



УДК 547.461.3:615.212

НОВЫЕ ГИБРИДНЫЕ МОЛЕКУЛЫ НА ОСНОВЕ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ НИКОТИНОНИТРИЛОВ: СИНТЕЗ, АНАЛЬГЕТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ *in vivo* В ТЕСТЕ УКСУСНОКИСЛЫХ КОРЧЕЙ И МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ДОКИНГ¹

© 2022 г. Д. С. Кривоколыско*, В. В. Доценко**, ***, #, Е. Ю. Бибик*, А. А. Самокиш*, Ю. С. Венидиктова*, К. А. Фролов****, С. Г. Кривоколыско****, А. А. Панков****, Н. А. Аксенов***, И. В. Аксенова***

*Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки, ЛНР, Украина, 91045 Луганск, кв. 50-летия Оборона Луганска, 1г

**Кубанский государственный университет, Россия, 350040 Краснодар, ул. Ставропольская, 149

***Северо-Кавказский федеральный университет, Россия, 355009 Ставрополь, ул. Пушкина, 1-А

****Луганский государственный университет им. Владимира Даля, ЛНР, Украина, 91034 Луганск, кв. Молодежный, 20-А/7

Поступила в редакцию 23.08.2021 г.

После доработки 22.09.2021 г.

Принята к публикации 26.09.2021 г.

Синтезированы новые гибридные молекулы, содержащие фурановый и 1,4-дигидроникотинонитрильный (либо 1,4,5,6-тетрагидроникотинонитрильный) фрагменты. Проведено исследование анальгетической активности *in vivo* на крысах в тесте уксуснокислых корчей. Выявлены соединения, активность которых превосходит таковую для референтного препарата (метамизол натрия). Для всех соединений проведен молекулярный докинг к циклооксигеназе-1 и циклооксигеназе-2, а также докинг с целью поиска наиболее вероятных протеиновых мишеней.

Ключевые слова: никотинонитрилы, 1,4-дигидропиридины, 1,4,5,6-тетрагидропиридины, анальгетики, молекулярный докинг

DOI: 10.31857/S0132342322030101

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире особое внимание уделяется хроническому болевому синдрому, который часто возникает как следствие различных патологических процессов. Так, боль – неотъемлемый спутник более чем у 60% онкологических больных, особенно при наличии распространенного опухолевого процесса [1–3]. Среди существующих в настоящее время лекарственных средств нестероидного происхождения наиболее мощной противовоспалительной активностью обладают индометацин, кеторолак, ибупрофен и диклофенак [4–6]. Однако вызываемая ими гастропатия в ряде случаев ограничивает длительное применение этих препаратов (см., например, работу Vargassi et al. [7]). По этой причине на сегодняшний

день остро стоит вопрос разработки, исследования и введения в клиническую практику новых высокоэффективных, безопасных и доступных низкомолекулярных анальгетиков нового поколения [8–10]. Особый интерес с этой точки зрения представляют частично насыщенные производные никотинонитрила (3-цианопиридина) – синтетически доступные соединения, для которых недавно была выявлена высокая активность в отношении вирусов рода *Flavivirus* (вирус клещевого энцефалита, вирус Повассан [11]), выраженные противовоспалительные [12] и аналептические эффекты [13], адаптогенное [14] и анальгетическое действие [15]. Несмотря на достаточно хорошую изученность никотинонитрилов (обзорные работы [16–19]), частично гидрированные аналоги исследованы в недостаточной мере, особенно в плане их биологической активности.

В последние годы весьма популярное направление дизайна лекарственных средств – синтез так называемых гибридных, или мультимодальных, молекул [20–25]. Данная концепция основана на соединении в одной молекуле фрагментов с различными фармакотерапевтическим профилем, связанных непосредственно либо через гибкий спейсер. Следствием такой “конъюгации” может

¹ Дополнительные материалы для этой статьи доступны по doi 10.31857/S0132342322030101 для авторизованных пользователей.

Сокращения: НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты; ADMET (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicity) – фармакокинетические параметры: абсорбция, распределение, метаболизм, экскреция, токсичность; COX-1 – циклооксигеназа-1; COX-2 – циклооксигеназа-2.

Автор для связи: (эл. почта: victor_dotsenko@mail.ru).

быть усиление действия препарата за счет более эффективного связывания с протеиновой мишенью, возникновение новых видов активности, устранение побочных эффектов или снижение резистентности к препарату.

Цель настоящей работы — создание гибридных молекул, связывающих фармакофорные субъединицы — фрагменты частично гидрированного пиридинового цикла и 2-фурильный остаток, и изучение анальгетической активности полученных соединений *in vivo* в тесте уксуснокислых корчей. Частично насыщенные пиридиновые субъединицы относятся к группе привилегированных скаффолдов [26, 27]. Выбор фуранового фрагмента обусловлен биологической значимостью производных фурана [28–31] и препаративным удобством введения 2-фурильного заместителя.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Скрининг соединений. С использованием программных сервисов OSIRIS Property Explorer [32], SwissADME [33], admetSAR [34] и GUSAR [35] проведена оценка параметров ADMET (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicity) и соответствия критериям биодоступности для базы соединений из 170 синтезированных нами ранее новых серосодержащих производных 1,4-ди- и 1,4,5,6-тетрагидропиридинов, содержащих

2-фурильный заместитель в положении 4 пиридинового цикла. Оценивались следующие параметры: молекулярная масса соединения, липофильность как $cLogP$ — логарифм коэффициента распределения между *n*-октанолом и водой $\log(c_{\text{octanol}}/c_{\text{water}})$, TPSA (топологическая полярная площадь поверхности), число акцепторов и доноров водородных связей, растворимость ($\log S$), ряд токсикологических характеристик (расчетный мутагенный потенциал по Эймсу, острая токсичность и др.), возможность гастроинтестинальной абсорбции и проникновения через гематоэнцефалический барьер, общая оценка фармакологического потенциала соединения (drug score) (см. дополнительные материалы, табл. S1 и S2). По результатам анализа из библиотеки были отобраны пять соединений (I–V) (схема 1), которые по большей части соответствуют критериям пероральной биодоступности, не обнаруживают прогнозируемого риска токсичных эффектов и имеют достаточно высокие предсказанные значения показателя фармакологического потенциала соединения (drug score). Расчетная оценка острой токсичности позволяет отнести соединения (I–V) к IV и V классам опасности согласно критериям OECD [36]. С помощью онлайн-сервиса Swiss Target Prediction [37, 38] также проведена предварительная оценка биомишеней.

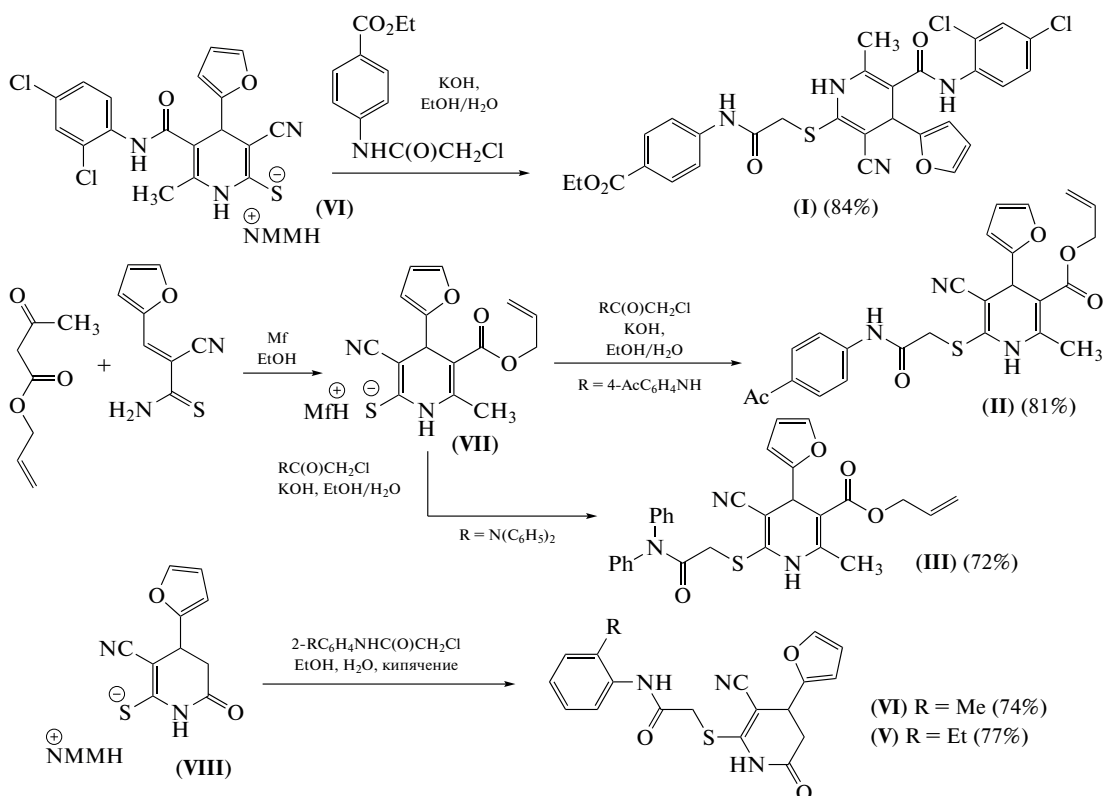


Схема 1. Синтез 4-(2-фурил)-1,4-дигидропиридин-3-карбонитрилов (I–III) и 4-(2-фурил)-1,4,5,6-тетрагидропиридин-3-карбонитрилов (IV) и (V). NMM — *N*-метилморфолин, Mf — морфолин.

Отобранные с помощью программ виртуального биоскрининга пять образцов серосодержащих ди- и тетрагидропиридинов наиболее перспективны с учетом предполагаемых биомишеней для фармакокоррекции болевого синдрома. Возможными мишенями для соединений (I–V), по предварительным оценкам, могут быть циклооксигеназы COX-1 и COX-2.

Синтез соединений (I–V). Исходный 6-метил-4-(2-фурил)-5-[(2,4-дихлорфенил)карбамоил]-3-циано-1,4-дигидропиридин-2-тиолат *N*-метилморфолина (VI), необходимый для получения соединения (I), был синтезирован по общей процедуре, описанной в работах [39–41] (схема 1). Соединение (I) синтезировано последующим *S*-алкилированием исходного тиолата (VI) *N*-хлорацетильным производным бензокаина в водно-спиртовой среде в присутствии 10%-ного раствора КОН. Необходимый для получения 1,4-дигидроникотинитрилов (II) и (III) 5-(аллилокси)карбонил]-6-метил-4-(2-фурил)-3-циано-1,4-дигидропиридин-2-тиолат морфолина (VII) был получен по описанной в литературе процедуре [42, 43]. Серосодержащие дигидропиридины (II) и (III) были получены алкилированием тиолата (VII) соответствующими α -хлорацетамидами. При нагревании 1,4,5,6-тетрагидропиридин-2-тиолата (VIII) [44–46] в водном спирте с *орто*-*R*-замещенными хлорацетанилидами получали целевые соединения (IV) и (V) (схема 1).

Строение соединений (I–V) подтверждено данными ИК- и ЯМР-спектроскопии на ядрах ^1H и ^{13}C . Данные спектров приведены в дополнительных материалах.

Альгетическая активность соединений (I–V) *in vivo* в тесте уксуснокислых корчей. Определение альгетической активности соединений проводили на модели уксуснокислых корчей, основанной на сокращении абдоминальной мускулатуры вследствие раздражения серозной оболочки введенным внутрибрюшинно раствором уксусной

кислоты. Критерием альгетической активности в этом тесте считается достоверное уменьшение числа корчей в получавшей лекарственное средство группе животных относительно контрольной группы при условии отсутствия у соединения миорелаксантного действия [47, 48].

Опыты проводили на половозрелых крысах-самцах ($n = 70$) в осенне-зимний период согласно рекомендациям [49–51]. Крыс разделили на семь групп ($n = 10$): контрольную (с моделируемой перитонитомической болью без фармакокоррекции), референтную (группа сравнения – аналгин) и пять опытных групп по количеству исследуемых соединений (I–V). Крысам референтной группы вводили аналгин (7 мг/кг), животным опытных групп – соединения (I–V) (внутрибрюшно, 5 мг/кг) за 1.5 ч до введения альгогена. Альгоген (уксусную кислоту) вводили внутрибрюшинно в объеме 1.0 мл 7%-ного раствора однократно [47–49], через 20 мин подсчитывали число уксуснокислых корчей за 15-минутный интервал.

Полученные экспериментальные данные, зафиксированные в процессе наблюдения за подопытными животными контрольной группы, в цифровом выражении по количеству уксуснокислых корчей приведены в табл. 1. Так, результаты анализа полученного массива данных показали, что спустя 20 мин после внутрибрюшинного введения 1 мл 7%-ной уксусной кислоты крысы начинали оттягивать задние конечности кзади, переднюю брюшную стенку они прижимали ко дну клетки. При этом все крысы этой группы испытывали жажду. На протяжении 15 мин наблюдения количество уксуснокислых корчей составило 23.0. Использование нестероидного противовоспалительного препарата (НПВП) метамизола натрия (анальгина) (референтная группа) за 1.5 ч до инъекции альгогена (раствора уксусной кислоты) способствовало уменьшению числа корчей на 8.7% (до 21.0).

Таблица 1. Дисперсионный анализ показателей альгетической активности соединений (I–V) *in vivo* на крысах в тесте уксуснокислых корчей

Группа животных	Доза, мг/кг	Среднее арифметическое, a	Дисперсия, σ^2	Среднеквадратичное отклонение, σ	Коэффициент вариации, V
Контроль	–	23.0	2.22	1.49	6.48
Аналгин	7	21.0	1.78	1.33	6.35
(I)	5	18.8	0.84	0.91	4.89
(II)	5	14.9	0.99	0.99	6.70
(III)	5	17.6	1.15	1.07	6.11
(IV)	5	15.3	0.9	0.95	6.20
(V)	5	10.3	1.34	1.16	11.26

Примечание: животным контрольной группы вводили 1 мл 7%-ного раствора уксусной кислоты внутрибрюшинно.

Как видно из приведенных в табл. 1 данных, все исследуемые соединения (I–V), вводимые внутригастрально, способны уменьшать число укуснокислых корчей у крыс опытных групп после внутрибрюшинной инъекции 1 мл 7%-ного раствора укусной кислоты в большей степени, чем препарат сравнения. Так, у лабораторных животных, получавших соединение (I) за 90 мин до введения алгогена, установлено уменьшение укуснокислых корчей в сравнении с контрольной группой крыс на 18.3%. В опытной группе животных, получавших с целью фармакокоррекции острого болевого синдрома 1,4-дигидропиридин (III), выявлено снижение укуснокислых корчей на 23.5% в сравнении с крысами контрольной группы. Тетрагидропиридин (IV) еще более эффективен как анальгетик – в этой группе зарегистрировано снижение изучаемого количественного показателя на 33.5% в сравнении с крысами контрольной группы без фармакокоррекции (эффективнее анальгина на 27.1%).

Наиболее значимые результаты в эксперименте были зарегистрированы в опытных группах крыс, получавших 1,4-дигидроникотинитрил (II) и тетрагидроникотинитрил (V). Соединение (II), содержащее в своей структуре фрагмент *para*-аминобензойной кислоты, способно на 35.2% уменьшать число укуснокислых корчей при сопоставлении с показателями в контрольной группе. Сравнение с крысами референтной группы показало, что соединение (II) в 1.4 раза эффективнее анальгина устраняет острый болевой синдром. Введение соединения (V) привело к уменьшению числа укуснокислых корчей на 55.2% по сравнению с контрольной группой. При этом его анальгетическая активность превышает таковую у анальгина в 2.04 раза.

Молекулярный докинг. Молекулярный докинг соединений (I–V) проводили с использованием веб-сервиса Webina 1.0.3 (<https://durrant-lab.pitt.edu/webina/>) – онлайн-приложения для запуска AutoDock Vina в браузере [52]. Кристаллографические модели целевых белков – циклооксигеназ COX-1 (PDB ID 1HT5) и COX-2 (PDB ID 1CX2) – были взяты из Protein Data Bank (www.rcsb.org) и подготовлены с использованием Autodock Tools (<https://autodock.scripps.edu/>). В качестве соединений сравнения использовали НПВП из группы неселективных ингибиторов COX-1 (ибупрофен, диклофенак, индометацин, кеторолак, аспирин), а также селективных ингибиторов COX-2 (мелоксикам, нимесулид, вальдекоксиб). 3D-структуры препаратов сравнения были взяты из базы Drugbank (<https://go.drugbank.com/>). В табл. 2 приведены значения рассчитанных скоринг-функций связывания соединений (I–V) и референтных препаратов с активными сайтами циклооксигеназ COX-1 и COX-2.

Исходя из результатов, приведенных в табл. 2, наибольшую аффинность к циклооксигеназам COX-1 и COX-2 проявляют соединения (I), (III) и (V). При этом все соединения (I–V) обнаруживают большее сродство к COX-1 и COX-2 в сравнении с НПВП из числа неселективных ингибиторов COX-1. Селективные ингибиторы COX-2 из числа референтных соединений (особенно мелоксикам) показывают большую аффинность к COX-2, нежели исследуемые соединения, тогда как для COX-1 результаты можно считать сопоставимыми.

С целью определения других возможных протеиновых мишеней для соединений (I–V) был проведен поиск с использованием нового протокола протеин-лигандного докинга GalaxySagittarius [53] на базе веб-сервера GalaxyWeb [54, 55]. 3D-структуры соединений были предварительно оптимизированы средствами молекулярной механики в силовом поле MM2 для выбора геометрии, соответствующей минимуму энергии. Молекулярный докинг с использованием протокола GalaxySagittarius проводили в режимах Binding compatability prediction и Re-ranking using docking. В табл. S3 (см. дополнительные материалы) представлены результаты докинга по каждому из соединений (I–V) для 20 комплексов “протеин–лиганд” с минимальным значением свободной энергии связывания ΔG_{bind} и наилучшей итоговой оценкой протеин-лигандного взаимодействия. Прогнозируемые протеиновые мишени указаны с помощью ID-идентификаторов в Protein Data

Таблица 2. Значения скоринг-функций для соединений (I–V) и препаратов сравнения

Соединение	Рассчитанное значение скоринг-функции, ккал/моль	
	COX-1 (PDB ID 1HT5)	COX-2 (PDB ID 1CX2)
(I)	–10.1	–7.3
(II)	–8.2	–6.6
(III)	–9.4	–7.0
(IV)	–8.9	–6.8
(V)	–9.0	–7.2
Анальгин	–7.7	–6.3
Ибупрофен	–6.4	–5.9
Диклофенак	–7.1	–6.1
Индометацин	–9.2	–7.4
Кеторолак	–7.2	–6.5
Аспирин	–5.7	–6.1
Мелоксикам	–9.6	–9.7
Нимесулид	–8.2	–9.0
Валдекоксиб	–8.5	–8.5

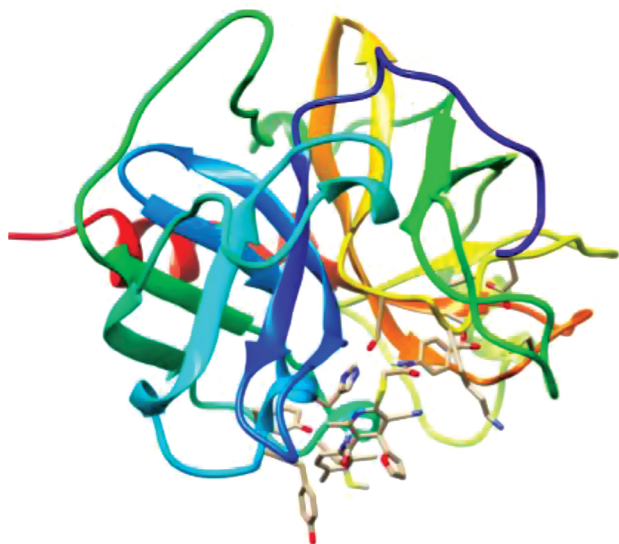


Рис. 1. Прогнозируемая структура протеин-лигандного комплекса дигидропиридина (I) и фактора свертывания крови XIIIa (PDB ID 4X6O).

Bank (PDB) и в базе данных UniProt. В целом можно отметить, что общие мишени для соединений (I–V) – фактор свертывания крови Xa (PDB ID 2P95), рецептор эпидермального фактора роста (EGFR, PDB ID 3BEL), активируемый пероксисомными пролифераторами рецептор-гамма (hPPARgamma, PDB ID 2VV0), рецептор-1 свободных жирных кислот (GPR40, PDB ID 5TZR), X-рецептор печени (LXRβ, PDB ID 5JY3) и ряд других. Тетрагидропиридины (IV) и (V) – вероятные лиганды для протеинкиназы A (PDB ID

4UJA), первого бромодомена бромодомен-содержащего белка 4 (BRD4, PDB ID 5D3S), мутантной Vcr-Abl^{T315I} тирозинкиназы (PDB ID 4TWP), играющей ключевую роль в патогенезе хронического миелоидного лейкоза, а также для тирозин-протеинкиназы ITK (PDB ID 4PQN). Следует отметить более высокое сродство к протеиновым мишеням производных 1,4-дигидропиридина (I–III) в сравнении с 1,4,5,6-тетрагидропиридинами (IV) и (V). На рис. 1 и 2 представлены 3D-визуализации отдельных комплексов “лиганд–рецептор” для соединений (I) и (V).

В целом по результатам докинга соединения (I–V) представляют интерес для дальнейшего скрининга с целью поиска антитромботических, противоопухолевых агентов, средств для лечения аутоиммунных заболеваний.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Оборудование и общие условия идентификации соединений. Спектры ЯМР ¹H и ¹³C регистрировали на спектрометре 400/MR (Agilent, США; 400 и 100 МГц соответственно) в растворе ДМСО-*d*₆, в качестве стандарта использовали остаточные сигналы растворителя (δ 2.49, 39.50 м.д., ДМСО). ИК-спектры получали на спектрофотометре Vertex 70 (Bruker, Германия) с приставкой НПВО на кристалле алмаза, погрешность ± 4 см⁻¹. Элементный анализ проводили на приборе Elementar Vario Microcube (Elementar, Германия). Индивидуальность полученных образцов контролировали методом ТСХ на пластинах Сорбфил-А (ООО “Имид”, Краснодар, Россия), элюент – аце-

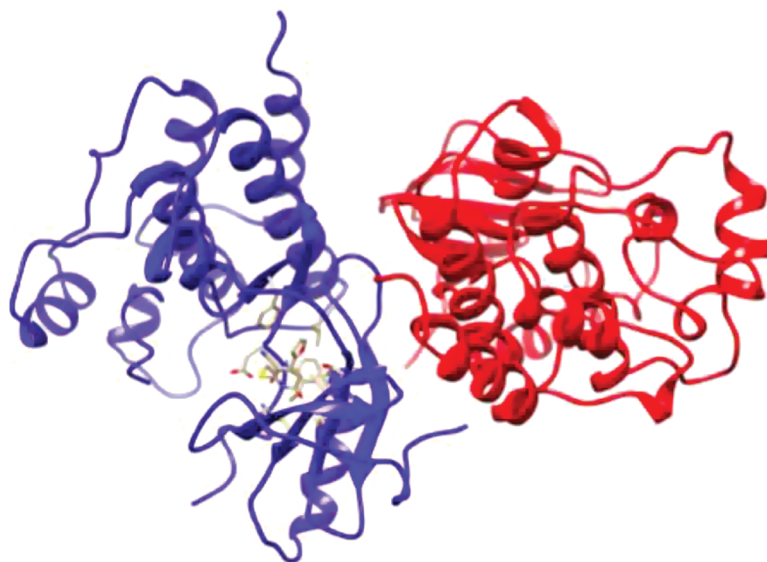


Рис. 2. Прогнозируемая структура протеин-лигандного комплекса тетрагидропиридина (V) и протоонкогенной серин-треониновой протеинкиназы B-raf (PDB ID 4MBJ).

тон–гексан, 1 : 1, проявитель – пары иода, УФ-детектор.

Этиловый эфир 4-(2-((6-метил-4-(2-фурил)-5-((2,4-дихлорфенил)карбамоил)-3-циано-1,4-дигидропиридин-2-ил)тио)ацетамидо)бензойной кислоты (I). 1,4-Дигидропиридин-2-тиолат *N*-метилморфолиния (VI) [41] (0.6 г, 1.18 ммоль) суспендировали в 5 мл EtOH, добавляли при перемешивании 0.65 мл (1.25 ммоль) 10%-ного водного КОН. Полученный раствор через бумажный фильтр прибавляли к теплomu (40–50°C) раствору этилового эфира 4-(2-хлорацетамидо)бензойной кислоты (0.29 г, 1.18 ммоль) в 3 мл EtOH. Смесь перемешивали и нагревали (40–50°C), в течение 5 мин образовывался осадок, который через 12 ч отфильтровывали, промывали водным EtOH и высушивали при 60°C. Белый порошок, выход 0.61 г (84%).

Аллиловые эфиры 6-[(2-(*R*-амино-2-оксоэтил)тио)-2-метил-4-(2-фурил)-5-циано-1,4-дигидропиридин-3-карбоновой кислоты (II), (III)]. **Общая методика.** 1,4-Дигидропиридин-2-тиолат морфолиния (VII) [42, 43] (0.75 г, 1.93 ммоль) суспендировали в 8 мл EtOH, добавляли при перемешивании 1.0 мл (1.93 ммоль) 10%-ного водного КОН и перемешивали до растворения. Полученный раствор через бумажный фильтр медленно прибавляли к раствору соответствующего α -хлорацетамидо (1.95 ммоль) в EtOH (5–6 мл). Смесь перемешивали в течение 3 ч, осадок отфильтровывали, промывали водным EtOH и высушивали при 60°C.

Аллиловый эфир 6-[[2-(4-ацетилфенил)амино-2-оксоэтил]тио]-2-метил-4-(2-фурил)-5-циано-1,4-дигидропиридин-3-карбоновой кислоты (II). Белый порошок, выход 81%.

Аллиловый эфир 2-метил-6-[[2-(дифениламино)-2-оксоэтил]тио]-4-(2-фурил)-5-циано-1,4-дигидропиридин-3-карбоновой кислоты (III). Бежевый порошок, выход 72%.

2-[[6-Оксо-4-(2-фурил)-3-циано-1,4,5,6-тетрагидропиридин-2-ил]тио]-*N*-(2-*R*-фенил)ацетамиды (IV), (V). **Общая методика.** Тетрагидропиридин-2-тиолат *N*-метилморфолиния (VIII) [44–46] (0.5 г, 1.6 ммоль) растворяли при нагревании в 60%-ном EtOH (7 мл). Полученный раствор через бумажный фильтр добавляли к теплomu (40–50°C) раствору соответствующего *орто*-*R*-замещенного хлорацетанилида (1.6 ммоль) в EtOH (3–4 мл) при перемешивании. Выпавший осадок через 48 ч отфильтровывали, промывали 60%-ным EtOH и петролейным эфиром, высушивали при 60°C.

***N*-(2-Метилфенил)-2-[[6-оксо-4-(2-фурил)-3-циано-1,4,5,6-тетрагидропиридин-2-ил]тио]ацетамид (IV).** Бежевый порошок, выход 74%.

2-[[6-Оксо-4-(2-фурил)-3-циано-1,4,5,6-тетрагидропиридин-2-ил]тио]-*N*-(2-этилфенил)ацетамид (V). Бежевый порошок, выход 77%.

Данные спектров и элементного анализа соединений (I–V) приведены в дополнительных материалах.

Анальгетическое действие соединений (I–V) *in vivo* на крысах в тесте уксуснокислых корчей. Опыты проведены на белых беспородных крысах-самцах ($n = 70$) массой 220–250 г половозрелого возраста (6 месяцев) из вивария ГУ ЛНР “Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки” в осенне-зимний период согласно рекомендациям [49–51]. Перед началом эксперимента проводили тщательный осмотр всех крыс, учитывали их вес, возраст, двигательную активность и состояние шерстяного покрова. Экспериментальные группы, состоящие из 10 крыс, формировали методом случайного отбора. Крысы были распределены на семь групп: контрольную (с моделируемой перитонвисцеральной болью без фармакокоррекции), референтную (группа сравнения – аналгин) и пять опытных групп по количеству исследуемых соединений (I–V). Альгоген (уксусную кислоту) вводили в объеме 1.0 мл 7%-ного раствора однократно, согласно классическим фармакологическим методикам [47–49]. В качестве препарата сравнения для референтной группы крыс использовали аналгин (метамизол натрия, ОАО “Фармстандарт”, Россия) в дозе 7 мг/кг. Соединения (I–V) вводили внутривентриально в дозе 5 мг/кг за 1.5 ч до введения используемого альгогена. Количественная экспериментальная характеристика в работе – число уксуснокислых корчей за 15-минутный интервал через 20 мин после введения альгогена (1.0 мл 7%-ного раствора уксусной кислоты внутривентриально).

Статистическую обработку полученных результатов проводили на основе рекомендаций [49–51] и по известным формулам и методам математической статистики, характеризующим количественную изменчивость. При обработке экспериментальных данных определяли следующие показатели: среднее арифметическое число чесательных движений a , дисперсия значений σ^2 вокруг среднего арифметического, среднеквадратическое отклонение σ , коэффициент вариации V . Достоверность различий между референтной и опытными группами оценивали в сравнении с контрольной группой по t -тесту Стьюдента.

Молекулярный докинг. Молекулярный докинг к циклооксигеназам COX-1 и COX-2 выполняли с помощью сервиса Webina 1.0.3 (<https://durrantlab.pitt.edu/webina/>), молекулярный докинг с целью поиска новых вероятных протеиновых мишеней – с использованием сервиса GalaxySagittarius [53] на базе веб-сервера GalaxyWeb [54, 55]. Молекулярную графику обрабатывали и визуализировали с использованием программного комплекса UCSF Chimera [56, 57].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В соответствии с критериями биодоступности и оценкой параметров ADMET из библиотеки 170 производных пиридина отобраны синтезированные нами в лаборатории “Химэкс” пять соединений – производные 4-(2-фурил)-1,4-дигидроникотинонитрила и 4-(2-фурил)-1,4,5,6-тетрагидроникотинонитрила. Исследовано *in vivo* анальгетическое действие указанных соединений в тесте уксуснокислых корчей на крысах. Все исследованные соединения проявили анальгетическую активность различных степеней выраженности, превышающую таковую у метамизола натрия. Анальгетическое действие тетрагидропиридина (V) более чем в 2 раза превышает таковое для препарата сравнения (анальгин). Проведен молекулярный докинг соединений по отношению к COX-1 и COX-2, а также докинг с целью поиска других вероятных мишеней. Результаты докинга показывают, что наибольшим сродством к активным центрам COX-1 и COX-2 обладают соединения (I), (III) и (V).

Новые соединения представляют интерес для дальнейших исследований в области поиска противовоспалительных средств и средств фармакотерапии болевого синдрома.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования проведены с использованием оборудования Научно-образовательного центра “Диагностика структуры и свойств наноматериалов” и оборудования Центра коллективного пользования “Эколого-аналитический центр” Кубанского государственного университета.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта МФИ-20.1-26/20 (заявка № МФИ-20.1/45) и Министерства образования и науки Российской Федерации (тема 0795-2020-0031).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследования проведены в соответствии с правилами качественной лабораторной практики при проведении доклинических исследований в России (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199н от 01.04.2016 г.), а также в соответствии с нормами и принципами Директивы Совета ЕС по вопросам защиты позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mitra R., Jones S. // *Am. J. Hospice Palliat. Med.* 2012. V. 29. P. 70–79. <https://doi.org/10.1177/1049909111413256>
2. van den Beuken-van Everdingen M.H., de Graeff A., Jon-gen J.L., Dijkstra D., Mostovaya I., Vissers K.C., *National Guideline Working Group “Diagnosis Treatment of Cancer Pain”* // *Pain Practice.* 2017. V. 17. P. 409–419. <https://doi.org/10.1111/papr.12459>
3. Magee D.J., Jhanji S., Poulgiannis G., Farquhar-Smith P., Brown M.R.D. // *Brit. J. Anaesth.* 2019. V. 123. P. e412–e423. <https://doi.org/10.1016/j.bja.2019.02.028>
4. Lucas S. // *Headache.* 2016. V. 56. P. 436–446. <https://doi.org/10.1111/head.12769>
5. Wakai A., Lawrenson J.G., Lawrenson A.L., Wang Y., Brown M.D., Quirke M., Ghandour O., McCormick R., Walsh C.D., Amayem A., Lang E., Harrison N. // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2017. CD009781. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009781.pub2>
6. Wijfen P.J., Xia J. // *Curr. Med. Res. Opin.* 2020. V. 36. P. 637–650. <https://doi.org/10.1080/03007995.2020.1716703>
7. Varrassi G., Pergolizzi J.V., Dowling P., Paladini A. // *Adv. Therap.* 2020. V. 37. P. 61–82. <https://doi.org/10.1007/s12325-019-01144-9>
8. Díaz-González F., Sánchez-Madrid F. // *Eur. J. Immunol.* 2015. V. 45. P. 679–686. <https://doi.org/10.1002/eji.201445222>
9. Yousefifard M., Zali A., Zarghi A., Madani Neishaboori A., Hosseini M., Safari S. // *Int. J. Clin. Pract.* 2020. V. 74. P. e13557. <https://doi.org/10.1111/ijcp.13557>
10. Machado G.C., Maher C.G., Ferreira P.H., Day R.O., Pinheiro M.B., Ferreira M.L. // *Ann. Rheumat. Diseases.* 2017. V. 76. P. 1269–1278. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2016-210597>
11. Osolodkin D.I., Kozlovskaya L.I., Dueva E.V., Dotsenko V.V., Rogova Y.V., Frolov K.A., Krivokolysko S.G., Romanova E.G., Morozov A.S., Karganova G.G., Palyulin V.A., Pentkovskii V.M., Zefirov N.S. // *ACS Med. Chem. Lett.* 2013. V. 4. P. 869–874. <https://doi.org/10.1021/ml400226s>
12. Бибик Е.Ю., Ярошевская О.Г., Девдера А.В., Деменко А.В., Захаров В.В., Фролов К.А., Доценко В.В., Кривоколыско С.Г. // *Хим.-фарм. журн.* 2017. Т. 51. С. 16–19. [Bibik E. Yu., Yaroshevskaya O.G., Devdera A.V., Demenko A.V., Zakharov V.V., Frolov K.A., Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G. // *Pharm. Chem. J.* 2017. V. 51. P. 648–651.] <https://doi.org/10.1007/s11094-017-1669-1>
13. Bibik E. Yu., Saphonova A.A., Yeryomin A.V., Frolov K.A., Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G. // *Res. Results Pharmacol.* 2017. V. 3. P. 20–25. <https://doi.org/10.18413/2313-8971-2017-3-4-20-25>
14. Бибик Е.Ю., Некраса И.А., Деменко А.В., Фролов К.А., Доценко В.В., Кривоколыско С.Г. // *Бюлл. сиб. мед.* 2019. Т. 18. С. 21–28. [Bibik E. Yu., Nekrasa I.A., Demenko A.V., Frolov K.A., Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G. // *Bull. Sib. Med.* 2019. V. 18. P. 21–28.] <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-21-28>

15. *Bibik I.V., Bibik E.Yu., Dotsenko V.V., Frolov K.A., Krivokolysko S.G., Aksenov N.A., Aksenova I.V., Shcherbakov S.V., Ovcharov S.N.* // *Russ. J. Gen. Chem.* 2021. V. 91. P. 154–166.
<https://doi.org/10.1134/S107036322102002X>
16. *Litvinov V.P.* // *Russ. Chem. Rev.* 2006. V. 75. P. 577–599.
<https://doi.org/10.1070/RC2006v075n07ABEH003619>
17. *Salem M.A., Helel M.H., Gouda M.A., Ammar Y.A., El-Gaby M.S.A.* // *Synth. Commun.* 2018. V. 48. P. 345–374.
<https://doi.org/10.1080/00397911.2017.1394468>
18. *Gouda M.A., Hussein B.H., Helal M.H., Salem M.A.* // *J. Heterocycl. Chem.* 2018. V. 55. P. 1524–1553.
<https://doi.org/10.1002/jhet.3188>
19. *Gouda M.A., Attia E., Helal M.H., Salem M.A.* // *J. Heterocycl. Chem.* 2018. V. 55. P. 2224–2250.
<https://doi.org/10.1002/jhet.3298>
20. *Decker M.* // *Mini Rev. Med. Chem.* 2007. V. 7. P. 221–229.
<https://doi.org/10.2174/138955707780059817>
21. *Shaveta, Mishra S., Singh P.* // *Eur. J. Med. Chem.* 2016. V. 124. P. 500–536.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.08.039>
22. *Auti P.S., George G., Paul A.T.* // *RSC Adv.* 2020. V. 10. P. 41353–41392.
<https://doi.org/10.1039/d0ra06642g>
23. *Ivasiv V., Albertini C., Gonçalves A.E., Rossi M., Bolognesi M.L.* // *Curr. Top. Med. Chem.* 2019. V. 19. P. 1694–1711.
<https://doi.org/10.2174/1568026619666190619115735>
24. *Prasher P., Sharma M., Aljabali A.A.A., Gupta G., Negi P., Kapoor D.N., Singh I., Zaccani F.C., de Jesus Andreoli Pinto T., da Silva M.W., Bakshi H.A., Chellappan D.K., Tambuwala M.M., Dua K.* // *Drug Dev. Res.* 2020. V. 81. P. 837–858.
<https://doi.org/10.1002/ddr.21704>
25. *Panda P., Chakroborty S.* // *ChemistrySelect.* 2020. V. 5. P. 10187–10199.
<https://doi.org/10.1002/slct.202002790>
26. *Yet L.* // *Privileged Structures in Drug Discovery: Medicinal Chemistry and Synthesis*, 1st ed. JohnWiley & Sons Inc.: Hoboken, NJ, USA, 2018.
27. *Welsch M.E., Snyder S.A., Stockwell B.R.* // *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2010. V. 14. P. 347–361.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.02.018>
28. *Lukevits É., Demicheva L.* // *Chem. Heterocycl. Compd.* 1993. V. 29. P. 243–267.
<https://doi.org/10.1007/BF00531499>
29. *Barros M.R., Menezes T.M., da Silva L.P., Pires D.S., Princival J.L., Seabra G., Neves J.L.* // *Int. J. Biol. Macromol.* 2019. V. 136. P. 1034–1041.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.120>
30. *Chiurchiù E., Gabrielli S., Ballini R., Palmieri A.* // *Molecules.* 2019. V. 24. P. 4575.
<https://doi.org/10.3390/molecules24244575>
31. *Ali H., Jabeen A., Maharjan R., Nadeem-ul-Haque M., Aamra H., Nazir S., Khan S., Olleik H., Maresca M., Shaheen F.* // *Biomolecules.* 2020. V. 10. P. 1684.
<https://doi.org/10.3390/biom10121684>
32. *Sander T.* // *OSIRIS Property Explorer.* <http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>
33. *Daina A., Michielin O., Zoete V.* // *Sci. Rep.* 2017. V. 7. P. 42717.
<https://doi.org/10.1038/srep42717>
34. *Cheng F., Li W., Zhou Y., Shen J., Wu Z., Liu G., Lee P.W., Tang Y.* // *J. Chem. Inf. Model.* 2012. V. 52. P. 3099–3105.
<https://doi.org/10.1021/ci300367a>
35. *Lagunin A., Zakharov A., Filimonov D., Poroikov V.* // *Mol. Inform.* 2011. V. 30. P. 241–250.
<https://doi.org/10.1002/minf.201000151>
36. OECD Environment, Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment. No. 24 // *Guidance Document on Acute Oral Toxicity Testing*. Paris: OECD, 2001. [https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mo-no\(2001\)4&doclanguage=en](https://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mo-no(2001)4&doclanguage=en)
37. *Daina A., Michielin O., Zoete V.* // *Nucl. Acids Res.* 2019. V. 47. P. W357–W364.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkz382>
38. Swiss Target Prediction. <http://www.swisstargetprediction.ch/>
39. *Кривоколыско С.Г., Дяченко В.Д., Литвинов В.П.* // *Журн. орг. химии.* 1997. Т. 33. С. 1088–1093. [*Krivokolysko S.G., Dyachenko V.D., Litvinov V.P.* // *Russ. J. Org. Chem.* 1997. V. 33. P. 1018–1023.]
40. *Дяченко В.Д., Кривоколыско С.Г., Литвинов В.П.* // *Журн. орг. химии.* 1998. Т. 34. С. 927. [*Dyachenko V.D., Krivokolysko S.G., Litvinov V.P.* // *Russ. J. Org. Chem.* 1998. V. 34. P. 876–881.]
41. *Osolodkin D.I., Kozlovskaya L.I., Dueva E.V., Dotsenko V.V., Morozov A.S., Karganova G.G., Palyulin V.A., Pentkovskii V.M., Zefirov N.S.* // *ACS Med. Chem. Lett.* 2013. V. 4. P. 869–874.
<https://doi.org/10.1021/ml400226s>
42. *Калашник И.Н., Дяченко В.Д.* // *Журн. общ. химии.* 2020. Т. 90. С. 371–381. [*Kalashnik I.N., Dyachenko V.D.* // *Russ. J. Gen. Chem.* 2020. V. 90. P. 357–366.]
<https://doi.org/10.1134/S1070363220030068>
43. *Дяченко В.Д.* // *Журн. орг. химии.* 2007. Т. 43. С. 278–282. [*Dyachenko V.D.* // *Russ. J. Org. Chem.* 2007. V. 43. P. 271–275.]
<https://doi.org/10.1134/S1070428007020194>
44. *Dotsenko V.V., Frolov K.A., Pekhtereva T.M., Papaianina O.S., Suykov S.Y., Krivokolysko S.G.* // *ACS Comb. Sci.* 2014. V. 16. P. 543–550.
<https://doi.org/10.1021/co5000807>
45. *Dotsenko V.V., Lebedeva I.A., Krivokolysko S.G., Povstyanoi M.V., Povstyanoi V.M., Kostyrko E.O.* // *Chem. Heterocycl. Compd.* 2012. V. 48. P. 462–469.
<https://doi.org/10.1007/s10593-012-1016-0>
46. *Dotsenko V.V., Bushmarinov I.S., Goloveshkin A.S., Chigorina E.A., Frolov K.A., Krivokolysko S.G.* // *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* 2017. V. 192. P. 47–52.
<https://doi.org/10.1080/10426507.2016.1224877>
47. *Koster R.M., Anderson M., De Beer E.J.* // *Fedn. Proc.* 1959. V. 18. P. 412–417.
48. *Collier H.O.J., Dinneen L.C., Johnson C.A., Schneider C.* // *Br. J. Pharmacol. Chemother.* 1968. V. 32. P. 295–310.
<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1968.tb00973.x>

49. Миронов А.Н. // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К., 2012. 941 с.
50. Наркевич А.Н., Виноградов К.А. // Соц. аспекты здоровья населения. 2019. Т. 65. № 6. С. 10.
51. Агаянц И.М. // Азы статистики в мире химии: обработка экспериментальных данных. Санкт-Петербург: НОТ, 2015. 618 с.
52. Kochnev Y., Hellemann E., Cassidy K.C., Durrant J.D. // *Bioinformatics*. 2020. V. 36. P. 4513–4515. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa579>
53. Yang J., Kwon S., Bae S.H., Park K.M., Yoon C., Lee J.H., Seok C. // *J. Chem. Inf. Model.* 2020. V. 60. P. 3246–3254. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.0c00104>
54. GalaxyWEB. A web server for protein structure prediction, refinement, and related methods. Galux Inc., Computational Biology Lab, Department of Chemistry, Seoul National University, S. Korea. <http://galaxy.seoklab.org/index.html>
55. Ko J., Park H., Heo L., Seok C. // *Nucleic Acids Res.* 2012. V. 40. P. W294–W297. <https://doi.org/10.1093/nar/gks493>
56. Pettersen E.F., Goddard T.D., Huang C.C., Couch G.S., Greenblatt D.M., Meng E.C., Ferrin T.E. // *J. Comput. Chem.* 2004. V. 25. P. 1605–1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
57. UCSF Chimera – an Extensible Molecular Modeling System. <https://www.rbvi.ucsf.edu/chimera/>

New Hybrid Molecules Based on Sulfur-Containing Nicotinitriles: Synthesis, Analgesic Activity in Acetic Acid Induced Writhing Test and Molecular Docking Studies

D. S. Krivokolysko*, V. V. Dotsenko**, ***, #, E. Yu. Bibik*, A. A. Samokish*, Y. S. Venidiktova*, K. A. Frolov****, S. G. Krivokolysko****, A. A. Pankov****, N. A. Aksenov***, and I. V. Aksenova***

#E-mail: victor_dotsenko@mail.ru

*St. Luka Lugansk State Medical University, kv. 50-Letiya Oborony Luganska 1G, Lugansk People's Republic, 91045 Ukraine

**Kuban State University, ul. Stavropolskaya 149, Krasnodar, 350040 Russia

***North-Caucasus Federal University, ul. Pushkina 1A, Stavropol, 355009 Russia

****Vladimir Dahl Lugansk State University, kv. Molodezhny 20A/7, Lugansk People's Republic, 91034 Ukraine

New hybrid molecules bearing furyl and 1,4-dihydropyridine (or 1,4,5,6-tetrahydropyridine) fragments have been prepared. The analgesic activity was studied *in vivo* (rats) in acetic acid-induced writhing test. Some compounds showed activity exceeding that of the reference compound (metamizole). Molecular docking was performed with all the compounds against COX-1 and COX-2. Also, we performed the docking studies in order to find new possible protein targets.

Keywords: nicotinitriles, 1,4-dihydropyridines, 1,4,5,6-tetrahydropyridines, analgesics, molecular docking