

В. А. Шибнев, Т. М. Гараев, П. Г. Дерябин, М. П. Финогенова, Д. В. Мишин

## СИНТЕЗ И ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ АДАМАНТИЛПЕПТИДОВ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСА ГЕПАТИТА С

Институт вирусологии им. Д. И. Ивановского ФГБУ «ФНИЦЭМ» им. Н. Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

Синтезированы новые производные адамантана с короткими пептидами и исследована их противовирусная активность в отношении вируса гепатита С (ВГС) *in vitro*. На клеточной культуре СПЭВ показано, что производные 1-(1-адамантил)этиламина с остатками три- и тетрапептидов обладают способностью подавлять репликацию ВГС. Более того, у этого ряда соединений была выявлена способность прямого воздействия на инфекционные свойства вирионов гепатита С (вирулицидная активность).

**Ключевые слова:** производные адамантана; пептиды; канал р7; ремантадин; гепатит С; культуры клеток; противовирусная активность.

В последние десятилетия опробован ряд лекарств и новых подходов к терапии вирусного гепатита С (ВГС), но поиски наиболее эффективного лечения до сих пор не завершены. Кортикостероиды, тимозин, ацикловир оказались неэффективны, а некоторые формы интерферона, включая лимфобластоидный интерферон, нефракционированный интерферон и интерферон-β, не имеют явных преимуществ перед препаратами рекомбинантного интерферона-α (ИФН). Показано, что рибавирин, пероральный аналог нуклеозидов, позволял добиться удержания или незначительного снижения уровня аминотрансфераз и РНК ВГС, но эти показатели возвращались к исходному уровню после прекращения лечения. Сочетанное применение рибавирина и интерферона способствует большей эффективности лечения, однако и в этом случае процент больных, которые поддаются лечению этими препаратами, недостаточно высок.

К настоящему моменту времени стало понятно, что лечение ВГС дорогостоящими препаратами модифицированного ИФН в сочетании с рибавирином не дает желаемого эффекта. К тому же для большинства пациентов, инфицированных ВГС, препараты интерферона являются высокотоксичными. Осложняет ситуацию тот факт, что не все генотипы ВГС одинаково чувствительны к действию этих препаратов. Наиболее резистентен из них субтип 1b, доминирующий в циркуляции субтипов ВГС в России. В последние годы для лечения гепатита С стали успешно применять ингибиторы протеазной активности: боцепревир и телапревир. Однако из-за их высокой стоимости и способности вызывать побочные осложнения препараты пока не имеют широкого распространения, а в России их использование для лечения больных гепатитом С в значительной степени ограничено. Для решения проблемы лечения гепатита С исследователи ищут новые классы препаратов, которые действуют иначе, нежели интерферон или рибавирин и нацелены непосредственно на вирусную частицу. Задача состоит в том, чтобы найти группы препаратов «прямого действия», которые атакуют различные механизмы жизнедеятельности вируса и минимизируют риск возникновения резистентности.

Исследователи из университета Лидса утверждают, что самым лучшим способом лечения ВГС является комбинированная терапия, которая используется для

ВИЧ-инфицированных пациентов. В поиске новой мишени противовирусной терапии исследователи ВГС обратили внимание на белок р7, который способен действовать как ионоселективный канал [1]. По крайней мере доказано, что в культуре клеток белок р7 демонстрирует функцию ионных каналов, необходимых для сборки вируса и оптимального выхода из инфицированных клеток путем изменения кислотно-щелочного равновесия внутриклеточных везикул. В естественных условиях р7 имеет большое значение для проявления инфекционных свойств вируса и является перспективной мишенью для новых противовирусных лекарств [2].

Данные кристаллографических исследований показывают, что ионоселективный канал, составленный из белка р7, содержит 6 одинаковых субъединиц р7 и образует гексамер. Каждый мономер р7 ВГС состоит из 63 аминокислотных остатков, в основном, гидрофобных и положительно заряженных. Вторичная структура мономера представляет собой 2 трансмембранные спирали (ТМ1 и ТМ2) и короткую петлю. Причем петля обращена к цитоплазме, а N- и C-концы полипептида — к эндоплазматическому ретикулуму. Белок р7 относят к классу виropорин, мембранных белков, способных образовывать ионоселективные каналы в оболочке вирусов [3].

Все виropорины имеют ряд общих черт, главная из которых — это, по крайней мере, один гидрофобный трансмембранный спиральный домен, имеющий основные и/или ароматические аминокислотные остатки. Некоторые из этих белков при олигомеризации образуют ионные каналы. Кроме того, эти белки высоко консервативны по своему аминокислотному составу, а мутации в этих белках могут привести к нежизнеспособности вирусов. Виropорины ингибируются соединениями — блокаторами каналов, такими как амантадин, ремантадин, гексаметилен амилорид и длинноцепочечными производными ацилиминосакхаров [4]. К наиболее экономически доступным относятся ремантадин и амантадин. Эти препараты принадлежат к соединениям адамантанового ряда и направлены на подавление функции белка М2 вируса гриппа А.

Ранее нами было показано, что адамантановый карбоцикл в качестве мембранотропного носителя способен транспортировать функционально активные группы к белку М2 вирусов гриппа А [5]. Такой подход позволил

получить ряд соединений, позволяющих преодолеть резистентность вирусов гриппа А, мутантных по М2-белку, к препаратам адамантанового ряда [6].

Подобно протонному каналу М2 вируса гриппа А важную роль в воспроизводстве вирусных частиц ВГС играет ионный канал р7. Этот белковый канал представляет собой новую важную терапевтическую мишень [7]. Ранее было определено, что функционирование ионного канала р7 может быть заблокировано небольшими молекулами-ингибиторами, что приводит к значительному спаду воспроизводства вирусных частиц [8].

Целью работы является создание низкотоксичных соединений, высокоселективно подавляющих репродукцию ВГС. Можно утверждать, что молекула карбоцикла аминокислотного остатка адамантана, обеспеченная дополнительными функционально активными группами, в процессе взаимодействия с трансмембранным доменом гексамера белка р7 ВГС будет способна нарушить процесс транспорта ионов через мембрану вируса. Источником таких функционально активных групп могут являться пептидные остатки, присоединенные к ремантадину методами пептидного синтеза.

Для решения этой задачи был использован один из высокопродуктивных для культур клеток СПЭВ вариантов вируса гепатита С, изолированный нами ранее из сыворотки крови больного хроническим гепатитом С. Как известно, ВГС относится к семейству *Flaviviridae*, многие представители которого (вирусы клещевого, японского энцефалита, желтой лихорадки, лихорадки Денге) были изолированы благодаря высокой способности размножаться в тканях головного мозга новорожденных мышей. Вирус гепатита С не стал исключением. Он легко выделяется при заражении РНК ВГС-содержащей сыворотки человека первичных клеток головного мозга мышей-сосунков, где происходит селекция высокопродуктивных для многих клеточных культур вариантов ВГС, в том числе и для культур клеток СПЭВ [9, 10]. Была проведена детальная идентификация выделенного вируса. По данным полимеразной цепной реакции (ОТ ПЦР) с праймерами к 5' NTR области и к другим консервативным областям генома ВГС, по данным секвенирования амплифицированных участков генома изолированных вариантов, по данным непрямого метода флуоресцирующих антител, иммуноблоттинга, иммуноферментного анализа, иммунопреципитации в агаре с коммерческими сыворотками, содержащими антитела к рекомбинантным белкам ВГС, и с сыворотками от больных гепатитом С, по данным реакции нейтрализации инфекционной активности вариантов ВГС сыворотками от больных гепатитом С и выздоровевших от этой инфекции, по данным многих других классических тестов идентификации вирусов, проведенных нами, выделенные таким образом вирусы были безошибочно отнесены к вирусу гепатита С, также как и ВГС, используемый в настоящем исследовании. Благодаря их способности вызывать цитодеструктивный эффект и размножаться в культурах клеток различного происхождения в высоких титрах (до 7,5 Ig ТЦИД<sub>50</sub>/мл), нами была разработана и давно используется удобная модель инфекции ВГС для изучения противовирусной активности соединений *in vitro*. Именно эта экспериментальная модель инфекции,

вызванная ВГС, послужила субстратом для изучения противовирусной активности адамантилпептидов.

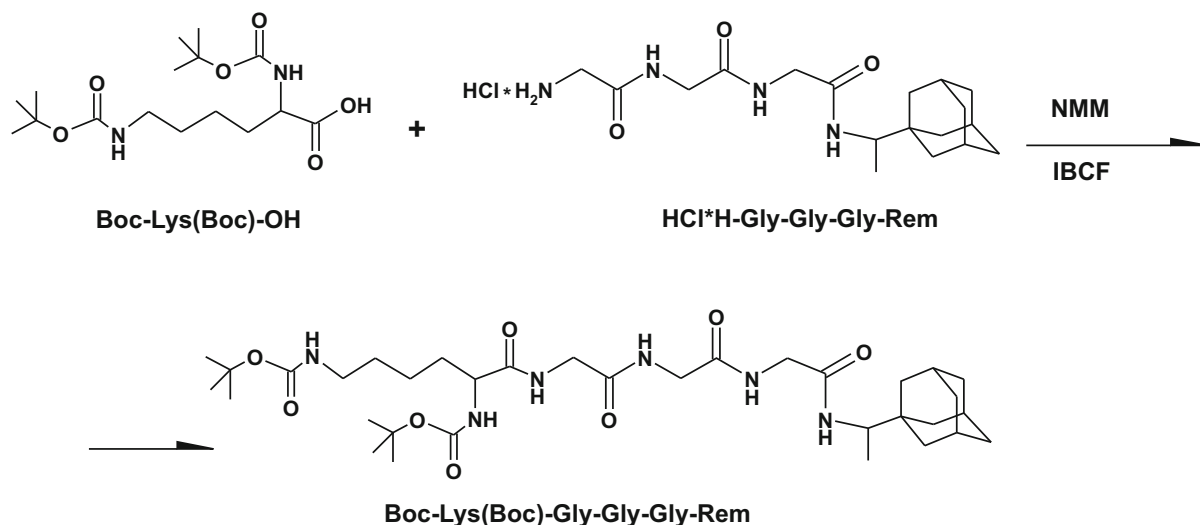
На возникновение ингибирующих свойств в отношении ионного канала р7 ВГС может влиять как природа функциональных групп аминокислотного остатка, так и расстояние между ней и карбоциклом адамантана. Синтез достаточного количества адамантилпептидов позволил нам найти аминокислотную последовательность адамантилпептида, способную ингибировать репликацию ВГС.

Методами классического пептидного синтеза в растворе были синтезированы эфиры N-ацилди- и трипептидов. Полученные эфиры N-ацилди- и трипептидов подвергались омылению 0,05 н. NaOH (ацетон — вода, 1:1). Образование пептидной связи между 1-(1-адамантил)этиламино, содержащим аминогруппу, и пептидами, защищенными по аминогруппе *трет*-бутилоксикарбонильными группами (Вос-), проводили в одну стадию в условиях реакции смешанных ангидридов. Впоследствии Вос-группу удаляли действием 4 н. HCl в этилацетате при комнатной температуре. Полученный хлоргидрат адамантилпептида конденсировали с ди(Вос)-лизинном посредством реакции смешанных ангидридов, как это показано на примере синтеза ди(Вос)-лизил-глицил-глицил-глицил-1-(1-адамантил)-этиламина (схема).

#### Экспериментальная химическая часть

При синтезе адамантановых производных использовали рацемический ремантадин фирмы Zhejiang Kangyu Pharmaceutical Co (Китай), L-аминокислоты фирмы Nova Biochem (США). Идентификацию полученных соединений осуществляли с помощью ТСХ на пластинах Silufol (Чехия) и Dc-Rieselgel 60 (Merck) в системах метанол — хлороформ, 13:60 (А), 2-бутанол — 3 % аммиак, 100:44 (В), бутанол — уксусная кислота — вода — пиридин, 30:3:12:10 (С), 2-пропанол — вода — 3 % аммиак, 7:1:2 (D), позволяющих констатировать полное отсутствие в испытуемых образцах следов ремантадина. Молекулярный вес был установлен с помощью MALDI-TOF-времяпролетного масс-спектрометра Bruker UltraFlex II с программным обеспечением для сбора и обработки масс-спектров flexControl 1.1 и flexAnalys 2.2. Удельное оптическое вращение полученных соединения определяли в стандартных условиях на автоматическом поляриметре А1-ЕПЛ (1 % раствор в этиловом спирте, длина кюветы 0,5 дм). Температуру плавления полученных соединений измеряли на приборе "Boetius" VEB Analytik. Для идентификации аминокислотных остатков в полученных соединениях проводили кислотный гидролиз в 6 н. HCl при 105 °С в течение 12 ч. Образующиеся свободные аминокислоты идентифицировали с помощью ТСХ в системах фенол — вода, 1:1, и бутанол — уксусная кислота — вода, 3:2:2.

**Ди-(трет-бутилоксикарбонил)-лизил-глицил-глицил-глицил-1-(1-адамантил)этиламин (III).** К 0,76 г (0,22 ммоль) Вос-Lys(Вос)-ОН в 10 мл CHCl<sub>3</sub> прибавляют 0,24 мл (0,22 ммоль) NMM. Охлаждают до – 25 °С и при перемешивании в реакционную массу до-



**Схема.** Синтез ди(*tert*-бутилоксикарбонил)-лизил-глицил-глицил-глицил-1-(1-адамантил)этиламина, где NMM — N-метилморфолин; IBCF — *изо*-бутилхлорформат; Rem — остаток молекулы карбоцикла ремантадина.

бавляют 0,30 мл (0,24 ммоль) IBCF. Перемешивают 15 мин. Затем добавляют заранее приготовленный и охлажденный до  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  раствор 0,85 г (0,22 ммоль) HCl·H-Gly-Gly-Gly-Rem в 10 мл  $\text{CHCl}_3$  с 0,24 мл (0,22 ммоль) NMM. Перемешивают 30 мин, затем еще 1 ч при  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  и 2 ч при  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

$\text{CHCl}_3$  упаривают в вакууме при 10 мм рт.ст., остаток растворяют в 35 мл этилацетата. Промывают последовательно  $\text{H}_2\text{O}$  (5 мл · 1), 0,5 н.  $\text{NaHCO}_3$  (10 мл · 2), 0,5 н.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (4 мл · 1) и  $\text{H}_2\text{O}$  (5 мл · 1). Органический слой сушат безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Этилацетат удаляют в вакууме, получают пенообразный продукт, который закристаллизовывается в смеси гексан – эфир (1:1).

Выход: 1,22 г (82 %). Т. пл.  $107 - 108\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $R_f$  0,89(A);  $R_f$  0,68(B);  $R_f$  0,95(C),  $R_f$  0,96(D).  $[\alpha]_{20}^D - 1^{\circ}$ .

Аналогичным образом были получены соединения I, II, V и VI, их физико-химические константы представлены в табл. 1.

**Ди-(*tert*-бутилоксикарбонил)-лизил-6-аминогексанил-1-(1-адамантил)этиламин (IV).** Получают аналогично III, исходя из Boc-Lys(Boc)-OH и  $\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_6\text{-Rem}$ .

Выход 1,79 г (94 %). Т. пл.  $117 - 118,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $R_f$  0,86(A);  $R_f$  0,81(B);  $R_f$  0,91(C),  $R_f$  0,85(D),  $[\alpha]_{20}^D - 4^{\circ}$ .

### Экспериментальная биологическая часть

Цитотоксичность соединений была изучена при внесении их в концентрациях 5,0; 2,5 и 1,25 мг/мл на монослой клеток культуры ткани СПЭВ в 48-луночных панелях и инкубации при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Состояние клеточного монослоя проверяли под световым микроскопом. Степень вирусиндуцированного цитопатического действия в культурах клеток оценивали под микроскопом по общепринятой четырехкрестовой системе соответственно количеству погибших клеток в каждой из 3 лунок.

Максимально переносимой концентрацией (МПК) считали половину концентрации соединения, которая не оказывает на клетки токсического действия (табл. 2).

Соединение III не проявляло токсического действия на монослой клеток СПЭВ во всех концентрациях. Уменьшение глицинового спейсера с 3 аминокислотных остатков до одного, как в соединении I, приводит к резкому росту токсичности соединения (МПК 0,625 мг/мл).

Отмечено, что цитотоксическое действие соединений II и VI значительно меньше, чем у ремантадина; их МПК составляет порядка 1,25 мг/мл, а для соединений IV и V МПК составило несколько более 0,625 мг/мл.

Противовирусную активность адамантилпептидов определяли в инфицированных ВГС культурах клеток СПЭВ в условиях острой инфекции вирусом в дозе 100 ТЦД<sub>50</sub>. Соединения вносили до заражения, в момент за-

Таблица 1

### Физико-химические константы синтетических адамантилпептидов

Соединение	Выход, %	Т. пл., $^{\circ}\text{C}$	$[\alpha]_{20}^D$	$R_f$ в системах				
				A	B	C	D	
I	Boc-Lys(Boc)-Gly-Rem	95	аморф.	-5	0,69	0,87	0,93	0,92
II	Boc-Lys(Boc)-Gly-Gly-Rem	84	аморф.	-4	0,68	0,89	0,95	0,96
III	Boc-Lys(Boc)-Gly-Gly-Gly-Rem	86	107 – 108	-1	0,63	0,86	0,93	0,87
IV	Boc-Lys(Boc)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> -Rem	94	117 – 118,5	-4	0,86	0,81	0,91	0,85
V	Boc-Lys(Boc)-Pro-Gly-Gly-Rem	74	аморф.	-18	0,77	0,93	0,95	0,87
VI	Boc-Lys(Boc)-Pro-Pro-Gly-Rem	89	аморф.	-45	0,67	0,84	0,94	0,89

$[\alpha]_{20}^D$  — удельное вращение в этиловом спирте при  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$  с концентрацией 1 мг/мл и длине кюветы 0,5 дм.

ражения клеток и через 20 ч после заражения в концентрациях 1; 0,5; 0,25 и 0,12 мг/мл (табл. 3). Панели инкубировали при 37 °С в течение 24 ч. Противовирусную активность соединений определяли по их способности защищать клетки СПЭВ от цитопатогенного действия вируса в сравнении с референс-препаратом, широко используемым в настоящее время в мире для лечения гепатита С (виразол или рибавирин) в тех же концентрациях и контрольными инфицированными культурами (без соединения). Исследование проводили при тканевой цитопатической дозе, равной 100 (ТЦД<sub>100</sub>), что означает около 0,1 ТЦИД<sub>50</sub> вируса на клетку.

Статистическую обработку результатов проводили, определяя достоверность разницы средних величин выживаемости клеток по таблице Стьюдента [11].

Оценку вирулицидных свойств проводили при инкубации смеси вируса и соединения в течение определенного времени, после чего проверяли инфекционные свойства вируса без исследуемого соединения и вируса в смеси с веществом методом титрования в культурах клеток или в организме лабораторных животных. Достоверное снижение инфекционной активности вируса на 1,0 и более логарифмов (lg) или ее полная утрата по сравнению с вирусом без вещества свидетельствует о проявлении вирулицидной активности исследуемого соединения.

### Результаты и их обсуждение

В результате проведенных испытаний обнаружено, что синтезированные соединения I–VI показали различные уровни ингибирования репродукции ВГС. Следует отметить выраженный противовирусный эффект соединений при внесении их в культуру клеток через 24 ч после заражения ВГС. Наиболее активным противовирусным действием обладает соединение III, которое эффективно подавляло репликацию ВГС уже в концентрации 0,12 мг/мл в вариантах внесения соединения в культуру клеток СПЭВ до и после заражения. Одновременное внесение соединения и вируса на монослой

Таблица 2  
Цитотоксическое действие синтезированных адамантилпептидов

Соединение	Состояние клеточного монослоя СПЭВ		
	Концентрация, мг/мл		
	5,0	2,5	1,25
I	+++	+++	0
II	+++	0	0
III	0	0	0
IV	++	++	0
V	+++	+	0
VI	+++	0	0
Rem	++++	+++	++
Контроль клеток	0	0	0

0 — все клетки выжили; (+) — 15 % клеток погибло; (++) — 50 % клеток погибло, (+++) — 75 % клеток погибло, (++++) — все клетки погибли. Rem — ремантадин. Клетки СПЭВ с соединениями инкубировали 72 ч при 37 °С.

клеток СПЭВ приводит к увеличению эффективной концентрации с 0,12 до 0,25 мг/мл. Возможно, увеличение эффективной концентрации при одномоментном внесении вещества с вирусом происходит по причине кратковременной фазы контакта адамантилпептида с поверхностью вируса. Вследствие чего происходят 2 конкурентных процесса: взаимодействие поверхности вируса с клеткой и с молекулами адамантилпептидов.

Соединение IV является структурным аналогом соединения III, в котором роль 3 остатков глицина играет метиленовая цепочка ε-аминокапроновой кислоты, однако, оказалось, что оно значительно менее активно и более токсично, чем соединение III. Тетрапептиды в соединениях V и VI содержали 1 и 2 остатка аминокислоты пролина соответственно. Причем производное с 2 остатками пролина (VI) обладало большим противовирусным эффектом, чем соединение с 1 остатком пролина (V).

Противовирусная активность и цитотоксическое действие синтетических адамантилпептидов

Таблица 3

Соединение	% погибших клеток в монослое, обработанном препаратами, мг/мл											
	За 24 ч до заражения				В момент заражения клеток				Через 24 ч после заражения клеток			
	1,0	0,5	0,25	0,12	1,0	0,5	0,25	0,12	1,0	0,5	0,25	0,12
I	ЦТД	ЦТД	0	0	ЦТД	0	15 ± 4	50 ± 8	50 ± 3	70 ± 3	0	5 ± 3
II	ЦТД	ЦТД	0	0	ЦТД	0	50 ± 5	50 ± 2	0	0	0	0
III	0	0	0	0	0	0	5 ± 3,2	45 ± 3	0	0	0	0
IV	ЦТД	ЦТД	50 ± 3	100	0	0	50 ± 1	75 ± 3	0	0	25 ± 4	50 ± 6
V	ЦТД	0	75 ± 3	75 ± 2	ЦТД	50 ± 4	75 ± 3	75 ± 4	0	0	75 ± 3	75 ± 5
VI	0	0	25 ± 3	75 ± 3	ЦТД	0	25 ± 3	75 ± 2	0	0	0	0
Ремантадин	75 ± 3	100	50 ± 1	80 ± 2	50 ± 1	60 ± 4	50 ± 5	50 ± 7	75 ± 3	80 ± 5	75 ± 4	75 ± 6
Рибавирин	ЦТД	25 ± 3	75 ± 3	80 ± 3	ЦТД	50 ± 3	75 ± 5	85 ± 4	ЦТД	75 ± 3	80 ± 3	85 ± 5
Контроль	85 ± 5	100	85 ± 5	90 ± 2	100	85 ± 4	100	80 ± 2	90 ± 2	100	90 ± 5	85 ± 3

ЦТД — цитотоксическое действие, вызванное адамантилпептидом. Контроль — без препарата.

## Вирулицидное действие соединения III

Концентрация, мг/мл	Десятикратные разведения смеси соединения III и вируса на СПЭВ								Титр вируса Ig ТЦИД <sub>50</sub> / 20 мкл
	- 1	- 2	- 3	- 4	- 5	- 6	- 7	- 8	
5,0	ЦТД	0	0	0	0	0	0	0	0
2,5	ЦТД	0	0	0	0	0	0	0	0
1,25	ЦТД	0	0	0	0	0	0	0	0
Вирус (конт- роль)	++++	++++	++++	++++	++	0	0	0	5,0

0 — отсутствие гибели, (+) — гибель 15 % клеток; (++) — гибель 50 % клеток, (+++) — гибель 75 % клеток, (++++) — гибель всех клеток. ТЦИД<sub>50</sub>/20мкл — инфекционный титр ВГС для культур клеток СПЭВ: максимальное из десятикратных разведений, вызывающее гибель 50 % клеток.

Вирулицидную активность соединений исследовали в концентрациях 5; 2,5 и 1,25 мг/мл, которые смешивали с вирусом следующим образом: 200 мкл раствора соединения с добавлением 100 мкл ВГС-содержащего материала в исходной концентрации. Экспозиция с вирус-содержащим материалом проведена при комнатной температуре в течение 30 мин, после чего определяли остаточную инфекционную активность в каждом варианте опыта в культурах клеток СПЭВ при различных разведениях смеси соединения III с ВГС.

В результате была обнаружена высокая вирулицидная активность соединения III. Снижение инфекционного титра произошло более чем на 5 логарифмов (100000 раз) по отношению к вирусному контролю. Данные представлены в табл. 4. Вирулицидное действие соединений I, II, IV, V и VI было значительно слабее либо полностью отсутствовало.

Таким образом, синтезированы новые соединения I – IV на основе адамантилпептидов, обладающие избирательной противовирусной активностью. Эти соединения *in vitro* обладают значительно меньшей токсичностью по сравнению с ремантадином. Причем соединение III наименее токсично, а также проявляет вирулицидную активность в отношении ВГС. Механизм противовирусного действия полученных соединений до конца не ясен, но, вероятно, сходен с действием амантадина на ионный канал p7 ВГС, которое обнаружено в [12]. Адамантан в этом случае, очевидно, исполняет роль носителя, к которому “прицеплена” функционально активная группа соответствующего пептида. Вирулицидная активность соединения III связана с прямым инактивирующим действием на вирионы в составе вирусной популяции, в результате чего частично или полностью утрачивается инфекционная активность вируса.

Предлагаемые соединения могут быть использованы для создания новых противовирусных препаратов, ингибиторов функции ионоселективного канала ВГС с использованием как в виде индивидуального лекарства, так и в составе комплексной терапии, подобно высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ), которую сейчас применяют для лечения ВИЧ-инфицированных больных.

## ЛИТЕРАТУРА

1. S. D. Griffin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 12567 – 12568 (2009).
2. S. Martin, R. G. Parton, *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **7**(5), 373 – 378 (2006).
3. G. Haqshenas, J. M. Mackenzie, E. J. Dong, *Gowans J. Gen. Virol.*, **88**, 134 – 142 (2007).
4. P. Luika, C. Chewb, *Aittoniemib J. PNAS*, **106**(31), 12712 – 12716 (2009).
5. В. А. Шибнев, Т. М. Гараев, М. П. Финигонова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **46**(1), 36 – 40 (2012); *Pharm. Chem. J.*, **46**(1), 1 – 6 (2012).
6. Патент РФ RU 2461544 C1.
7. S. D. Griffin, R. Harvey, D. S. Clarke, et al., *J. Gen. Virol.*, **85**, 451 – 461 (2004).
8. T. L. Foster, M. Verow, A. L. Wozniak, *Hepatology*, **54**(1), 79 – 90 (2011).
9. П. Г. Дерябин, Д. К. Львов, *Докл. Академии наук РФ*, № 5, 688 – 691 (1998).
10. В. А. Шибнев, Д. В. Мишин, Т. М. Гараев и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **151**(5), 549 – 551 (2011).
11. В. Д. Беляков, А. А. Дегтярев, Ю. Г. Иванников, *Качество и эффективность противоэпидемических мероприятий*, Медицина, Ленинград (1981), сс. 130 – 131.
12. S. D. Griffin, L. P. Beales, D. S. Clarke, *FEBS Lett.*, **30**, 34 – 38 (2003).

Поступила 26.11.13

## SYNTHESIS AND ANTIVIRAL ACTIVITY OF ADAMANTYLPEPTIDES

V. I. Shibnev, T. M. Garaev, P. G. Deryabin, M. P. Finigenova, and D. V. Mishin

Ivanovsky Institute of Virology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 123098 Russia

A series of new adamantane derivatives with short peptides have been synthesized and their antiviral activity with respect hepatitis C virus (HCV) has been studied. Experiments on a pig kidney cell culture showed that 1-(1-adamantyl)ethylamine derivatives with tri- and tetrapeptide residues are capable of suppressing HCV replication. In addition, these compounds are capable of acting directly on the infectious capacity of HCV virions (i.e., possess virulicidal activity).

**Keywords:** adamantane derivatives; peptides, p7 channel, rimantadine; hepatitis C virus; cell culture; antiviral activity