

© Коллектив авторов, 2016

Э. А. Шокова, В. В. Ковалев

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АДАМАНТАНСОДЕРЖАЩИХ МОНО- И ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ ПИРИМИДИНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ* (ОБЗОР)

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Химический факультет; 119991, Москва, Ленинские горы, факс (495)932-8846

Данный обзор посвящён изложению результатов биологических испытаний синтезированных за период 1999 – 2011 гг. адамантансодержащих пиримидинов, пуринов и родственных им соединений.

Ключевые слова: адамантансодержащие пиримидины; пурины; производные пиримидинов.

Роль пиримидиновых, пуриновых и подобных структур как ключевых строительных блоков при создании фармацевтических препаратов самого широкого спектра действия чрезвычайно велика. Это относится к антибактериальным и противовирусным, противоопухолевым и нейротропным, противогрибковым, иммуностимулирующим и другим лекарственным средствам. Наличие адамантанового фрагмента в молекулах зачастую оказывает существенное влияние на биологические свойства соединений. Именно этими факторами авторы практически всех работ, собранных в I части настоящего обзора [1], объясняют цель своих исследований. Поэтому почти каждая работа состоит из 2 частей — химической и биологической.

Представленные в работах данные свидетельствуют о том, что все синтезированные соединения являются производными пиримидина. Это — моноциклические пиримидины (пиримидинон, урацил, цитозин, уридин и т.д.), конденсированные ди- и полициклические соединения (пиразолопиримидин, триазолопурин, ксантен и т.д.), аденозины с самой различной степенью замещения и природой заместителей. Адамантановый фрагмент может быть либо непосредственно связан с гетероциклом, либо находится на периферии молекулы.

Данный раздел обзора посвящен изложению результатов биологических испытаний синтезированных соединений**. Подразделы включают данные исследований в соответствии с определенным видом биологической активности, кроме того, мы ввели подраздел с условным названием “Биологический скрининг”. В него включены результаты, полученные в тех случаях, когда активность определенных, достаточно больших групп (типов) соединений изучалась не по одному, а по нескольким направлениям, чаще всего это связано с характеристикой антимикробной, фунгицидной, антималярийной активности и цитотоксичности препаратов. Излагать эти результаты “кусками” в разных разделах мы в большинстве случаев не посчитали целесообразным.

* В ч. I настоящего обзора [1] изложены материалы, связанные с синтезом адамантансодержащих пиримидиновых производных.

** При изложении данных биологических исследований авторами работ были использованы следующие показатели [приводится аббревиатура и ее расшифровка (если она имеется), данная в соответствующей публикации]:

MIC — минимальная ингибирующая концентрация [2, 3, 6].

MIC₅₀ — минимальная ингибирующая концентрация препарата, подавляющая развитие вирусиндуцированного цитопатического действия на 50 % [23, 51].

MCC₅₀ — минимальная цитотоксическая концентрация, вызывающая 50 % ингибирование роста клеток (клетки VERO) [23, 51].

CD₅₀ — цитотоксическая доза, вызывающая 50 % ингибирование роста клеток [28].

CC₅₀ — цитотоксическая концентрация — концентрация вещества, требуемая для того, чтобы ингибировать 50 % какого-либо объекта *in vitro* [3, 22].

EC₅₀ — 50 % эффективная концентрация — концентрация вещества в плазме, при которой его эффективность составляет 50 % от максимальной для данного препарата *in vivo* [3, 7, 9, 22].

ID — ингибирующая доза; IC — ингибирующая концентрация. IC₅₀ — [5, 6, 9, 10, 41]; ID₈₀ — [3]; ID₅₀, ID₉₅ — [28].

SI — индекс селективности; SI = MCC₅₀/MIC₅₀ [23, 51], SI = CC₅₀/EC₅₀ [3, 22], SI = CD₅₀/ID₅₀ [28].

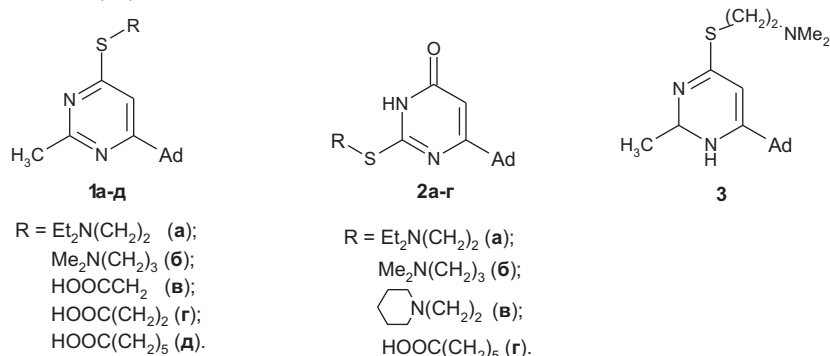
pEC₅₀ — отрицательный логарифм EC₅₀ [46].

K_i — равновесная константа диссоциации [42, 44, 45].

Биологическая активность адамантансодержащих моно- и полициклических пиримидиновых производных

1. Биологический скрининг

В 2004 г. [2, 3] было проведено изучение биологической активности (антимикробной, фунгицидной, антивирусной и противоопухолевой) более 30 6-(1-адамантил)пиримидинов различного строения (формулы соединений под номерами **17** – **28** представлены в ч. I обзора, раздел I; 1.3). Наиболее перспективными, по мнению авторов, оказались соединения **1а**, **б**, **2а** и **3**.

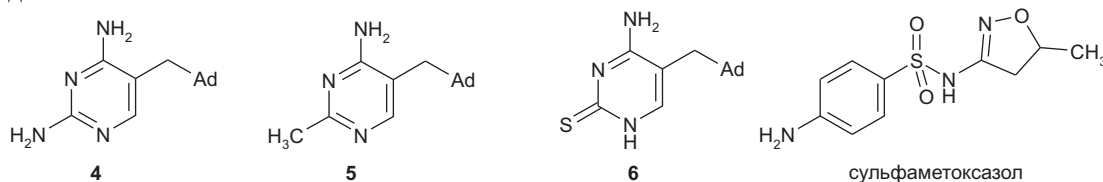


Сравнивая антимикробную и фунгицидную активность производных 2 типов структур **1** и **2**, авторы отметили большую активность соединений со структурой **1**.

В серии карбоксипроизводных **1в** – **д** и **2б** – **г** было обнаружено уменьшение значений МИС с увеличением числа групп CH₂ фрагмента S-R боковой цепи. Антимикробное и фунгицидное действие препаратов изучалось в отношении следующих микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Staphylococcus aureus* NCTC 4163, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida parapsilosis* ATCC 22019.

Соединение **3** проявило значительную активность в отношении опухолевых клеток человека, в особенности моноцитарной лейкемии U-937 (табл. 1) [3].

В работе [4] были изучены антибактериальные свойства аминопиримидинов с Ad-CH₂-фрагментом в молекулах — соединения **4** – **6**.



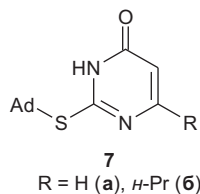
Исследовалось их действие на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы: энтерококк фекальный, сенная палочка аэробная, радиационно-стойкий спорообразующий микроорганизм и кишечная палочка (*E. faecalis* ATCC 29212, *B. subtilis* ATCC 6633, *B. Stearothermophilus* ATCC 7953, *E. coli* ATCC 25922). Полученные результаты свидетельствовали, что лишь диаминопроизводное **4** проявило активность в отношении грамположительных бактерий. Это соединение проявило также синергетический эффект с сульфаметоксазолом, что было особенно заметно для *E. faecalis* (E.f.) и *E. coli*. (E.c.). Диаметр зоны подавления (в мм) микроорганизма E.f. соединением **4** равен 21, сульфаметоксазолом — 13, их комбинацией — 25. Аналогичные характеристики для E.c. составляют: не активно — 14 – 21.

В работах [5, 6] приводятся данные о биологической активности 2-RS-замещенных пиримидин-4-онов, в том числе двух 2-(1-адамантилтио)производных **7а** [5] и **7б** [6]. Была изучена их антимикробная, антималярийная и цитотоксичная активность.

Таблица 1

Ингибирование соединением **3** роста опухолевых клеток

| Клеточная линия | ID ₈₀ , мкг/мл [мкМ] |
|-----------------|---------------------------------|
| BALL | 17,3 [52, 3] |
| CEM | 17,5 [52, 8] |
| Daudi | 20,0 [60, 4] |
| HL-60 | 16,4 [49, 5] |
| Jok-1 | 7,0 [21, 2] |
| KG-1 | 18,4 [57, 1] |
| U-937 | 4,8 [14, 5] |

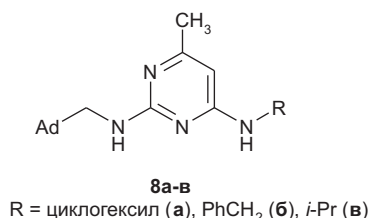


Антимикробную активность изучали на 27 штаммах микроорганизмов (17 грамотрицательных и 10 грамположительных). Соединение **7а** оказывает ингибирующее действие при концентрации 128 мкг/мл в отношении грамположительного *S. pyogenes* (25 %), грамотрицательных *B. catarrhalis* (75 %) и *N. mucosa* (25 %) [5]. Для соединения **7б** наивысшая активность в отношении *B. catarrhalis* проявилась при МИС, равной 32 мкг/мл. При 128 мкг/мл препарат был активен в отношении *S. pyogenes* (25%) и *N. mucosa* (25 %) [6].

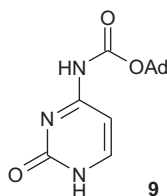
Антималярийная активность. Адамантильное производное **7б** проявило высокую антиплазмодальную активность в отношении устойчивого к хлорохину возбудителю *P. Falciparum* (приводит к тяжелой форме малярии): $IC_{50} \cdot 10^{-6} < 10^{-5}$ (М). Антималярийного действия соединения **7а** не обнаружено.

Цитотоксичное действие изучалось на опухолевых клетках 11 линий. Полученные результаты (табл. 2) свидетельствуют о наибольшем ингибирующем действии соединения **7б** в отношении клеток линий T₄₇D и P₃₈₈.

Антиплазмодальная активность средней силы замещенных по атомам азота 2,4-диаминопиримидинов в отношении *P. Falciparum* была выявлена на примере моноадамантилметильных производных **8а – в** [7]. Значения EC₅₀ (мкМ), определенные в опытах *in vitro* для штамма Dd₂, резистентного к лекарственным средствам против форм малярии юго-восточной Азии, оказались следующими: **8а** (0,37); **8б** (0,40); **8в** (0,27).



В работе [8] сообщалось о проведенном изучении химической стабильности и стабильности в биологических средах N₄-алкилоксикарбонилпроизводных цитозина — соединений, потенциально способных проявить активность в отношении *Helicobacter pylory* (грамотрицательная бактерия, являющаяся главным возбудителем хронических гастритов и язв желудка). Изучаемые свойства играют важную роль при использовании препаратов в лекарственной терапии. Среди изученных соединений было и производное 9-N₄-(1-адамантил)оксикарбонилцитозин, в котором адамантановый фрагмент находится на периферии молекулы.



Оказалось, что период полураспада липофильного, плохо растворимого в воде соединения **9** составляет 41 мин при 37 °С и рН 1,1. При этом наблюдается количественная инверсия в родоначальный (parent) цитозин. Скорость распада ~ в 200 раз больше, чем у нециклических алкоксипроизводных. Наличие в среде пепсина *A* и *H. pylory* каталитического эффекта на гидролиз производного **9** не оказывало. Высвобождение цитозина задерживалось в гелях, образованных в воде альгинатами. Время 50 % высвобождения цитозина из альгинат-гелей, содержащих соединение **9**, в кислой среде составляло 4,5 ч, тогда как аналогичная характеристика гелей, содержащих родоначальный цитозин, составляла 1,5 ч.

Т а б л и ц а 2

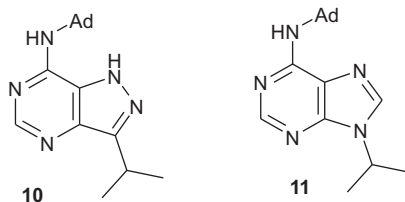
Цитотоксичная активность соединений 7а, б

| Соединение [ссылка] | Линии опухолевых клеток и IC ₅₀ , мкг/мл | | | |
|---------------------|---|----------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| | T ₄₇ D ^{а)} | H ₆₉ AR ^{б)} | HepG ₂ ^{в)} | P ₃₈₈ ^{г)} |
| 7а [5] | 32,0 | 35,0 | 32,5 | 36,91 |
| 7б [6] | 5,0 | > 50 | > 50 | 11,35 |

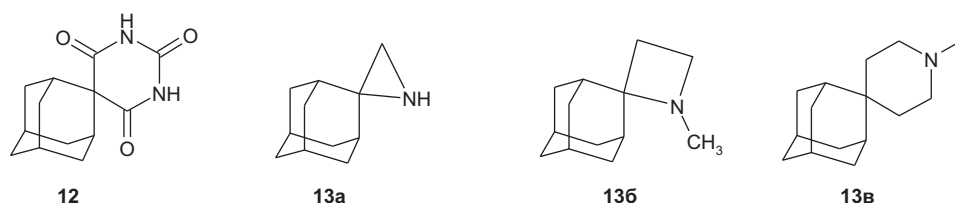
^{а)} Гормоназависимые клетки молочной железы мышей; ^{б)} невосприимчивые к лекарствам лёгочные клетки; ^{в)} клетки карциномы печени человека; ^{г)} клетки лейкемии мышей.

2. Антипаразитарная активность

В работе [9] была изучена ингибиторная активность в отношении амастиготов (атипичные формы циклинза-висимых киназ, стимулирующие клеточную пролиферацию) и киназы CRK₃/CYC₆ (протеинкиназа, являющаяся важным регулятором клеточного цикла паразитических простейших) 18 2,6-дизамещенных пуринов и 18 3,7-дизамещенных пиразоло[4,3-*d*]пиримидинов, в том числе 2 адамантиламинопроизводных **10** и **11**. Результаты представлены в табл. 3.

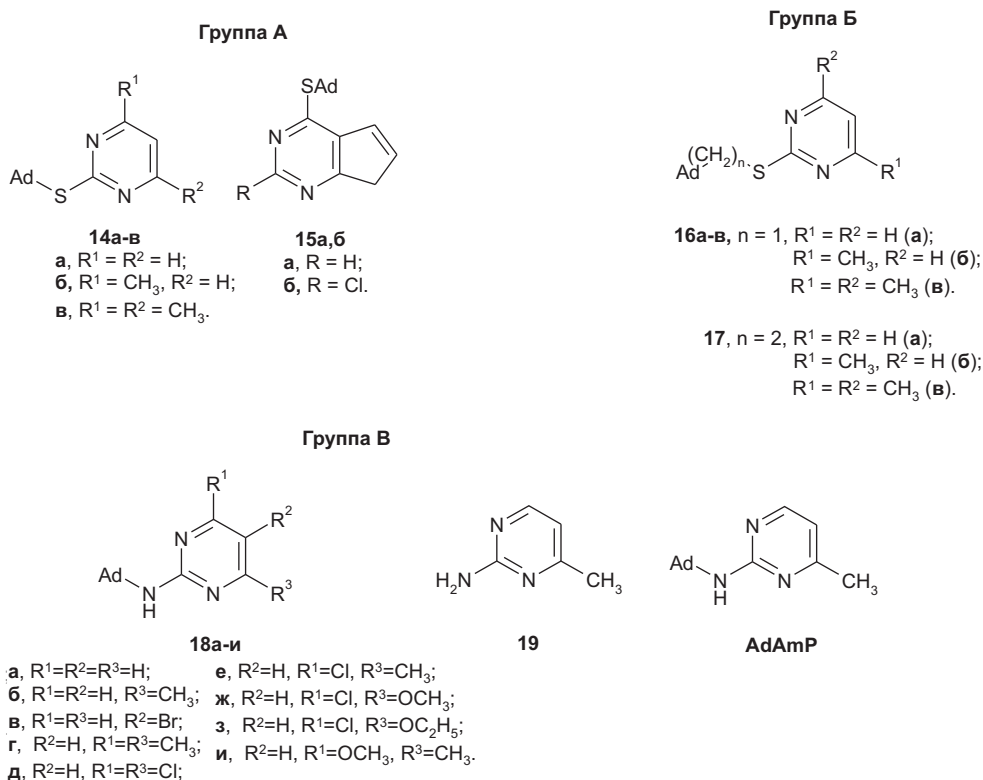


Адамантилспиробарбитуровая кислота **12** ингибирует рост (61 %) BS (bloodstream) формы инфекций трипаномы *T. brucei* (паразит, вызывающий сонную болезнь у человека — африканский трипаномоз, и болезнь Нагана у животных). Значение IC₅₀ (мкМ) при концентрации препарата 5 мкг/мл равно ~ 20 [10]. Обнаруженная ингибирующая активность соединения **12** выше, чем активность его аналогов **13а – в**.



3. Противоопухолевая активность

(1-Адамантилтио)пиримидины **14а – в** и пурины **15а, б** (соединения группы А) [11]; (1-адамантилалкилтио)пиримидины **16, 17** (группа Б) [13] и (1-адамантиламино)пиримидины **18а – и** [13] (группа В) [12, 14] были испытаны в качестве активаторов выработки фактора некроза опухоли TNF-α в культуре V78/TNF/9 меланомы мышей. В качестве эталонов для сравнения были использованы 2-(1-адамантиламино)-6-метилпиримидин (AdAmP) [13, 14], 1-аминоадамантан (амантадин), 2-амино-6-метилпиримидин **19**, N⁴-адамантилцитозин (AdaC), N⁶-адамантиладенин (AdaA), 9-адамантилгуанин (AdaG) и 5-адамантилурацил (AdaU) [15].



Наибольшую активность среди соединений группы А проявили 2-тиоадамантилпроизводные пиридина и 6-метилпиримидина (соединения **14а** и **14б**), их активность сравнима с действием эталонного AdAmP [11].

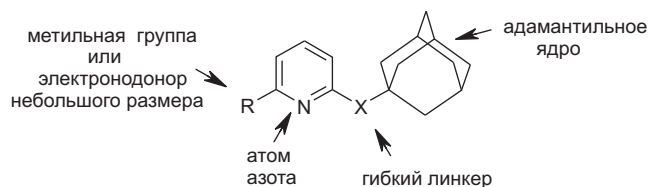
Среди соединений группы **Б** [13] умеренную стимулирующую активность при концентрации 1 мкМ проявило соединение **16в** (активация выработки TNF- α = 154), а максимальную — при концентрации 10 мкМ — соединение **16б** (α = 281) (значения α приводятся в % по отношению к контролю) [13]. Для эталонного AdAmP соответствующие значения равны 186 и 308 [14].

При переходе от соединений **14** к соединениям **16** (введение метиленового звена в боковой цепи) активирующая активность веществ повышается. Дальнейшее удлинение углеродной цепочки (переход от соединений **16** к производным **17**) вызывает противоположный эффект. Относительные эффективности активации при 10 мкМ равны: для **16б/14б** 1,63, для **17б/14б** 1,01.

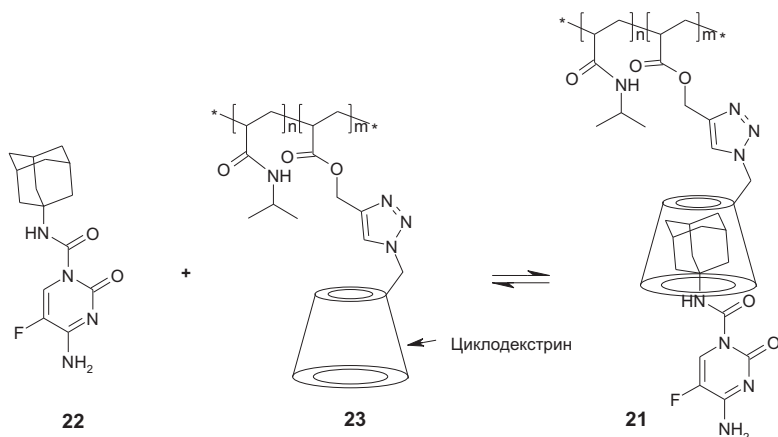
Наибольшее активирующее действие среди 1-адамантиламинопиримидинов группы **В** [12, 14] проявили соединения **18б** и **18ж** при концентрации 10 мкМ. Значения α для них соответственно равны 264 и 292 [12]. Резкое снижение активности хлорпроизводного **18ж** при концентрации 100 мкМ с α = 292 до α = 8 авторы связывают с токсичностью соединения. Цитотоксичный эффект был подтвержден стандартным МТТ-тестом, его значения для **18ж** и **18з** оказались равными 21 и 27 % соответственно (МТТ — 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромид).

Изученные адамантансодержащие соединения плохо растворимы в водной среде. Для увеличения растворимости был получен комплекс **20** соединения **18б** с β -циклодекстрином, который проявил значительную активность при концентрациях 100 мкМ (α = 303) и 500 мкМ (α = 260) [16]. Такого рода комплексы могут оказаться полезными при проведении *in vivo* экспериментов.

Суммируя результаты биологических *in vitro* испытаний, полученные в работе [11] и известные ранее, авторы отмечают наиболее важные фрагменты структуры молекул, оказывающие решающее влияние на проявление биологической активности.



В работе [17] был получен комплекс **21** адамантансодержащего аналога 5-фторурацила **22** с циклодекстринодержущим сополимером **23**. Образование комплекса происходит за счет нековалентного включения адамантановых фрагментов молекулы в циклодекстриновые полости.



Установлен тип комплексов включения (1:1 и 1:2) и константы их образования: $1,9 \cdot 10^4 \text{ м}^{-1}$ (для 1:1) и $1,2 \cdot 10^2 \text{ м}^{-1}$ (для 1:2). Отмечено, что образование комплекса сопровождается увеличением гидродинамического радиуса сополимера с 7 до 14 nm и температуры помутнения (cloud point) с 30 до 36 °С. Эти данные могут быть объяснены водородным связыванием, включающим аминогруппы молекул “гостя”. Были изучены спектры по-

Таблица 3

Ингибирующая активность соединений 10 и 11

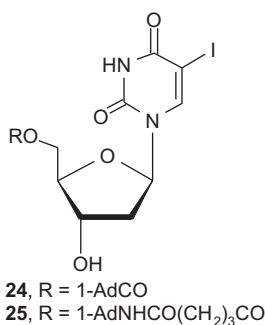
| Объект ингибирования | Соединение | % ингибирования |
|---|------------|--------------------------|
| <i>Leishmania donovani axenic amastigotes</i> | 10 | 73,2 ± 0,0 ^{а)} |
| CRK ₃ /CYCS киназа | 10 | 93,8 ± 0,3 ^{б)} |
| | 11 | 72,0 ± 0,2 ^{а)} |
| | 11 | 66,1 ± 2,1 ^{б)} |

^{а)} В присутствии 30 мкМ соединения; ^{б)} в присутствии 15 мкМ АТФ с 30 мкМ соединения.

глощения в УФ и видимой областях полученного комплекса. Проведены DLS (динамическое рассеяние света) и LCST (нижняя критическая температура растворения) измерения.

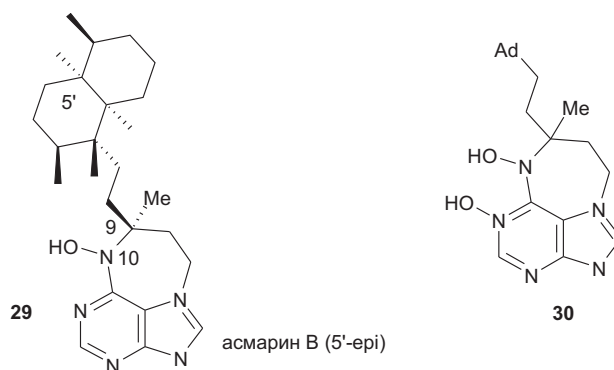
Важной характеристикой супрамолекулярных комплексов, используемых в качестве лекарственных средств, является их способность к декомплексообразованию под действием энзимов с освобождением включенного “гостя”. В связи с этим было изучено с помощью UV-Vis спектроскопии поведение комплекса **21** в воде в присутствии α -амилазы *Aspergillus oryzae* (вид грибов). Прозрачный раствор через 36 ч становился мутным, что свидетельствует об энзиматической деградации комплекса.

Известно, что галоидзамещенные аналоги тимидина, такие как 5-йод-2'-деоксиуридины, способны конкурировать с первым в процессе фосфорилирования и тем самым встраиваться в молекулы ДНК. Меченные радиоизотопами йода они являются удобными объектами для радиодиагностики и радиотерапии [18, 19]. Однако, обладая коротким периодом полураспада *in vivo*, они достигают “мишень-ткани” (target-tissue) в концентрациях, меньших, чем концентрации, определенные *in vitro* изучением. С целью уменьшения *in vivo* инактивации 5-йодуридинов в работе [20] были получены β -циклодекстриновые комплексы включения 4-(1-адамантилкарбамоил)производных 5-йод-2'-деоксиуридинов **24** и **25** (комплексы **26** и **27** соответственно).



Изучены некоторые биологически важные свойства одного из этих комплексов — **26**: диссоциация в чистой воде и в присутствии холестерина (определялась как функция времени при 37 °C); влияние комплексообразования на стабильность уридинов в условиях инкубации в плазме, в которой присутствуют как эстеразы, гидролизующие субстрат **24**, так и липофильный холестерин. Состав полученных комплексов был определен как 1:1. Оказалось, что комплекс **26** устойчив к диссоциации в присутствии холестерина и медленнее превращается в 5-йод-2'-деоксиуридин **28**, чем свободный уридин **24**. Последний в течение 30 мин гидролизует на 90 %, тогда как комплексносвязанный — на 10 %. Показана перспективность дальнейших работ в данном направлении.

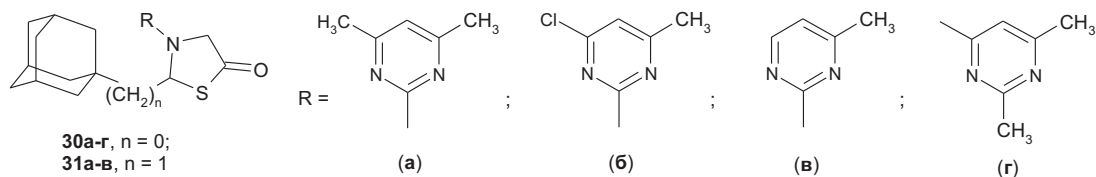
Цитотоксичность — свойство химических соединений вызывать патологические изменения в клетках — является одной из важнейших характеристик противоопухолевых препаратов. Асмарины — цитотоксичные морские алкалоиды с уникальной тетрагидродиазепинопуриновой структурой. Наибольшей селективностью из 3 известных асмаринов А, В и Н обладает асмарин В — соединение **29**.



Липофильность декалинового фрагмента, по мнению исследователей, играет существенную роль в проявлении цитотоксичности. В связи с этим в работе [21] был осуществлен синтез и изучена активность адамантансодержащего аналога асмарина – соединения **30**. Ингибирующая активность изучалась относительно опухолевых клеток линий NSCL A₅₄₉ и pancreas PANC₁. Она оказалась по крайней мере на порядок ниже, чем активность природного соединения **29**.

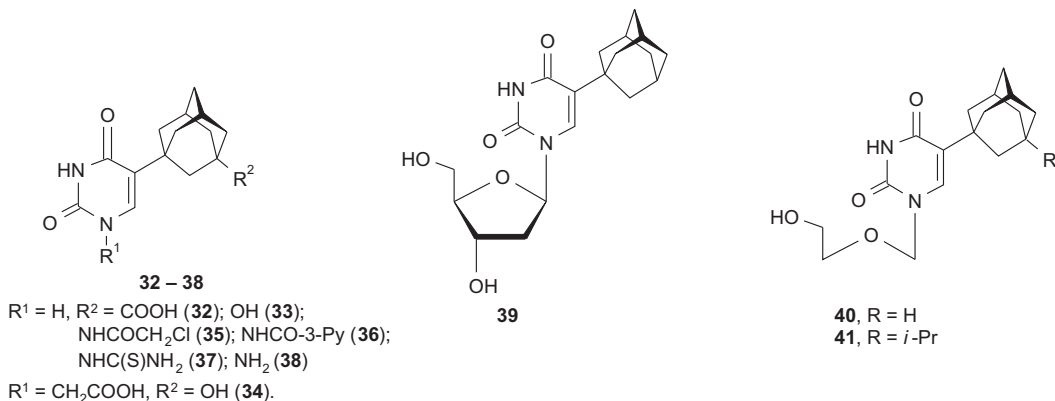
4. Противовирусная активность

В работах [3, 22] сообщается об изучении анти-ВИЧ активности 6-адамантилпиримидинов различного строения (формулы соединений под номерами **17** – **26** приведены в ч. I обзора, раздел I, 1.3 [3]) и замещенных тиазолдин-4-онов, у которых в положении С² находится адамантильный или адамантилметильный заместитель, а в положении N⁴ — пиримидиновый (соединения **30** и **31** соответственно) [22].



Соединения первой группы в условиях изучения оказались неактивными [3]. Изучение антивирусной активности и цитотоксичности соединений **30** и **31** [22] обнаружило значительную активность в отношении ВИЧ-1 соединения **30a**: $EC_{50} = 0,67$ мкМ для ВИЧ-1 (IIIb), ≥ 58 для ВИЧ-1 (ROD); $CC_{50} = 122$; $SI = CC_{50}/EC_{50} = 182$. Данные PCA этого соединения свидетельствуют о том, что молекула вещества существует в конформации “бабочка” (butterfly), типичной для многих ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы NNRTI_s. Квантово-химические расчеты подтверждают зависимость анти-ВИЧ активности от дипольного момента соединения (для **30a** дипольный момент равен 3,79 D) [22].

Изучение цитотоксичности и антивирусного действия в отношении вирусов простого герпеса (ВПГ) антигенного типа HSV-1 и HSV-2 в культуре клеток *Vero* адамантилированных пиримидинов с функциональными заместителями в адамантановом ядре (соединения **32** – **38**) [51] и адамантилсодержащих нуклеозидных аналогов **39**, **40** – **43** было проведено авторами настоящего обзора [23]. Интерес к синтезу адамантилсодержащих нуклеозидов в значительной степени был связан с успешным применением препаратов этого класса в терапии вирусных и онкологических заболеваний. Так, 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидин (азидотимидин), являясь сильным ингибитором ВИЧ-1 инфекции, широко используется в клинике больных СПИДом; 2-амино-9-[(2-гидроксиэтокси)метил]-6,9-дигидро-1*H*-пурин (ацикловир) – высокоэффективное средство против HSV-инфекции [24 – 27].



В качестве препарата сравнения в исследованиях использовался противогерпетический препарат зовиракс (Zovirax). Полученные результаты свидетельствуют о низкой токсичности изученных веществ и о средней антивирусной активности большинства из них, меньшей, чем активность эталона.

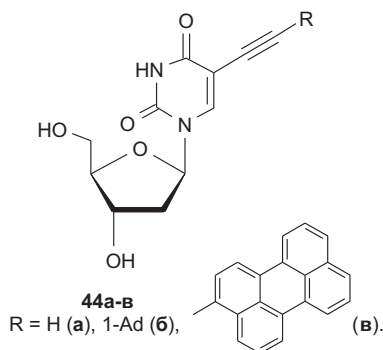
Среди адамантилпиримидинов соединение **32** (с группой COOH в адамантановом ядре) и **38** (с группой NH_2) проявили наиболее выраженную активность в отношении HSV-1, для них $MIC_{50} = 50$ мкМ/мл, а индекс селективности $SI = MCC_{50}/MIC_{50} = 20$. Производные **36** (с фрагментом никотинамида, $MCC_{50} = 250$) и **37** (с фрагментом тиомочевины, $MCC_{50} = 125$) наиболее токсичны и не активны в отношении HSV-1. Наибольшую активность в отношении HSV-2 проявили соединения **35** и **36** (для них $MIC_{50} = 50$), но в силу их достаточно высокой цитотоксичности индекс селективности невелик: $SI = 10$ и 5 соответственно [23].

Изучение адамантансодержащих нуклеозидов показало, что все соединения в концентрациях 187,5 – 250 мкг/мл не вызывают видимых изменений монослоя клеток, т.е. относятся к группе малотоксичных веществ, и что наибольшей противогерпетической активностью (хотя и уступающей препарату зовиракс) обладают ациклические аналоги **40** и **41** с (2-гидроксиэтокси)метильной группой в ациклическом фрагменте молекулы. Установлено, что соединения **40**, **41** в диапазоне концентраций 31,5 – 62,5 мкг/мл избирательно ингибируют репродукцию HSV-1 не только при низкой, но и при стандартной множественности инфицирования (10 – 100 ТЦИД₅₀/0,1 мл). Соединения **39**, **42**, **43** оказывают аналогичное действие только при низкой множественности инфицирования в концентрациях, являющихся также ИД₅₀ по морфологии клеток. Соединение **40** в концентрации 62,5 мкг/мл подавляет репродукцию HSV-2 при низкой множественности инфицирования [23].

Следует подчеркнуть, что максимальный ингибирующий эффект соединений наблюдается при их введении непосредственно после адсорбции вируса (через 1 ч). Введение препаратов через 3 ч после адсорбции приводит к потере противовирусной активности.

Токсичность и анти-HSV-1 активность адамантансодержащего нуклеозида **44b** была изучена в работе [28]. Для сравнения использовались аналогичные характеристики 5-фенилэтинил-2'-деоксиуридина **44a**, не содержащего адамантанового фрагмента, и деоксиуридина **44в** с полициклическим ароматическим углеводородным фрагментом.

Полученные данные свидетельствуют о появлении небольшой антивирусной активности при введении адамантанового фрагмента (соединение **44б**) в молекулу родоначальника ряда (соединение **44а**). Причем это имеет место как в отношении штаммов HSV-1, так и штаммов HSV-1^R, устойчивых к ацикловиру. Авторы считают, что механизм антивирусного действия нуклеозида **44б** не включает его фосфорилирование вирусной тимидин-киназой. Обнаруженная антивирусная активность оказалась много меньшей, чем активность производного **44в** с плоским полициклическим ароматическим заместителем.

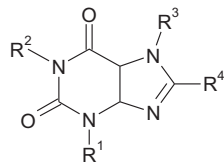


5. Влияние на функции специфических рецепторов

Создание селективных лигандов для специфических рецепторов в настоящее время приобретает первостепенное значение [29, 30]. Известно, например, что активация рецепторов A₁A и A₃A приводит к снижению уровня цАМФ, тогда как активация рецепторов A_{2A}A и A_{2B}A сопровождается его увеличением. Стимулирование A₁A рецепторов активирует калиевые и дезактивирует кальциевые каналы, а стимулирование рецепторов A_{2A}A приводит к ингибированию функциональной активности D₂ дофаминовых рецепторов. Таким образом, открывается большое, малоизученное поле деятельности, связанное с созданием новых типов препаратов для лечения широкого круга заболеваний (сердечно-сосудистых, онкологических, неврологических, психических и др.) [31, 32].

5.1. Адамантансодержащие ксантины в качестве лигандов для аденозинрецепторов AR

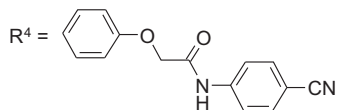
Известно, что производные ксантина **45а – в – 47** являются антагонистами рецепторов аденозина, причем характер замещения в нуклеиновом основании влияет на селективность действия.



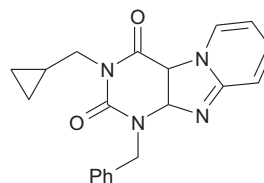
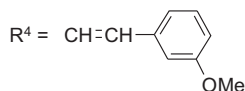
45а-в

а, DPCPX, A₁ селективность
R¹ = R² = (CH₂)₂CH₃, R³ = H, R⁴ = *o*-C₅H₉

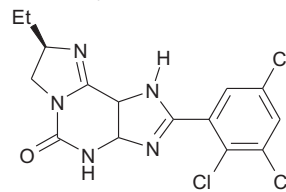
б, MRS 1754, A_{2B} селективность
R¹ = R² = (CH₂)₂CH₃, R³ = H,



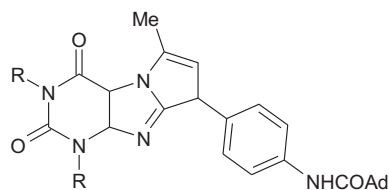
в, MSX-2, A_{2A} селективность
R¹ = (CH₂)₃OH, R² = CH₂C≡CH, R³ = Me,



46, A₃ селективность



47, A₃ селективность



48а,б

R = Me(а), *n*-C₃H₇ (б).

Полициклические производные **46**, **47** оказались активными в отношении AR подтипа A₃ [33 – 38]. В связи с этим была получена серия из 12 полициклических соединений нового типа со структурой [1,2,4]-триазоло[3,4-*f*]пурина — производные **48**, в том числе ксантины **48а**, **б** с адамантановым фрагментом на периферии молекулы [39, 40]. Неожиданно для авторов [39] все синтезированные соединения оказались не активными в отношении всех 4 подтипов (A₁, A_{2A}, A_{2B}, A₃) аденозиновых рецепторов. Этот факт авторы объясняют отсутствием необходимой стерической и электростатической комплементарности изученных соединений с биологическим объектом.

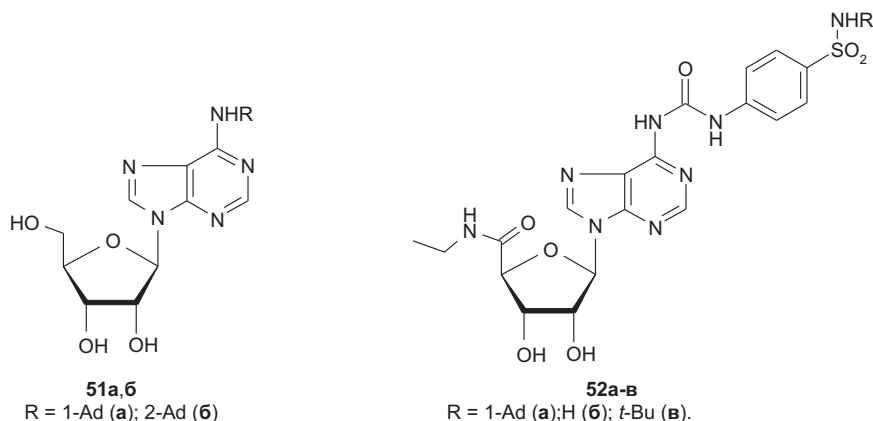
Среди A_1 антагонистов AR ксантиновой структуры наиболее сильными лигандами являются 2 соединения, оба с объёмистыми заместителями в положении 8, одно из этих соединений — адамантильное производное **49** [41].



В работе [42] проведено изучение физико-химических и связывающих свойств в отношении аденозин AR_S рецепторов большой группы из 33 трициклических соединений ксантиновой структуры: имидazo-, пиримидо- и 1,3-дiazепино[2,1-*f*]пуридинонов, в том числе адамантильного производного **50**. Однако это соединение оказалось неактивным в отношении рецепторов подтипов A_1 , A_{2A} крыс и мало активным в отношении подтипов A_1 , A_{2A} , A_{2B} AR человека. “Хорошее микромолярное сродство” было обнаружено к hA_3AR (K_i 1,29 при 10 мкМ).

5.2. Адамантансодержащие аденозины в качестве лигандов для аденозинрецепторов AR

Шестьдесят N^6 -замещенных аденозинов были изучены в качестве активаторов рецепторов человеческого аденозина [43]. Среди 12 N^6 -циклоалкилпроизводных были и адамантансодержащие вещества **51a**, **б**. Все N^6 -циклоалкилзамещённые аденозины оказались полными (≤ 5 углеродов в цикле) или частичными (> 6 углеродов) агонистами hA_3AR . Наибольшей селективностью обладал N^6 -(эндо-норборнил)аденозин. Что касается адамантильных производных **51a**, **б**, то авторы включили их в группу соединений, точная идентификация которых как полных или частичных агонистов из-за их низкого сродства к человеческому A_3AR оказалась невозможной. Одновременно в работе отмечается селективность соединений **51a**, **б** для A_1AR .



В работе [44] для изучения связывающих свойств с аденозиновыми рецепторами 3 подтипов A_1 , A_{2A} , A_3 была выбрана серия из 20 моно- и ди- N -замещенных сульфамидов **52** (в том числе N -адамантильное производное **52a**). Для сравнения был использован незамещенный сульфамид **52б** и его *tert*-бутильное производное **52в**. Результаты представлены в табл. 4.

В целом проведённое авторами работы [44] исследование позволило им сделать вывод о том, что все изученные соединения проявили высокое сродство к рецептору hA_3 и повышенную селективность к рецептору hA_1 по сравнению с производным **52б**.

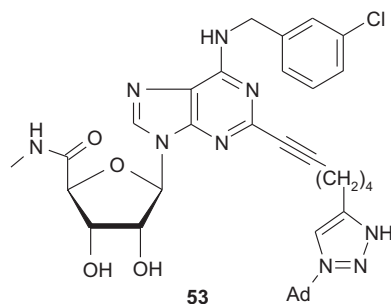
В работе [45] в качестве лигандов рецепторов hA были опробованы более 25 соединений со структурой карбоциклических нуклеозидов. Среди них было одно с адамантильным заместителем на периферии молекулы – соединение **53**. Именно оно и проявило максимальную активность.

Таблица 4

Сродство соединений **52a** – в к аденозиновым рецепторам hAR (подтипы A_1 , A_{2A} , A_3)

| K_i , нМ | 52б | 52a | 52в |
|------------|----------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| A_1 | 30,1 (22,9 – 39,6) ^{a)} | 240 (193 – 297) | 250 (166 – 374) |
| A_{2A} | 95,2 (86,4 – 105,0) | > 1000 (31 %) ^{b)} | > 1000 (32 %) ^{b)} |
| A_3 | 14,8 (10,2 – 21,5) | 35 (28 – 43) | 20 (11 – 36) |
| A_1/A_3 | 2,03 | 7,5 | 12,5 |

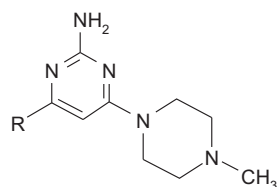
Примечание. ^{a)} Значение K_i в пкМ; ^{b)} % ингибирования.



Связывающие свойства соединения **53** характеризуются следующими значениями K_i (nM) для hAR: для A_2 (3280 ± 700) и для A_3 ($6,5 \pm 0,5$), т.е. селективность в отношении A_3 AR в 500 раз больше, чем для A_2 AR. Ингибирующая активность препарата в отношении A_1 AR оказалась равной (22 ± 2) %. Адамантансодержащий нуклеозид **53** проявил себя также как агонист невысокой эффективности (% ингибирования при концентрации 10 мкМ составил ($27,8 \pm 17,4$) %) в отношении hA_3 AR при экспрессии сAMP (аденозин-3',5'-циклический монофосфат) клетками CHO (Chinese hamster ovary), стимулированными форсколином. Была изучена активность агониста **53** в стимулировании накопления сAMP в CHO клетках, стабильно экспрессирующих hA_{2B} AR. Процент стимулирования оказался равным 36,5.

5.3. Производные 2-аминопиримидинов в качестве лигандов рецептора гормона H4.

В работе [46] было проведено широкое изучение зависимости структура — активность (SAR) большой серии 2-аминопиримидинов в качестве лигандов рецептора гормона, известного под названием гистамин H4. В качестве эталона для сравнения использовался 4-*трет*-бутил-6-(4-метилпиперазин-1-ил)пиримидин-2-ил-амин **54a**. Среди испытанных соединений был и адамантильный аналог эталона — соединение **54б**.



54, R = *t*-Bu (**a**), 1-Ad (**б**)

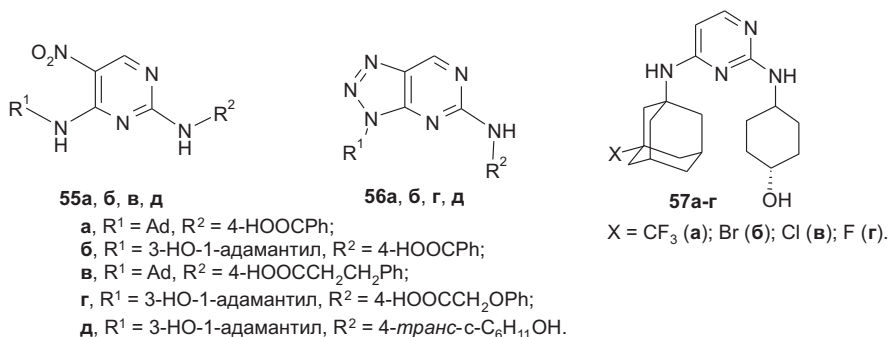
Эталонное соединение **54a** является частичным агонистом умеренной силы для H_4 R крыс ($pEC_{50} = 7,17$) и сильным антагонистом для H_4 R человека ($pK_b = 8,35$), увеличивающим силу последнего более чем в 30 раз. Адамантильный аналог **54б** оказался в 10 раз менее сильным ($pEC_{50} = 6,50$; $pK_b = 87,59$).

5.4. Ингибирующая активность производных 2,5-диаминопиримидинов и 3,5-дизамещенных азапуринов в отношении гликоген синтазы киназы 3 (GSK-3).

В 2008 г. авторы статьи [47] сообщили об открытии ими ингибиторного действия представителей 2 классов пиримидиновых производных (2,5-диаминопиримидинов и 3,5-дизамещенных азапуринов) в отношении фермента GSK-3 (гликоген синтазы киназы 3, GSK-3).

GSK-3 — это серин/треониновая киназа, играющая важную роль во многих клеточных процессах [48, 49]. Важность блокирования этого фермента часто бывает необходимой при разработке терапевтических препаратов для лечения различного типа патологий: болезни Альцгеймера, диабета 2 типа, биполярных расстройств и др. GSK-3 существует в двух формах α и β , которые показывают различную фармакологию [49, 50].

Среди изученных в работе [47] соединений присутствовала группа адамантансодержащих пиримидиновых производных **55a – в, д** и **56a, б, г, д**, среди которых и оказались вещества, наиболее перспективные, по мнению авторов, для дальнейшего изучения в качестве лекарственных препаратов.

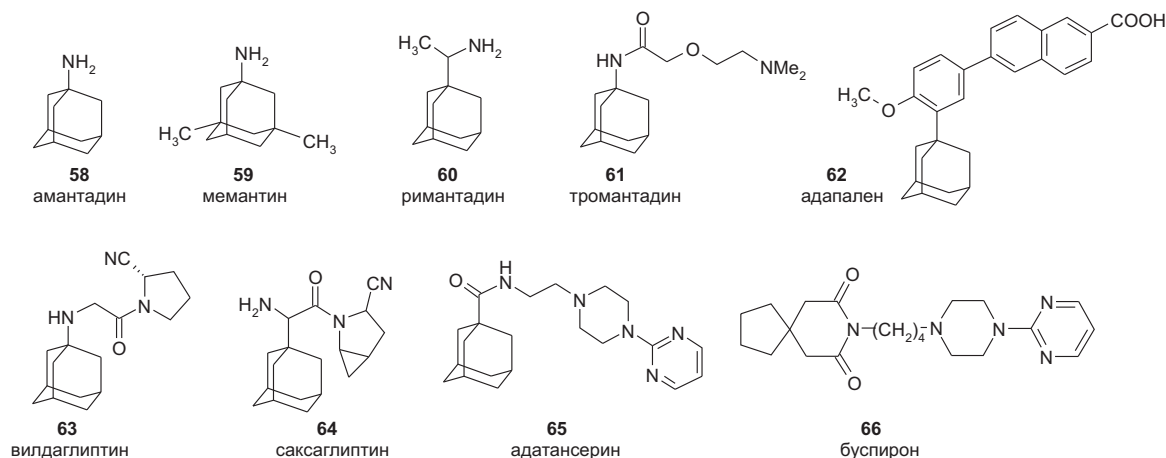


В табл. 5 приведены данные ингибирующей активности соединений **55**, **56** и **57** в отношении α - и β -форм GSK-3 и киназы Aurora A [Aurora A (бывают формы A, B, C) избыточно экспрессируется в некоторых опухолях, влияя на клеточные функции].

Полученные результаты свидетельствуют о большей активности нитропиримидинов **55** по сравнению с производными азапурина **56** и о наибольшей перспективности соединений **57а, б** (достаточно высокая ингибирующая активность в отношении GSK-3 и высокая селективность в отношении Aurora A киназы). Проведенное *in vivo* изучение препарата **57а** на крысах выявило фармакокинетические параметры, благоприятные для создания эффективных лекарств заболеваний ЦНС (высокая — 34 % — оральная биодоступность и длительное время действия).

Заключение

Завершая обзор, мы хотим обратить внимание читателей на опубликованный в 2011 г. в Invited review обзор под названием “Многоликость (“The many faces”) адамантильной группы при дизайне лекарственных средств” (180 литературных ссылок) [52]. В нём авторы сосредоточили свое внимание на адамантансодержащих соединениях, являющихся потенциальными субстратами для использования их при лечении заболеваний крови (iron overload), неврологических болезней, малярии, диабета 2 типа, туберкулёза, воспалительных и онкологических заболеваний, а также на адамантильных производных, являющихся полупродуктами в синтезе препаратов такого рода. В работе обсуждается 38 типов адамантансодержащих соединений и предпринимается попытка прояснить роль адамантанового фрагмента молекул на проявление фармакологической активности. Среди обсуждаемых в обзоре соединений 7 зарегистрированы как препараты, используемые в клинической практике — соединения **58 – 64** и 1 соединение **65**, имеющее непосредственное отношение к теме нашего обзора.



Адатансерин **65** — это адамантильный аналог буспилона **66**, используемого в клинике в качестве анксиолитического агента [53]. Ожидалось, что наличие адамантанового фрагмента в соединении **139** будет благоприятствовать взаимодействию с предполагаемым липофильным связывающим карманом в рецепторе 5-НТ_{1А} фармакофора. Оказалось, что по сравнению с буспироном производное **65** проявляет большее различие (demarcation) между нежелательным седативным эффектом и действием его как анксиолитика в *in vivo* опытах.

Таблица 5

Ингибирующая активность соединений **55 – 57** [47] в отношении киназ GSK-3 и Aurora A

| Соединение | IC ₅₀ , пкМ | | |
|------------|------------------------|---------------|--|
| | GSK-3 α | GSK-3 β | Aurora A (% ингибирования при концентрации 10 мкМ) |
| 55а | 34 | 26 | – |
| 56а | 80 | 75 | 910 |
| 55б | 4,5 | 3 | 156 |
| 56б | 66 | 51 | – |
| 55в | 38 | 105 | – |
| 56г | 96 | 169 | – |
| 55д | 123 | 198 | (38 %) |
| 56д | 444 | 744 | (23 %) |
| 57а | 61 | 41 | (45 %) |
| 57б | 91 | 125 | (69 %) |
| 57в | 133 | 230 | (65 %) |
| 57г | 1499 | – | – |

Расчётные данные clogP для адамантансодержащих препаратов 58 – 65

| Соединения | Заболевания | clogP ^{a)} | clogPdes ^{b)} |
|------------|----------------------------------|---------------------|------------------------|
| 58 | Антивирусные, болезнь Паркинсона | 2,22 | не рассчитано |
| 59 | Болезнь Альцгеймера | 3,18 | не рассчитано |
| 60 | Антивирусные | 3,10 | - 0,13 |
| 61 | Антивирусные | 1,30 | - 1,88 |
| 62 | Угри обыкновенные | 8,04 | 4,70 |
| 63 | Сахарный диабет 2 типа | - 0,14 | - 1,50 |
| 64 | Сахарный диабет 2 типа | - 0,14 | - 1,65 |
| 65 | Neuroactive — нейроактивные | 2,65 | 0,45 |

^{a)} Рассчитано с использованием программного обеспечения ACD/Labs V11.01 и V12.01; ^{b)} аналоги, не содержащие адамантан: для **60** – **65** — этиламин, 2-[2-диметиламино]этокси]ацетамид, 6-(4-метоксифенил)нафталин-2-карбоновая кислота, (2S)-1-(аминоацетил)пирролидин-2-карбонитрил, (1S,3S,5S)-2-(аминоацетил)-2-азабицикло[3.1.0]гексан-3-карбонитрил, соответственно.

Важной характеристикой фармакологически активных препаратов является их липофильность. В табл. 6 приведены расчётные данные clogP из обзора [52] для адамантансодержащих соединений **58** – **64**, используемых в клинической практике, и производного **65**, а также clogP_{des} их аналогов без адамантанового или 3-гидроксиадамантанового фрагментов. Эти данные могут оказаться весьма полезными при дизайне лекарственных препаратов.

В заключение авторы обзора [52] делают вывод о том, что наличие адамантанового фрагмента в изученных соединениях оказывает влияние на его свойства по 4 направлениям (схема): **(А)** увеличивает приблизительно на 3 логарифмических единицы значение clogP; **(Б)** уменьшает относительную концентрацию циклического амида, образующегося из *N*-замещенных цианопирролидиновых фрагментов (показано для **63**); **(В)** взаимодействует с гидрофобными аминокислотными остатками при связывании с белками и **(Г)** замедляет гидролиз адамантансодержащих эфиров и амидов гидролитическими ферментами (эстеразами, амидазами).

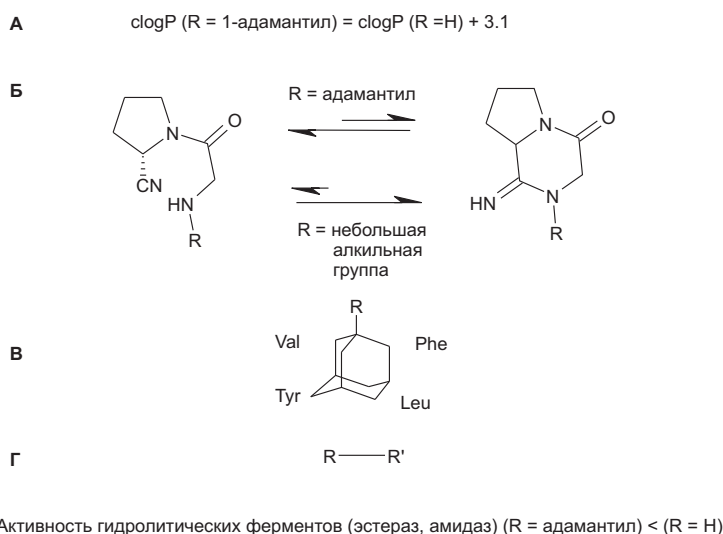


Схема. Выявленные эффекты адамантильной группы при создании лекарств.

Еще один обзор, на котором мы хотим остановиться, вышел в 2010 г. под названием “Использование адамантановой структуры в медицинской химии” [54]. Обзорная статья [54] построена таким образом, чтобы на известных примерах попытаться связать структуру адамантансодержащих соединений с их лекарственными свойствами, используя следующие факторы:

изменение ADME-свойств (Absorption — поглощение, Distribution — распределение, Metabolism — превращение, Excretion — выделение) молекул соединений;

гидрофобное связывание с ферментами, обуславливающее ингибирующее действие веществ;

процессы взаимодействия с ионными каналами;

жесткость адамантансодержащей платформы.

Хотя в обзоре нет ни одного упоминания об интересующих нас соединениях, суммированные в работе данные могут быть полезными для исследователей, работающих в области дизайна лекарственных средств самого широкого спектра действия с использованием в качестве объектов изучения адамантансодержащих моно- и полициклических пиридиноавых производных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Э. А. Шокова, В. В. Ковалёв, *Хим.-фарм. журн.*, **47**(5), 32 – 48 (2013); *Pharm. Chem. J.*, **47**(5), 264 – 280 (2013).
2. B. Orzeszko, A. E. Laudy, B. J. Starościak, et al., *Acta Pol. Pharm. Drug Res.*, **61**(6), 455 – 460 (2004).
3. B. Orzeszko, Z. Kazimierzczuk, J. K. Maurin, et al., *II Farmaco*, **59**(12), 929 – 937 (2004).
4. B. Orzeszko, M. Fedoryński, A. E. Laudy, et al., *Acta Pol. Pharm.*, **63**(5), 374 – 377 (2006).
5. S. Prachayasittikul, A. Worachartcheewan, C. Nantasenamat, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, **46**(2), 738 – 742 (2011).
6. S. Prachayasittikul, N. Sornsongkhram, R. Pingaew, et al., *Eur. J. Sci. Res.*, **36**(2), 236 – 245 (2009).
7. D. C. Martyn, A. Nijjar, C. A. Celatka, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **20**(1), 228 – 231 (2010).
8. K. Petersson, B. T. Pedersen, D. Staerk, et al., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **23**, 337 – 345 (2004).
9. R. Jorda, N. Sacerdoti-Sierra, J. Voller, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **21**(14), 4233 – 4237 (2011).
10. N. Kolocouris, G. Zoidis, G. B. Foscolos, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **17**(15), 4358 – 4362 (2007).
11. J. K. Maurin, W. Lasek, A. Górska, et al., *Chem. Biodiver.*, **1**(10), 1498 – 1512 (2004).
12. J. K. Maurin, W. Lasek, A. Górska, et al., *Anti-Cancer Drug Design*, **16**(2), 73 – 80 (2001).
13. B. Orzeszko, T. Świtaj, A. B. Jakubowska-Mućka, et al., *Z. Naturforsch. B*, **60**(4), 471 – 475 (2005).
14. Z. Kazimierzczuk, A. Górska, T. Świtaj, W. Lasek, *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **11**(9), 1197 – 1200 (2001).
15. Z. Kazimierzczuk, A. Orzeszko, A. Sikorska, in: *Perspectives in Nucleoside and Nucleic Acid Chemistry*, M. V. Kisakürek and H. Rosemeyer (eds), Wiley-VCH, Weinheim (2000), p. 87.
16. Н. В. Макарова, Е. И. Бореко, И. К. Моисеев и др., *Хим.-фарм. журн.*, **36**(1), 5 – 7 (2002); *Pharm. Chem. J.*, **36**(1), 3 – 6 (2002).
17. A. Maciolkiewicz, M. Munteanu, H. Ritter, *Macromol. Chem. Rev.*, **211**(2), 245 – 249 (2010).
18. R. K. Chiou, G. V. Dalrymple, J. Baranowska-Kortylewicz, et al., *J. Urolog.*, **162**(1), 58 – 62 (1999).
19. A. I. Kassis, *J. Nucl. Med. Allied Sci.*, **34**(4), 299 – 303 (1990).
20. X.-H. Yang, S. Singh, J. Diakur, L. I. Wiebe, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **11**(2), 32s – 43s (2008).
21. D. Pappo, Sh. Shimony, Y. Kashman, *J. Org. Chem.*, **70**(1), 199 – 205 (2005).
22. J. Balzarini, B. Orzeszko-Krzesińska, J. K. Maurin, A. Orzeszko, *Eur. J. Med. Chem.*, **44**(1), 303 – 311 (2009).
23. Э. А. Шокова, Л. М. Алимбарова, В. В. Ковалев, *Хим.-фарм. журн.* **33**(7), 30 – 33 (1999); *Pharm. Chem. J.*, **33**(7), 372 – 376 (1999).
24. C. K. Chu and S. J. Culter, *J. Heterocycl. Chem.*, **23**(2), 289 – 319 (1986).
25. P. A. M. Herdewijn, *Antiviral Res.*, **19**(1), 1 – 14 (1992).
26. И. С. Морозов, В. И. Петров, С. А. Сергеева, *Фармакология адамантанов*, Волгоградская медицинская академия, Волгоград (2001).
27. E. De Clercq, *J. Med. Chem.*, **38**(14), 2491 – 2617 (1995).
28. M. V. Skorobogatyi, A. V. Ustinov, I. A. Stepanova, et al., *Org. Biomol. Chem.*, **4**(6), 1091 – 1096 (2006).
29. B. B. Fredholm, A. P. IJzerman, K. A. Jacobson, et al., *Pharm. Rev.*, **53**(4), 527 – 552 (2001).
30. K. A. Jacobson, A. M. Klutz, D. K. Tosh, et al., *Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer (2009), p. 123.
31. P. G. Baraldi, B. Cacciari, R. Romagnoli, et al., *Med. Res. Rev.*, **20**(2), 103 – 128 (2000).
32. A. Bilkei-Gorzo, O. M. Abo-Salem, A. M. Hayallah, et al., *Arch. Pharmacol.*, **377**(1), 65 – 76 (2008).
33. K. A. Jacobson and F. Suzuki, *Drug. Dev. Res.*, **39**(3 – 4), 289 – 300 (1996).
34. B. Cacciari, G. Pastorin, G. Spalluto, *Cur. Topic Med. Chem.*, **3**(4), 403 – 411 (2003).
35. Y.-C. Kim, X.-D. Ji, N. Melman, et al., *J. Med. Chem.*, **43**(16), 1165 – 1172 (2000).
36. A. M. Hayallah, J. Sandoval-Ramírez, U. Reith, et al., *J. Med. Chem.*, **45**(7), 1500 – 1510 (2002).
37. E.-M. Priego, J. von Frijtag Drabbe Kuenzel, A. P. IJzerman, et al., *J. Med. Chem.*, **45**(16), 3337 – 3344 (2002).
38. C. E. Müller, M. Thorand, R. Qurishi, et al., *J. Med. Chem.*, **45**(16), 3440 – 3450 (2002).
39. G. Pastorin, C. Bolcato, B. Cacciari, et al., *II Farmaco*, **60**(4), 299 – 306 (2005).
40. G. Pastorin, C. Bolcato, B. Cacciari, et al., *II Farmaco*, **60**(8), 643 – 651 (2005).
41. S. Hess, *Exp. Opin. Ther. Pat.*, **11**(10), 1533 – 1561 (2001).
42. A. Drabczynska, O. Yuzlenko, M. Köse, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, **46**(9), 3590 – 3607 (2011).
43. Z.-G. Gao, J. B. Blaustein, A. S. Gross, et al., *Biochem. Pharm.*, **65**(10), 1675 – 1684 (2003).
44. P. G. Baraldi, F. Fruttarolo, M. A. Tabrizi, et al., *J. Med. Chem.*, **47**(22), 5535 – 5540 (2004).
45. D. T. Tosh, M. Chinn, L. S. Yoo, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **18**(2), 508 – 517 (2010).
46. R. J. Altenbach, R. M. Adair, B. M. Bettencourt, et al., *J. Med. Chem.*, **51**(21), 6571 – 6580 (2008).
47. C. Lum, J. Kahl, L. Kessler, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **18**(12), 3578 – 3581 (2008).
48. V. F. Taelman, R. Dobrowolski, J.-L. Plouhinec, et al., *Cell.*, **143**(7), 1136 – 1148 (2010).
49. B. W. Doble and J. R. Woodgett, *J. Cell. Sci.*, **116**(7), 1175 – 1186 (2003).
50. C. J. Phiel, C. A. Wilson, W. M.-Y. Lee, P. S. Klein, *Nature*, **423**(6938), 435 – 442 (2003).
51. A. Shmailov, L. Alimbarova, E. Shokova, et al., *Tetrahedron*, **66**(16), 3058 – 3064 (2010).
52. J. Liu, D. Obando, V. Liao, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, **46**(6), 1949 – 1963 (2011).
53. M. A. Abou-Gharbia, W. E. Jr. Childers, H. Fletcher, et al., *J. Med. Chem.*, **42**(25), 5077 – 5094 (1999).
54. G. Lamoureux and G. Artavia, *Cur. Med. Chem.*, **17**(25), 2967 – 2978 (2010).

Поступила 21.02.14

BIOLOGICAL ACTIVITY OF ADAMANTANE-CONTAINING MONO- AND POLYCYCLIC PYRIMIDINE DERIVATIVES (A REVIEW)

E. A. Shokova and V. V. Kovalev

Department of Chemistry, Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

Results of biological testing of a series of adamantane-containing pyrimidines, purines and their derivatives synthesized and studied in 1999 – 2001 are presented.

Keywords: adamantane-containing pyrimidines; purines; derivatives.