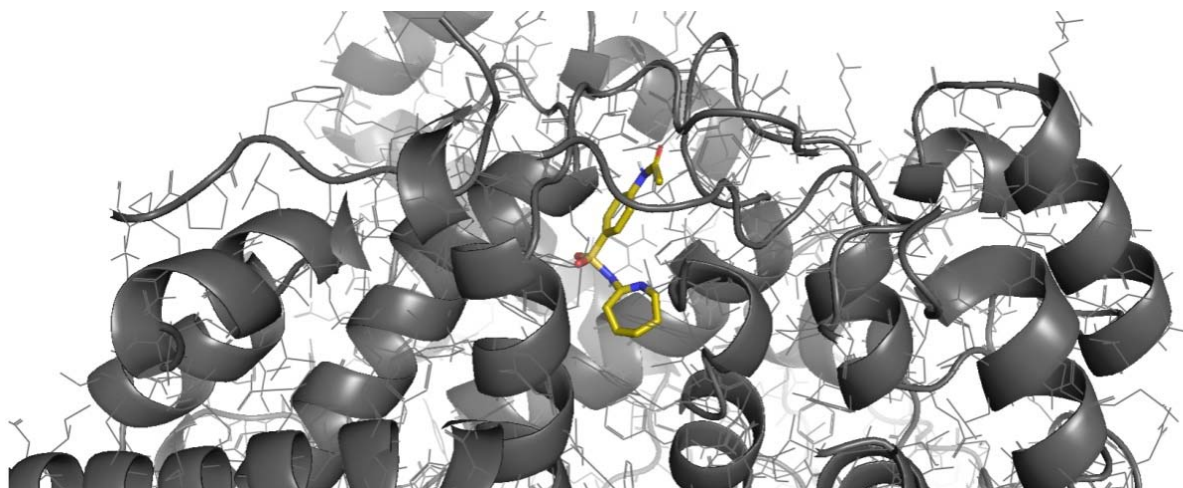


Рисунок 3.6. Положення молекули сполуки N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-їлсульфамойл)-феніл]-ацетаміду (**4a**) в активному сайті ЦОГ-2

Сполука **4c** ($\Delta E_{\text{Doc}} = -8,6 \text{ kcal/mol}$) утворює комплекс з ЦОГ-2 за рахунок можливості утворення електростатичної взаємодії між киснем кетогрупи ліганда і ARG106 (відстань між киснем кетогрупи молекули до водню аміногрупи ARG106 становить $2,40 \text{ \AA}$, кут $\angle \text{NHO} = 124,79^\circ$. Сусідній азот аміногрупи молекули віддалений від азоту аміногрупи ARG106 на $2,25 \text{ \AA}$) (рис. 3.7).

Фенільне кільце сполуки **4c** додатково фіксується за допомогою гідрофобного впливу VAL335, ALA512, TYR341. Положення азепінового гетероциклу додатково фіксується за гідрофобним впливом MET508, GLY512, TRP373, TYR371, SER516, LEU370, LEU338. На алкільний хвіст мають гідрофобний вплив VAL102, LEU345, MET99, LEU517, ILE331.

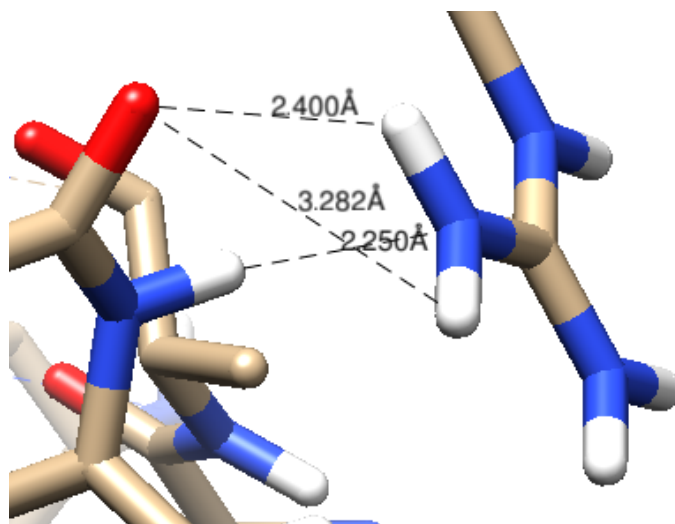


Рисунок 3.7. Фрагмент комплексу сполуки **4c** з ЦОГ-2

Положення молекули сполуки **4c** в активному сайті рецептора ЦОГ-2 показано на рисунку 3.8

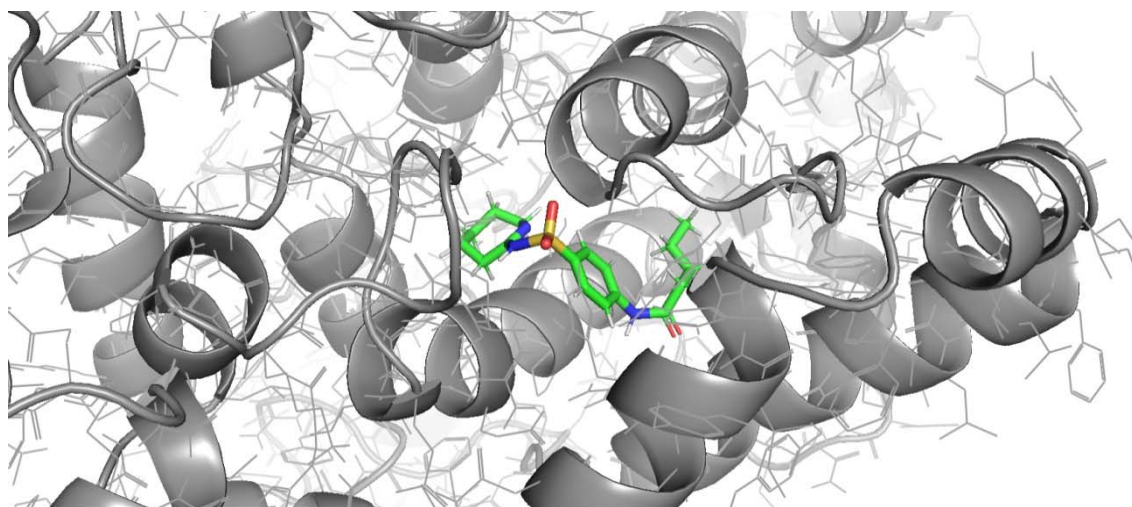


Рисунок 3.8. Положення молекули сполуки [4-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-їлсульфамойл)феніл]пентанової кислоти в (**4c**) активному сайті ЦОГ-2

Сполука **4b** має два енергетично сприятливих положення в ніші ЦОГ-2, що є характерною для Целекоксибу зі збереженням амінокислотного оточення. У випадку моделі з більшою енергією положення ($\Delta E_{\text{Doc}} = -8,6 \text{ kcal/mol}$) сполуки

забезпечується гідрофобними взаємодіями: положення азепінового фрагменту забезпечується гідрофобним впливом *VAL102*, *LEU345*, *LEU517*, *ARG106*, *TYR341*, *VAL335*; ароматичне бензольне кільце піддається впливу *ALA513*, *LEU338*, *PHE504* і *VAL509*; а алкільний хвіст ліганда фіксується *SER516*, *TRP373*, *TYR371*, *LEU370*, *GLY512*. Для моделі з меншою енергією ($\Delta E_{\text{Doc}} = -8,3 \text{ kcal/mol}$) ліганд має інше положення з можливістю утворення електростатичної взаємодії між киснем кетогрупи і аміногрупою *ARG106* (відстань між киснем кетогрупи молекули до водню аміногрупи *ARG106* – $2,39 \text{ \AA}$, кут $\angle \text{NHO} = 125,83^\circ$ (рис. 3.9). Сусідній азот аміногрупи молекули віддалений від азоту аміногрупи *ARG106* на $2,29 \text{ \AA}$). Окрім цього, азепіновий фрагмент відчуває на собі гідрофобний вплив: *TYR371*, *LEU370*, *TRP373*, *MET508*, *GLY512*, а ароматичне бензольне кільце додатково фіксується *VAL335*, *VAL509*, *ALA513*, *TYR341*.

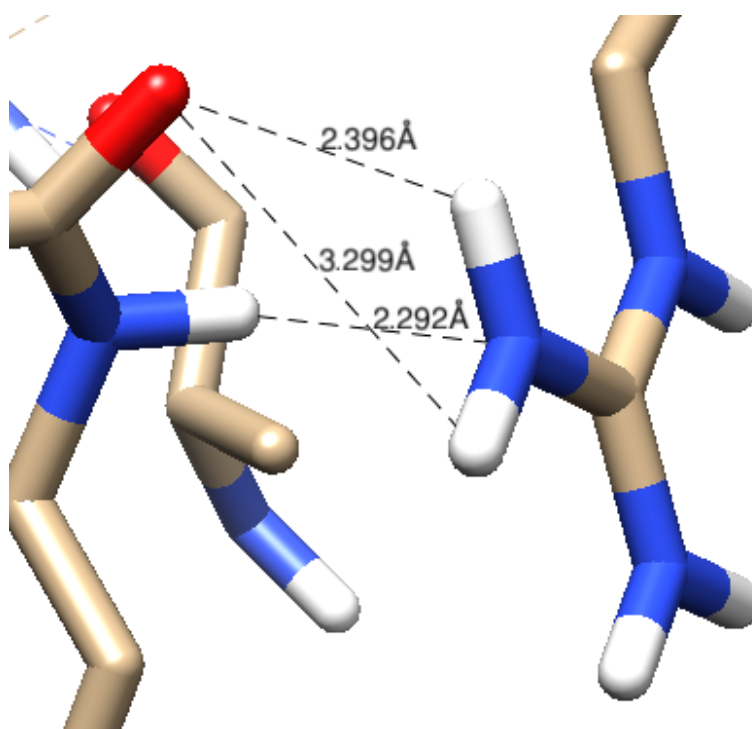


Рисунок 3.9. Фрагмент комплексу сполуки **4b** з ЦОГ-2

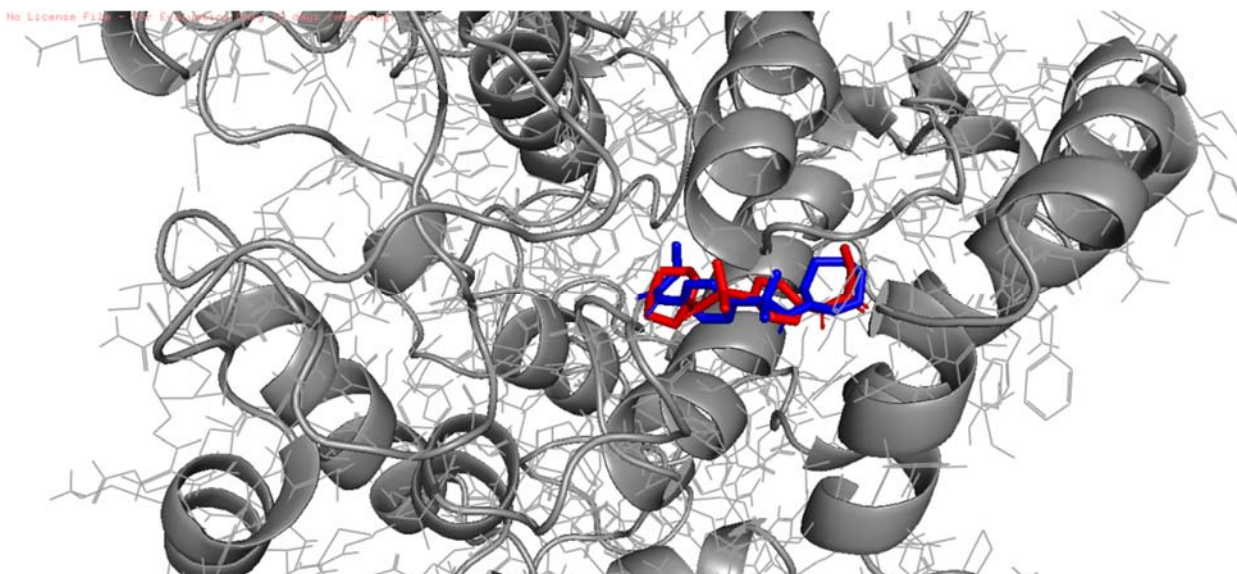


Рисунок 3.10. Положення молекули сполуки *N*-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-ілсульфамойл)феніл]пропіонаміду (**4b**) в активному сайті ЦОГ-2 : синій колір ($\Delta E_{\text{Doc}} = -8,6 \text{ kcal/mol}$), червоний колір ($\Delta E_{\text{Doc}} = -8,3 \text{ kcal/mol}$)

Сполука 2-метил-*N*-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-ілсульфамойл)-феніл]бензаміду (**5 e**) ($\Delta E_{\text{Doc}} = -11,1 \text{ kcal/mol}$) займає власну нішу на поверхні рецептору (рис. 3.11). Проте в даній моделі вона може утворювати електростатичні взаємодії з амінокислотами рецептору: сульфамойльний фрагмент має близьке розташування до аміногрупи ASN368 (2,50 Å) і гідроксильної групи THR198 (2,08 Å). Нітроген із азепінового кільця може має близько розташування (2,23 Å) до аміногрупи HIS200. Додатково положення азепінового кільця фіксується *LYS197*, *GLN275*, а на ароматичні шестичленні цикли впливають *ASN368*, *HIS372*, *TRP373*, *HIS374*, *LEU376*. Це може пояснювати високу вільну енергію комплексу даної сполуки з рецептором.

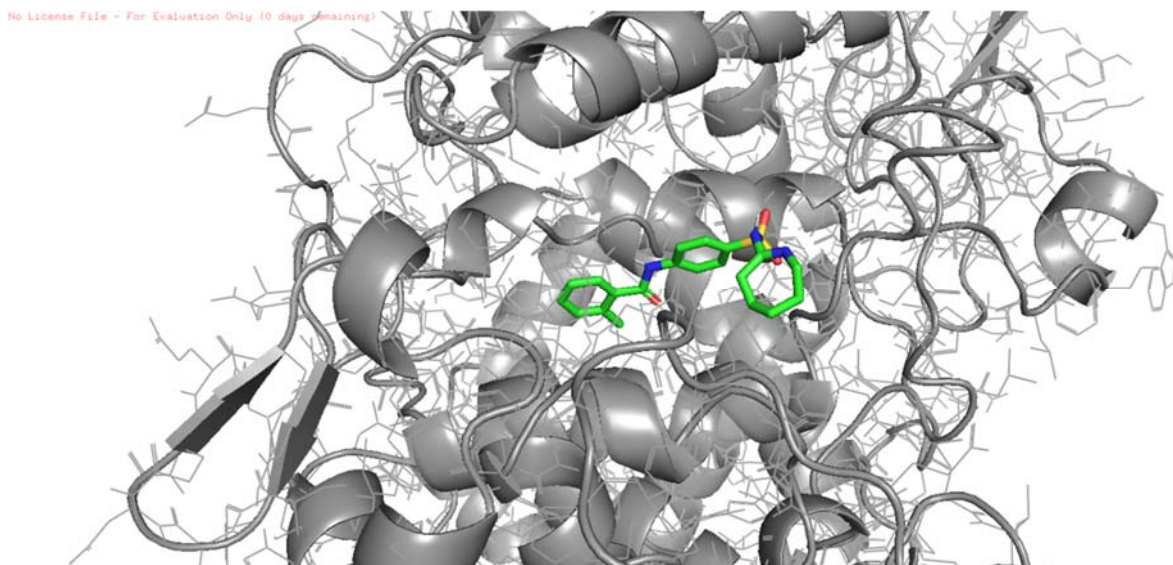


Рисунок 3.11. Положення молекули сполуки 2-метил-*N*-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-їлсульфамойл)феніл]бензаміду (5e) у ніші ЦОГ-2

Висновки

1. В процесі виконання кваліфікаційної роботи було синтезовано ряд похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)бензенсульфонаміду, структуру яких встановлено фізико-хімічними методами (температури плавлення для кожної отриманої сполуки; проведено елементний аналіз; структуру досліджено методом спектроскопії ядерного магнітного резонансу на ядрі ^1H).

2. Досліджені похідні 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду прогноуються як біодоступні, тому що характеризуються оптимальними значеннями «лікоподібних» характеристик за правилом Ліпінського.

3. Проведений молекулярний докінг синтезованих похідних 4-аміно-N-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-іл)-бензенсульфонаміду в рецептор циклооксигенази II (ЦОГ-2). Серед досліджених похідних молекули 4c, 3, 4b, 4a розміщується в сайті зв'язування ЦОГ-2, характерному для Целекоксибу, та мінімальна вільна енергія зв'язування знаходиться у межах від -7,5 ккал/моль до -9,3 ккал/моль. Цей факт дає підставу досліджувати ці сполуки як потенційні інгібітори ЦОГ-2.

4. За результатами молекулярного докінгу виявлено, що введення додаткового бензольного кільця до амідно-алкільного фрагменту не дозволяє новим віртуальним похідним цього ряду займати активний сайт ЦОГ-2.

5. Сполука 2-метил-N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-ілсульфамойл)-феніл]бензаміду (5 e) займає власну нішу на поверхні ЦОГ-2 і характеризується співставимою з Целекоксибом вільною енергією зв'язування (для 5 e: $\Delta E_{\text{Doc}} = -11,1 \text{ kcal/mol}$; для Целекоксибу: $\Delta E_{\text{Doc}} = -11,9 \text{ kcal/mol}$).

6. Матеріали роботи можуть бути використані на факультативних заняттях з хімії та біології в середніх загальноосвітніх школах за програмою профільного та академічного рівнів.

Список використаних джерел

1. Кукес В. Г., Стародубцева А. К. Фармакология и фармакотерапия. - М.: ГЭОТАР – МЕД, 2004 р.
2. Беликов В. Г. Фармацевтическая химия. – М.: Высшая школа, 1985 р.
3. Солдотенков А. Т., Колядина Н. М., Шендрик И. В. Основы органической химии лекарственных веществ. – М.: МИН, 2003 р.
4. Norregaard R. Physiology and pathophysiology of cyclooxygenase 2 and prostaglandin E2 in the kidney / R. Norregaard, T.H. Kwon, J. Frokiaer // *Kidney Research and Clinical Practice*. — 2015. — Vol. 34. — P. 194-200.
5. Rouzer C.A. Cyclooxygenases: structural and functional insights / C.A. Rouzer, L.J. Marnett // *Journal of Lipid Research*. — 2008. — Vol. 50. — S. 29-34.
6. Simmons D.L. Cyclooxygenase Isozymes: The Biology of Prostaglandin Synthesis and Inhibition / D.L. Simmons, R.M. Botting, T. Hla // *Pharmacological Reviews*. — 2004. — Vol. 56, № 3. — P. 387-487.
7. VANE, J. R. (1971). Inhibition of Prostaglandin Synthesis as a Mechanism of Action for Aspirin-like Drugs. *Nature New Biology*, 231(25), 232–235. doi:10.1038/newbio231232a0
8. Visha M.G. (2013) Selective Cox-2 inhibitor. *Int. J. Pharm. Sci Interv.*, 3(2): 28–33.
9. Olsen A.M.S., Gislason G.H., McGettigan P. et al. (2015) Association of NSAID use with risk of bleeding and cardiovascular events in patients receiving antithrombotic therapy after myocardial infarction. *Jama*, 313(8): 805–814.
10. Bhalan N., Emberson J., Merhi A. et al. (2013) Vascular and upper gastrointestinal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs: metaanalyses of individual participant data from randomised trials. *Coxib and traditional NSAID Trialists (CNT) Collaboration. Lancet*, 382(9894): 769–779.
11. Fitzgerald G.A., Patrono C. (2001) The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *N. Engl. J. Med.*, 345(6): 433–442.
12. Brune K., Patrignani P. (2015) New insights into the use of currently available non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J. Pain Res.*, 8: 105.
13. Pidgeon GP, et al. Intravascular thrombosis after hypoxia-induced pulmonary hypertension: regulation by cyclooxygenase-2. *Circulation*. 2004;110(17):2701–2707
14. Walter M.F., Jacob R.F., Day C.A. et al. (2004) Sulfone COX-2 inhibitors increase susceptibility of human LDL and plasma to oxidative modification: comparison to sulfonamide COX-2 inhibitors and NSAIDs. *Atherosclerosis*, 177(2): 235–243.
15. "Celecoxib Monograph for Professionals", drugs.com [Электронный ресурс] Режим доступа : <https://www.drugs.com/monograph/celecoxib.html>

15. Mathew ST, Devi SG, Prasanth VV, Vinod B (2011). "Efficacy and Safety of COX-2 Inhibitors in the Clinical Management of Arthritis: Mini Review". *ISRN Pharmacology*. 2011: 480291. doi:10.5402/2011/480291. PMC 3197256. PMID 22084715.
16. Katzung BG (2007). *Basic & clinical pharmacology* (10th ed.). New York: McGraw-Hill Medical. p. 579. ISBN 9780071451536
17. Shi S, Klotz U (March 2008). "Clinical use and pharmacological properties of selective COX-2 inhibitors". *European Journal of Clinical Pharmacology*. 64 (3): 233–52. doi:10.1007/s00228-007-0400-7. PMID 17999057
18. Conaghan PG (June 2012). "A turbulent decade for NSAIDs: update on current concepts of classification, epidemiology, comparative efficacy, and toxicity". *Rheumatology International*. 32 (6): 1491–502. doi:10.1007/s00296-011-2263-6. PMC 3364420. PMID 22193214.
19. DiPiro, Joseph T., Robert L. Talbert, Gary C. Yee, Gary R. Matzke, Barbara G. Wells, and L. Michael Posey. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach (Pharmacotherapy (Dipiro) Pharmacotherapy (Dipiro))*. New York: McGraw-Hill Medical, 2008. Print.
20. Kurumbail RG, Stevens AM, Gierse JK, McDonald JJ, Stegeman RA, Pak JY, Gildehaus D, Miyashiro JM, Penning TD, Seibert K, Isakson PC, Stallings WC (1996). "Structural basis for selective inhibition of cyclooxygenase-2 by anti-inflammatory agents". *Nature*. 384 (6610): 644–8. doi:10.1038/384644a0. PMID 8967954.
21. Dadiboyena, S.; Nefzi, A. Synthesis of functionalized tetrasubstituted pyrazolylheterocycles. *Eur. J. Med. Chem.* 2011, 46, 5258-5275.
22. Dadiboyena, S.; Valente, E. J.; Hamme, A. T. II Synthesis of novel pyrazoles via [2+3]-dipolar cycloaddition using alkynesurrogates. *Tetrahedron Lett.* 2010, 51, 1341-1343/
23. Chowdhury, M. A.; Dong, Y.; Chen, Q.-H.; Abdellatif, K. R. A.; Knaus, E. E. Synthesis and cyclooxygenase inhibitory activities of linear 1-(methanesulfonylphenylorbenzenesulfonamido)-2-(pyridyl)acetyleneregioisomers. *Bioorg. Med. Chem.* 2008, 16, 1948-1956.
24. Penning, T. D.; Talley, J. J.; Bertenshaw, S. R.; Carter, J. S.; Collins, P. W.; Docter, S.; Graneto, M. J.; Lee, L. F.; Malecha, J. W.; Miyashiro, J. MRogers, R. S.; Rogier, D. J.; Yu, S. S.; Anderson, G. D.; Burton, E. G.; Cogburn, J. N.; Gregory, S. A.; Koboldt, C. M.; Perkins, W. E.; Seibert, K.; Veenhuizen, A. W.; Zhang, Y. Y.; Isakson, P. C. Synthesis and Biological Evaluation of the 1,5-Diarylpyrazole Class of Cyclooxygenase-2 Inhibitors: Identification of 4-[5-(4-Methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-1-yl]benzenesulfonamide (SC-58635, Celecoxib). *J. Med. Chem.* 1997, 40, 1347-1365.
25. Dadiboyena, S., & T. Hamme II, A. (2012). Synthesis of Celecoxib and

- Structural Analogs- A Review. *Current Organic Chemistry*, 16(11), 1390–1407. doi:10.2174/138527212800672664
26. Скворцова М. И., Станкевич И. В., Палулин В. А., Зефирова Н. С. Концепция молекулярного подобия и ее использование для прогнозирования свойств химических соединений // *Успехи химии*. – 2006.– Т. 75, № 11. – С. 1074–1093.
 27. Seifert M. H. J., Wolf K., Vitt D. Virtual high-throughput in silico screening // *Biosilico*. – 2003.– Т. 1, № 4. – С. 143–149.
 28. Clark D. E. Computational prediction of ADMET properties: Recent developments and future challenges // *Annual reports in computational chemistry* / Spellmeyer D. – USA: Elsevier Science, 2005. – С. 133–151. 7
 29. Tropsha A. Variable selection QSAR modeling, model validation, and virtual screening // *Annual reports in computational chemistry* / Spellmeyer D. C. – USA: Elsevier Science, 2006. – С. 113–126.
 30. . Раевский О. А. Дескрипторы молекулярной структуры в компьютерном дизайне биологически активных веществ // *Успехи химии*. – 1999.–Т. 68. – С. 555–576. 9.
 31. Mager D. E. Quantitative structure-pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2006. – Т. 58, № 12–13. – С. 1326–1356.
 32. Seifert M. H. J., Wolf K., Vitt D. Virtual high-throughput in silico screening // *Biosilico*. – 2003.– Т. 1, № 4. – С. 143–149. 10.
 33. Molecular connectivity in structure-activity analysis. *Chemometrics research studies press.* / Kier L. B., Hall L. H. – Letchworth, Herefordshire, England: John Wiley and Sons, 1986. – Т. 2: *Chemometrics Research Studies Press.*, – С. 1–101. 11.
 34. Kier L. B., Hall L. H. The electrotopological state: structure modeling for QSAR and database analysis // *Topological indices and related descriptors in QSAR and QSPAR* / Devillers J., Balaban A. T. – Amsterdam, The Netherlands: Gordon and Breach Science Publishers, 1999. – С. 307–336.
 35. C. Levinthal, S. J. Wodak, P. Kahn, A. K. Dadivanian. Hemoglobin interaction in sickle cell fibers. I: Theoretical approaches to the molecular contacts. (англ.) // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. — National Academy of Sciences, 1975-04-01. — Vol. 72, iss. 4. — P. 1330—1334. — ISSN 1091-6490 0027-8424, 1091-6490. — DOI:10.1073/pnas.72.4.1330.
 36. Oniga, S., Pacureanu, L., Stoica, C., Palage, M., Crăciun, A., Rusu, L., ... Araniciu, C. (2017). COX Inhibition Profile and Molecular Docking Studies of Some 2-(Trimethoxyphenyl)-Thiazoles. *Molecules*, 22(9), 1507. doi:10.3390/molecules22091507
 37. Alam, M. J., Alam, O., Khan, S. A., Naim, M. J., Islamuddin, M., & Deora, G. S. (2016). Synthesis, anti-inflammatory, analgesic, COX1/2-inhibitory activity, and molecular docking studies of hybrid pyrazole analogues. *Drug Design, Development and Therapy*, Volume 10, 3529–3543. doi:10.2147/dddt.s118297

38. Граник В.Г., Жидкова А.М., Курятов Н.С. и др. Ацетали лактамов. VII. Исследование алкилирования N-метиллактамов и лактимных эфиров диметилсульфатом// ХГС.- 1973.-№11.- С. 1532-1535.
39. F.C. Bernstein, T.F. Koetzle, G.J.B. Williams, E.F. Meyer Jr., M.D. Brice, J.R. Rodgers, O. Kennard, T. Shimanouchi, M. Tasumi // The Protein Data Bank: a computer-based archival file for macromolecular structures. *J. Mol. Biol.* – 1977. - 112: P.535-542N M O'Boyle, M Banck, C A James, C Morley, T Vandermeersch, and G R Hutchison. "Open Babel: An open chemical toolbox." *J. Cheminf.* (2011), 3, 33. DOI:10.1186/1758-2946-3-33
40. Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S. and Olson, A. J. (2009) Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *J. Computational Chemistry* 2009, 16: 2785-91.
41. Trott, O. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading [Text] / O. Trott, A. J. Olson // *Journal of Computational Chemistr.* – 2010. - V. 31. - P. 455-461.
42. Autodock Vina version 1.1.2 [Электронный ресурс] Режим доступа : <http://vina.scripps.edu/>.
43. LigPlot+ v.1.4 - multiple ligand-protein interaction diagrams for drug Discovery [Электронный ресурс] Режим доступа : <https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/software/LigPlus/>. Laskowski R A, Swindells M B (2011). LigPlot+: multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery. *J. Chem. Inf. Model.*, 51, 2778-2786. [PubMed id: 21919503]
44. PyMol 2.3 (PyMOL by Schrödinger) (без активації ліцензії, обмежений інтерфейс) [Електронний ресурс] Режим доступа : <https://pymol.org/2/buy.html?#academic>. The PyMOL Molecular Graphics System, Version 2.3 Schrödinger, LLC
45. UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. *J Comput Chem.* 2004 Oct;25(13):1605-12.

ДОДАТОК

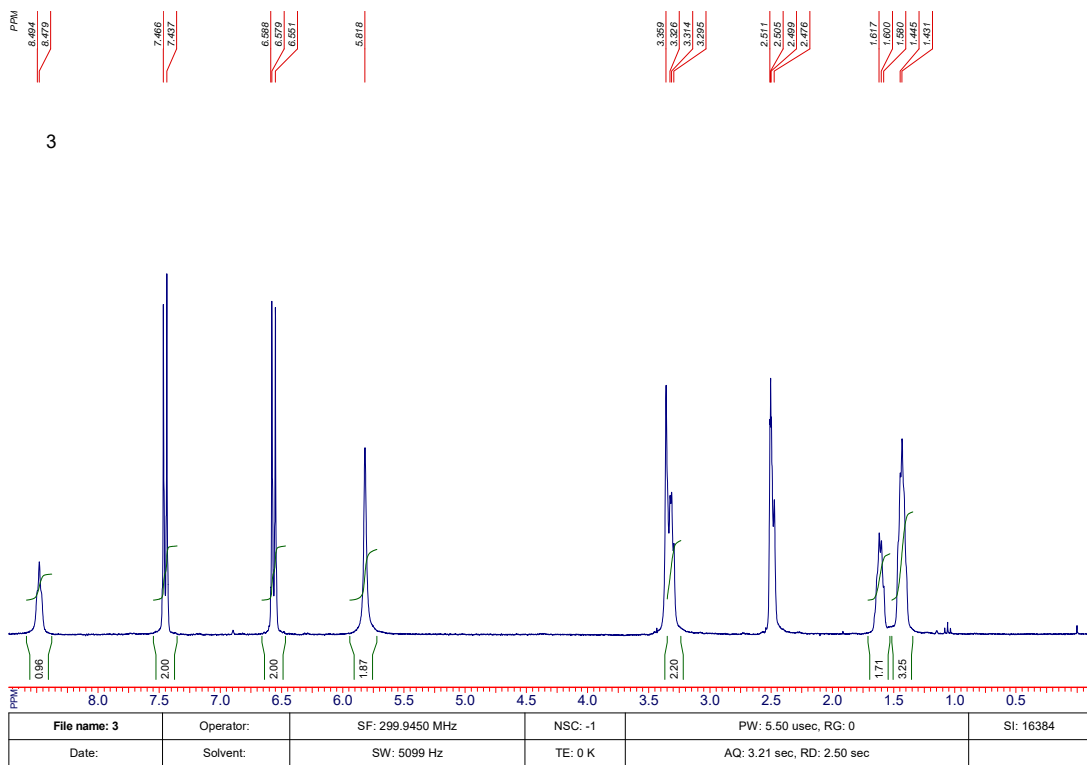


Рисунок 4.1 Спектр протонного магнітного резонансу 4-аміно-*N*-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-їл)-бензенсульфонамід (3)

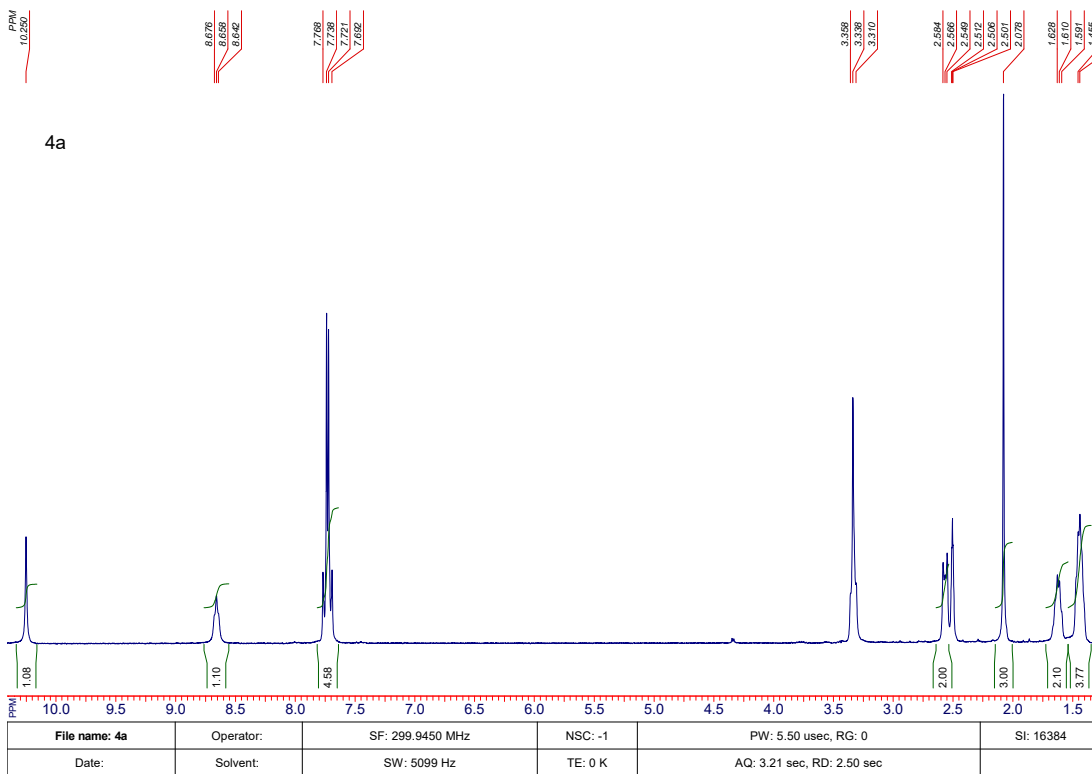


Рисунок 4.2 Спектр протонного магнітного резонансу *N*-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-їлсульфамойл)-феніл]-ацетамід (4a)
N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3*H*-азепін-2-їлсульфамойл)-феніл]-пропіонамід

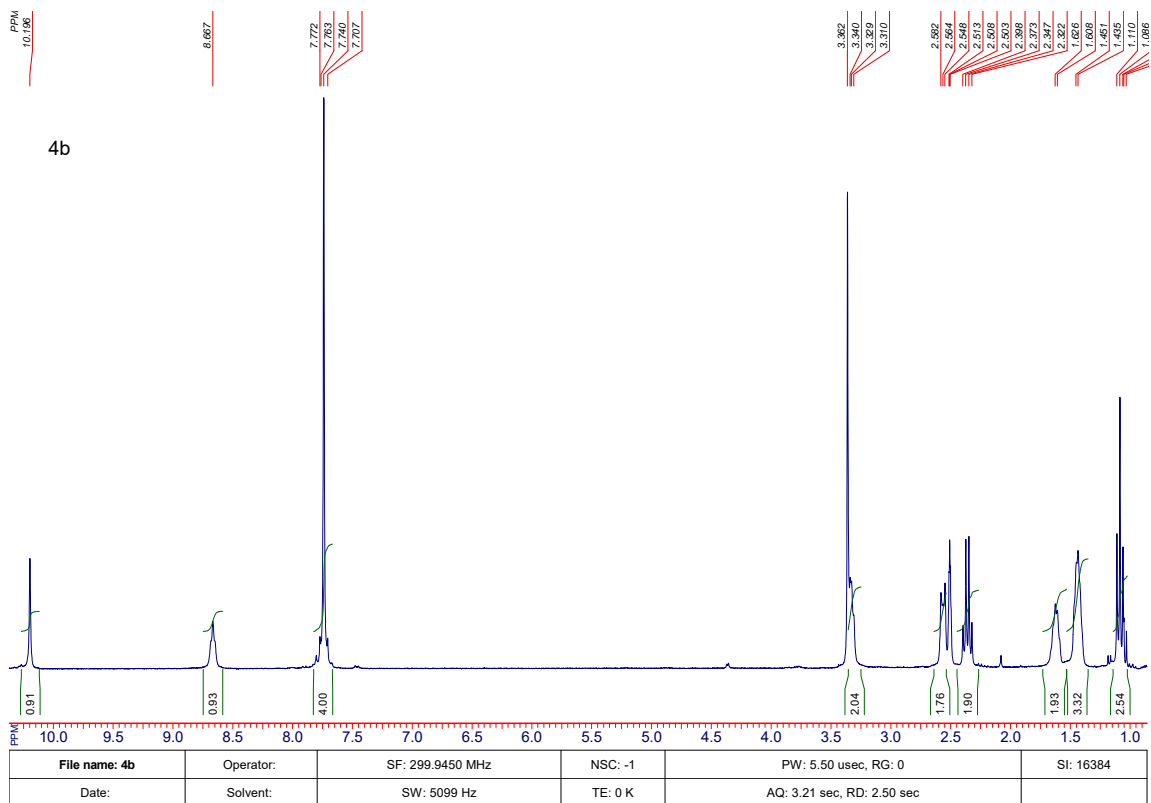


Рисунок 4.3 Спектр протонного магнітного резонансу N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-ілсульфамойл)-феніл]-пропіонамід (4b)

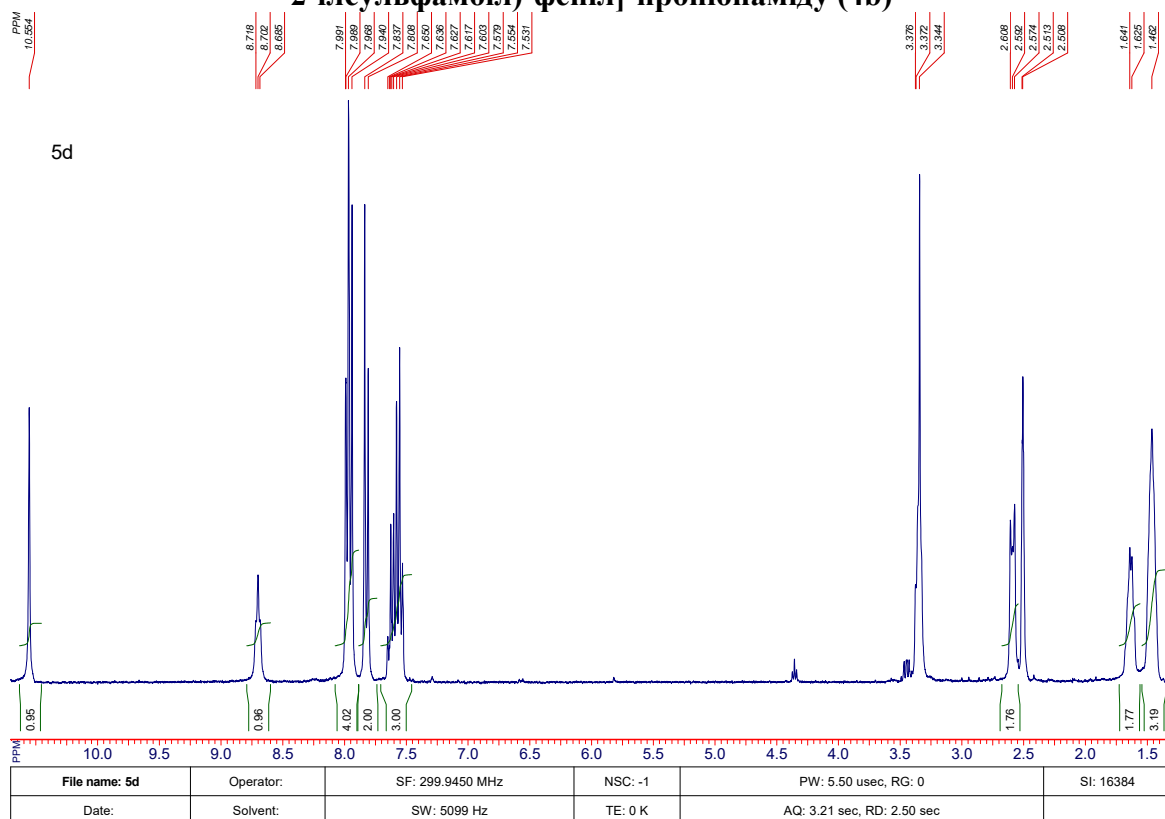


Рисунок 4.4 Спектр протонного магнітного резонансу N-[4-(4,5,6,7-тетрагідро-3H-азепін-2-ілсульфамойл)феніл]-бензамід (5d)