

© Коллектив авторов, 2007

Г. С. Любин, Б. Б. Кузьмицкий, М. Б. Голубева, Н. А. Конопля, Е. В. Королева, Т. В. Чернихова, Ф. С. Пашковский, И. П. Антоневич, Ф. А. Лахвич

## МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПРОСТАГЛАНДИНЫ — НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ИММУНОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ (ОБЗОР)

Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск

Рассмотрена роль экзогенных простагландинов как регуляторов иммунного ответа и аллергического воспаления и современное понимание процессов взаимодействия полученных синтетическим путем природных простагландинов (PG) или их модифицированных аналогов с рецепторами простаноидов. Исходя из принципов структурной комплементарности, проанализированы зависимости эффекта от дозы и взаимосвязи “структура — активность” новых простаноидов серий 11-дезоксипроостагландинов  $E_1$ ,  $E_2$ ,  $F_{2\alpha}$ , модифицированных по  $\alpha$ - и  $\omega$ -цепям и содержащих фармакофоры в различных положениях простанового скелета. Установлено, что простаноиды ряда  $E$ , лишённые оксо- и гидроксигруппы в циклопентановом кольце, но содержащие полностью или почти полностью сформированную  $\alpha$ -цепь и фрагмент малонового эфира в  $\omega$ -цепи, иммунофармакологически неактивны. С другой стороны, их аналоги, характеризующиеся наличием 9-кетальной группы, активируют как клеточное, так и гуморальное звено иммуногенеза у мышей, иммунизированных эритроцитами барана. Оксогруппа в положении 7 является важнейшим фармакофором для сохранения иммунопозитивного вектора и фармакологически значимой активности. Выявленная активация лиганд-рецепторного взаимодействия сохраняется и в условиях замены циклопентанового фрагмента простаноидов на бициклопентановый. Модификация  $\omega$ -цепи посредством включения гетероатома серы в положение 13 не приносит весомых изменений в комплементарность структуры простаноида к PG-рецептору, в то время как трансформация простаноидной  $\omega$ -цепи до появления 1-амино-3-оксо-окт-1-енильного фрагмента может рассматриваться в качестве альтернативного подхода к получению иммуностимулирующих простаноидов. Как правило, переход от  $E$ -простаноидов к соединениям ряда  $F$  усиливает способность последних потенцировать ответную иммунную реакцию гуморального типа. Фармакодинамические параметры данной реакции свидетельствуют о высокой аффинности  $F$ -простаноидов к EP-рецепторам и способности соединений выступать в роли их агонистов. С этой точки зрения снижение иммуноактивирующего потенциала простаноидов, содержащих “объёмный” фрагмент в  $\omega$ -цепи, вполне закономерно. Таким образом, некоторые из рассматриваемых лигандов для простаноидных рецепторов заслуживают внимания в качестве прототипов безопасных и эффективных низкомолекулярных иммунорегуляторов нового поколения.

Почти столетие прошло с тех пор, как появились первые публикации о структуре и физиологической активности простагландинов (PG), однако изучение процессов PG-рецепторного взаимодействия и понимание их роли в биологических процессах является достижением последнего десятилетия XX века. В свою очередь, это послужило основой для направленного получения новых иммуотропных лигандов.

В основе структуры PG лежит простановая кислота, состоящая из  $C_{20}$ -углеродной цепи, часть которой образует циклопентановое кольцо. PGE, PGF и PGD, синтезируемые клетками, различаются по положению и типу замещающих функциональных групп (оксо- и/или гидроксигруппы) при  $C_9$  и  $C_{11}$  циклопентанового ядра. PGE характеризуется наличием карбонильной группы  $C_9=O$  и гидроксигруппы  $C_{11}-OH$ , у PGF в тех же положениях  $C_9$  и  $C_{11}$  находятся OH-группы. Природные PG имеют гидроксигруппу в положении  $C_{15}$  и

*транс*-двойную связь между  $C_{13}$  и  $C_{14}$ . Цифры 1, 2 или 3 в индексе PG означают, что этот простаноид содержит одну *транс*-двойную связь  $C_{13}=C_{14}$  ( $PG_1$ ) или ещё одну ( $PG_2$ ) или две *цис*-двойные связи между  $C_5=C_6$  и  $C_{17}=C_{18}$  соответственно ( $PG_3$ ).

Простаноиды и их экзогенные аналоги обладают многогранной фармакологической активностью. Их действие проявляется сокращением гладкой мускулатуры матки ( $PGE_2$ ,  $PGF_{2\alpha}$ ), ингибированием агрегации и адгезии тромбоцитов ( $PGE_1$ ,  $PGI_2$ ), торможением секреции и восстановлением целостности слизистой оболочки желудка ( $PGE_1$ ,  $PGE_2$ ,  $PGI_2$ ), повышением проницаемости капилляров, температуры тела, болевой реакции, усилением процесса воспаления ( $E_2$ ,  $D_2$ ).

На основе природных PG или полученных синтетическим путем их модифицированных аналогов созданы лекарственные препараты, имитирующие или блокирующие действие эндогенных простаноидов. В ка-

честве средств для активации родовой деятельности и прерывания беременности нашли применение динапрост и динапростон. При эрозивно-язвенных поражениях слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки вследствие приема НПВС (кислота ацетилсалициловая, диклофенак и др.) используется синтетический аналог PGE<sub>1</sub> мизопропрост. Аналог PGF<sub>2α</sub> под названием латанопрост применяют в качестве антиглаукоматозного средства. Препарат алпростадил на основе PGE<sub>1</sub> представляет интерес как сосудорасширяющее и нормализующее микроциркуляцию средство.

Работы по химии и фармакологии PG в 30–80 гг XX в. заключались в основном в воспроизведении природных PG и получении их стабильных аналогов. Широкий спектр действия этих препаратов затрудняет возможность их практического применения, так как их одновременное воздействие на многие органы и системы является причиной возникновения многочисленных побочных эффектов [1].

PG способны как индуцировать развитие воспаления, так и подавлять его, экзогенные PGE обычно угнетают аллергические реакции. Однако роль эндогенных простаноидов как регуляторов иммунного ответа, аллергии и воспаления оставалась спорной. Господствовавшее ранее представление о принадлежности PG к провоспалительным медиаторам к настоящему времени претерпело существенные изменения. Воздействие простаноидов на воспалительный процесс определяется рядом факторов, включая степень активации иммунных клеток, наличие иных медиаторов (брадикинин, гистамин), физиологическое состояние организма.

Относительно недавно выявлены рецепторы простаноидов практически во всех тканях у мышей, включая иммунокомпетентные органы — тимус и селезенку. PG-рецепторы идентифицированы, клонированы и экспрессированы в культурах клеток, изучена их молекулярная структура, свойства и функции [2, 3].

Первоначально простаноиды рассматривали как гидрофобные вещества, инкорпорирующиеся в клеточную мембрану и реализующие свое действие посредством изменения жидкого состояния липидов. Однако по мере накопления данных о биологических свойствах простаноидов стала формироваться концепция рецепторного механизма их действия. Оказалось, что степень гидрофобности простаноидов не столь велика, и они не инкорпорируются в клеточную мембрану и не проникают через нее [4]. Каждый простаноид обладает уникальным профилем активности и ответственен за специфическую сферу действия [5]. Наличие рецепторов к простаоидам было подтверждено биохимически, когда выяснилось, что их эффекты сопряжены с изменением уровня цАМФ и свободного кальция в клетке [6].

Интеграция полученных данных позволила разработать систему классификации рецепторов к тромбоксанам (Tx) и простаоидам, идентифицирующую рецепторы, которые специфичны к PGI<sub>1</sub>, PGE, PGF и PGD, которым присвоены индексы соответственно, TP, IP, EP, FP и DP, причем EP-рецепторы представлены четырьмя подтипами — EP<sup>1</sup>, EP<sup>2</sup>, EP<sup>3</sup>, EP<sup>4</sup> [7]. Все

восемь типов и подтипов рецепторов простаноидов идентифицированы [8].

Анализ структуры рассматриваемых рецепторов свидетельствует о значительном представительстве в них “универсальных” аминокислотных последовательностей, каждая из которых встречается у более чем 5 рецепторов. Однако, несмотря на наличие этих “консервативных” участков, уровень гомологичности среди рецепторов простаноидов довольно ограничен и укладывается в диапазон 20–30%. Интересно, что этот ограниченный уровень гомологичности сохраняется даже среди 4 подтипов рецепторов к PGE. Это, в свою очередь, существенно затрудняет определение специфичности связывания рецепторов с лигандами за счет простого сопоставления их аминокислотной последовательности. С другой стороны, уровень гомологичности в рамках данного типа или подтипа рецепторов среди представителей разных видов живых организмов значительно более высокий. К примеру, гомология аминокислотной последовательности между IP, TP, EP<sup>1</sup>, EP<sup>3</sup>, EP<sup>4</sup> и FP-рецепторами человека и мыши составляет соответственно 79, 76, 84, 84, 88 и 89%. Установлена локализация генов, кодирующих PG рецепторы мыши и человека. Так, картирование генов, кодирующих DP, EP<sup>1</sup>, EP<sup>3</sup>, EP<sup>4</sup>, FP, IP и TP-рецепторы мыши, позволило “приписать” их хромосомам соответственно 14, 8, 3, 15, 3, 7 и 10 [9, 10], и отнести гены, кодирующие EP<sup>1</sup>, EP<sup>3</sup>, EP<sup>4</sup>, FP, IP и TP-рецепторы человека, к хромосомным зонам соответственно, 19p13.1, 1p31.2, 5p13.1, 1p31.1, 19q13.3 и 19p13.3 [11]. Картирование генов, кодирующих DP-рецепторы человека, а также генов, кодирующих EP<sup>2</sup>-рецепторы мыши и человека, еще не осуществлено.

С функциональной точки зрения выделяют 3 категории рецепторов простаноидов: релаксанты, контрактильные и ингибиторы. Рецепторы-релаксанты опосредуют увеличение уровня цАМФ и расслабление гладкой мускулатуры. Эта категория представлена IP-, DP-, EP<sup>2</sup>- и EP<sup>4</sup>-рецепторами. Контрактильные рецепторы опосредуют мобилизацию кальция и сокращение гладкой мускулатуры; к ним относят TP-, FP- и EP<sup>1</sup>-рецепторы. EP<sup>3</sup>-рецепторы, которые опосредуют снижение уровня цАМФ и расслабление гладкой мускулатуры, относятся к категории рецепторов-ингибиторов [3].

Сравнительный анализ аминокислотной последовательности в рецепторах к различным медиаторам липидного обмена, выполненный с помощью современного программного обеспечения, позволил установить, что PG рецепторы представляют собой отдельную группу в “классе” рецепторов родопсинового типа, отличную от другой группы, в которую входят, к примеру, рецепторы к фактору активации тромбоцитов человека и морской свинки и рецепторы к липоксину А человека [12].

Способность простаноидов воздействовать на деятельность иммунокомпетентных клеток зависит от их связывания с рецепторами клеточной мембраны, которые, в свою очередь, сопряжены с G-белком. Влияние PGF<sub>2α</sub>, PGI<sub>2</sub> и TXA<sub>2</sub> осуществляется соответственно через FP-, IP и TP-рецепторы, тогда как PGD<sub>2</sub> и PGE<sub>2</sub> активируют несколько рецепторов. Так, PGD<sub>2</sub> действу-

ет через DP-рецепторы и хемоаттрактантный рецептор CRTH2, экспрессируемый на Т-хелперах 2 типа. Эффекты PGE<sub>2</sub> опосредуются всеми четырьмя подтипами рецепторов (EP1 – EP4), причем каждый из них кодируется отдельным геном [8].

Имеются основания считать, что основными регуляторами иммунитета являются PGE<sub>2</sub> (подавляет активность определенных субпопуляций Т-клеток и обеспечивает IgE-опосредованное развитие гуморального иммуногенеза) и PGD<sub>2</sub>, который определяет выраженность терминальных этапов аллергической реакции.

Провоспалительные и иммунорегуляторные свойства PGE<sub>2</sub> тесно связаны между собой, т. к. и те, и другие реализуются через активацию EP-рецепторов. Установлено, что PGE<sub>2</sub> формирует “аллергический тип” иммунного ответа за счет стимулирования продукции IgE-антител В-лимфоцитами и активации синтеза цитокинов Т-хелперами 2 типа — IL-4, IL-10 (здесь и далее IL – цитокины, относящиеся к группе интерлейкинов). Эти эффекты сочетаются с подавлением продукции цитокинов Т-хелперами 1 типа (IFN-γ, IL-12). PGE<sub>2</sub> стимулирует дифференциацию зрелых В-лимфоцитов до IgE-секретирующих клеток. В основе механизма регуляции активности В-лимфоцитов посредством EP2- и EP4-рецепторов лежит повышение уровня цАМФ [13]. Предполагается, что применение фармакологических веществ, способных действовать в качестве антагонистов EP2- и EP4-рецепторов, может в значительной степени воспрепятствовать развитию гуморального иммунного ответа по IgE-опосредуемому “аллергическому” пути.

Наличие EP2-, EP3- и EP4-рецепторов выявлено на плазматической мембране незрелых тучных клеток, полученных из костного мозга. Активация EP2- и EP4-рецепторов ведет к угнетению функции тучных клеток, тогда как активация EP3-рецепторов обеспечивает увеличение внутриклеточного кальция и/или угнетение цАМФ и усиление процесса дегрануляции. Тучные клетки генерируют преимущественно PGD<sub>2</sub>, тогда как покоящиеся макрофаги продуцируют PGE<sub>2</sub> и TxA<sub>2</sub>. Активация макрофагов приводит к тому, что преобладающая роль переходит к PGE<sub>2</sub>. Важно отметить, что выработка PGD<sub>2</sub> определяется не общим количеством тучных клеток, а количеством тучных клеток, включенных в IgE-зависимую активацию [14].

Активация моноцитов под влиянием липополисахарида влечет за собой увеличение экспрессии циклооксигеназы-1 (ЦОГ-1). Используя мышей, характеризующихся дефицитом экспрессии ЦОГ-1 или ЦОГ-2, установлено, что развитие ранних этапов воспалительного процесса определяется ЦОГ-1, однако по мере его прогрессирования основным регулятором продуцирования простаноидов становится вторая изоформа [2].

Рецепторы к простаноидам тесно связаны с механизмами передачи сигналов, которые опосредуют воздействие активированных рецепторных внутриклеточных структур на функционирование иммунокомпетентных клеток. К примеру, DP-, EP2-, EP4-, IP- и одна из изоформ EP3-рецепторов, связываясь с G<sub>s</sub>-белком, обеспечивают увеличение концентрации внутриклеточного цАМФ.

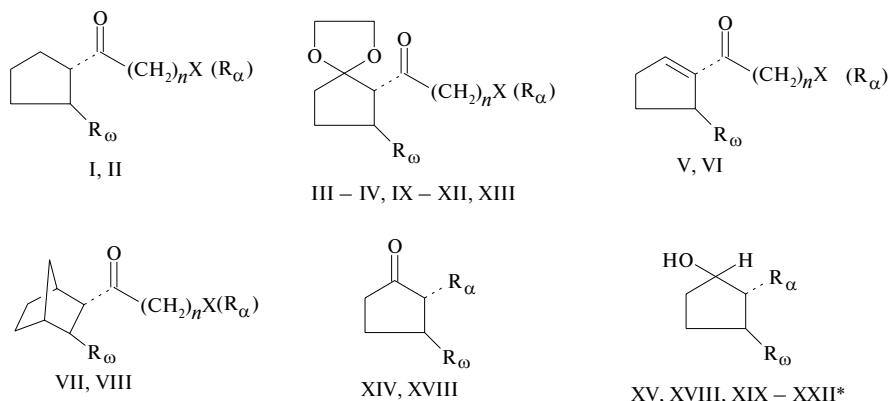
В свою очередь, аккумуляция цАМФ в Т-лимфоцитах и других типах клеток, участвующих в воспалительном процессе, связано с угнетением деятельности эффекторных клеток. С другой стороны, EP1-, FP-, IP-, TP- и другие изоформы EP3-рецепторов сопрягаются с G<sub>q</sub>-белком, и их активация приводит к увеличению уровня внутриклеточного кальция, что в конечном итоге обеспечивает активацию иммунокомпетентных клеток. Не исключена и ситуация, когда вследствие активации TP-, CRTH2- и изоформы EP3-рецепторов и их сопряжения с Gi-белком происходит снижение уровня цАМФ и мобилизация внутриклеточного кальция [13].

Экзогенный PGE<sub>2</sub> ингибирует рост клеток, которые фенотипически сходны с незрелыми В-клетками и нормальными В-клеточными предшественниками, причем этот эффект в основном реализуется через проапоптозное действие PGE<sub>2</sub> [15]. Последний не вызывает апоптоз зрелых В-клеток [16]. В целом, клеточные линии мышей, характеризующиеся фенотипом незрелых В-клеток, более чувствительны к ростингибирующему действию PGE<sub>2</sub> по сравнению со зрелыми В-клетками; обращает на себя внимание наличие в незрелых клетках В-системы EP1-, EP2- и EP3-рецепторов к данному PG. PGE<sub>2</sub> выступает не только в роли ингибитора В-клеточной пролиферации, но также усиливает дифференциацию В-клеток и переключение ориентации их белкового синтеза в направлении IgE и/или IgG. Полное представление о воздействии данного PG на гуморальный иммунитет можно получить лишь с учетом его опосредованного действия через сдвиг баланса Т-системы в сторону продуцирования цитокинов Tх2-типа, что неизбежно сказывается на профиле гуморального иммуногенеза [17].

Исследования, выполненные с использованием Tх0-, Tх1- и Tх2-клеточных подсемейств, свидетельствуют, что экзогенный PGE<sub>2</sub> сдвигает баланс CD<sub>4</sub> Т-хелперов в направлении развития иммунного ответа по Tх2-типу [17]. Этот вывод подтвержден в экспериментах *in vivo* на мышах линии BALB/с, которые проявляли ответную иммунную реакцию с преобладанием Tх2-клеток, активность которых определялась уровнем PGE<sub>2</sub> [18].

PGE<sub>2</sub> является одним из основных физиологических ингибиторов цитотоксической активности как человеческих, так и мышиных естественных киллеров. Эта функция PGE<sub>2</sub> важна как фактор канцерогенеза, а также как один из физиологических регуляторов взаимоотношений организма плода и матери во время беременности [17].

Показано, что стимулированные макрофаги выделяют провоспалительные цитокины, IFN- и PGE<sub>2</sub>; выделяемый моноцитами и макрофагами PGE<sub>2</sub> способен влиять на антигенные свойства дендритных клеток (ДК) [19]. Как и в случае со зрелыми ДК, PGE<sub>2</sub> угнетает дозозависимо индуцированную липополисахаридом продукцию IL-12 моноцитами человека [17]. На основании полученных результатов сделан вывод, что при воздействии антигена макрофаги способны выделять и PGE<sub>2</sub>, и IL-12, причем баланс этих двух факторов может определить направление дифференцировки



**Рис. 1.** Типы простаноидов, проявляющих иммуномодулирующее действие на моделях В-клеточного (гуморального) и Т-клеточного (в реакции ГЗТ) иммунного ответа *in vivo*.

Номер соединения	$R_\alpha$	$x$	$n$	$R_\omega$
I		COOMe	5	CH(COOMe) <sub>2</sub>
II		COOMe	4	CH(COOMe) <sub>2</sub>
III		COOMe	5	CH(COOMe) <sub>2</sub>
IV		COOMe	4	CH(COOMe) <sub>2</sub>
V		COOMe	5	CH(COOMe) <sub>2</sub>
VI		COOMe	4	CH(COOMe) <sub>2</sub>
VII		COOMe	5	CH(COOMe) <sub>2</sub>
VIII		COOMe	4	CH(COOMe) <sub>2</sub>
IX		Me	0	CH(COOMe) <sub>2</sub>
X		Me	3	CH(COOMe) <sub>2</sub>
XI		Me	3	S(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> Me
XII		COOMe	4	1-амино-3-оксоокт-1-енил
XIII	(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOMe		—	CH(COOMe) <sub>2</sub>
XIV	(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOMe		—	13-оксо-15-гидрокси-15-пиридил-2
XV	(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOMe		—	13-оксо-15-гидрокси-15-пиридил-2
XVI	(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOMe		—	13-оксо-15-гидрокси-15-пиридил-4
XVII	(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOMe		—	13,15-дигидрокси-15-пиридил-4
XVIII			—	13-оксо-15-гидрокси-15-пиридил-4
XIX			—	13-оксо-15-гидрокси-15-пиридил-4
XX	(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOMe		—	13-оксо-13-циклопентаноил
XXI	(CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOMe		—	13-оксо-14-бициклопептил
XXII*	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOMe		—	13,15-изоксазолил-16-OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> Cl- <i>m</i>

\* 11-Me

Т-клеточного звена иммуногенеза либо по Тх1-, либо по Тх2-сопряженному пути [20].

Способность PGE оказывать иммуносупрессорное действие послужила предпосылкой для изучения возможности применения их в качестве препаратов, смягчающих токсический эффект иммуносупрессора циклоспорина А. Исследования, выполненные на модели отторжения аллотрансплантата у крыс с пересаженным локусом тонкого кишечника, свидетельствуют о неспособности 16,16-диметил-PGE<sub>2</sub> предотвратить отторжение трансплантата и последующую гибель животных, несмотря на некоторую тенденцию к отсрочке указанных явлений, что, впрочем, имеет место и в случае применения одного циклоспорина в заведомо низких дозах. Однако комбинированное применение указанного аналога PGE<sub>2</sub> и циклоспорина позволяет, по крайней мере, достоверно замедлить процесс отторжения и увеличить продолжительность жизни животных

в послеоперационном периоде, не прибегая к максимальным дозам циклоспорина [21].

Клинически значимые результаты были получены в случае применения мизопростола (аналога PGE<sub>1</sub>) для лечения больных, подвергнутых операции по пересадке почки и получавших стандартную терапию иммуносупрессорами циклоспорином и преднизолоном. Оказалось, что длительный (в течение первых 12 недель после трансплантации) прием мизопростола позволяет существенно снизить частоту острого отторжения трансплантата и развития инфекционных осложнений [22]. В то же время 21-дневная инфузия PGE<sub>1</sub> не приводит к улучшению приживаемости трансплантата и выживаемости пациентов по сравнению с соответствующими показателями в группе плацебо. К тому же у получавших PGE<sub>1</sub> больных чаще развивались признаки флебита [23].

С выявлением роли PG в регуляции функций иммунитета, аллергии и воспаления внимание привлекают



модифицированные простаноиды. Этому способствовало развитие методов полного химического синтеза PG и получение путем направленного синтеза целевых биологически активных аналогов на основе изучения взаимосвязи структура – активность [24 – 29].

Типы и структуры модифицированных иммуноактивных простаноидов представлены на рис. 1.

Данные фармакологического изучения простаноидов ряда 11-дезоксипроостагландин,  $PGF_{\alpha}$ , модифицированных по  $\alpha$ - и  $\omega$ -цепям, содержащих фармакофоры в различных положениях простанового скелета, приведены в табл. 1.

Простаноиды стимулируют либо угнетают только активированные под влиянием антигена клетки иммунного ответа. Их эффект зависит от иммунореактивности организма, степени активации иммунокомпетентных клеток, дозы антигена и тестируемого простаноида [30].

Иммуноактивные простаноиды дозозависимо стимулируют В-клеточный (гуморальный) иммунный ответ у практически здоровых высокореагирующих на антигены эритроцитов барана (ЭБ) мышей линии СВА, обуславливая двукратный прирост числа антителообразующих клеток (АОК) на  $10^6$  спленоцитов и параллельное увеличение титров циркулирующих в периферической крови IgM-антител. Эти соединения стимулируют В-клеточный иммунитет и у мышей линии С57В1/6 с низкой иммунореактивностью к антигенам ЭБ. Возрастание клеточного параметра гуморального иммунного ответа в 2 – 2,5 раза по сравнению с иммунизированными контрольными животными свидетельствует о способности соединений преодолевать генетически обусловленную низкую иммунореактивность, присущую мышам линии С57В1/6, и позволяет отнести тестируемые простаноиды к сильнодействующим иммуностимуляторам [31].

Имуностимулирующий эффект простаноидов, как и известных в медицинской практике иммуномодуляторов, в значительной степени зависит от величины антигенного стимула. В условиях гипериммунизации мышей вектор их действия на иммунную систему остается неизменно стимулирующим, что свидетельствует об истинной стимуляции В-клеточного (гуморального) иммунитета в диапазоне реальных фармакологических доз [32, 33].

Соединения III, IV, XV и XIX стимулируют также Т-клеточный иммунный ответ, увеличивая в 1,5 – 2 раза индексы реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) у мышей-гибридов  $F_1$ (СВА × С57В1/6). При этом насыщающие дозы ( $ED_s$ ), обуславливающие максимальный эффект на обеих моделях иммунного ответа, равновелики. Таким образом, иммунофармакологические исследования показали, что эти простаноиды проявляют комбинированное действие на иммунную систему, стимулируя как В-клеточный, так и Т-клеточный иммунный ответ [34].

$ED_s$ , принятая за величину сравнения эффективности соединений (табл. 1), не всегда дает четкое представление о количественных различиях взаимодействия его с точками приложения, хотя различия в максимальном ответе на введение  $ED_s$  в ряде случаев служат

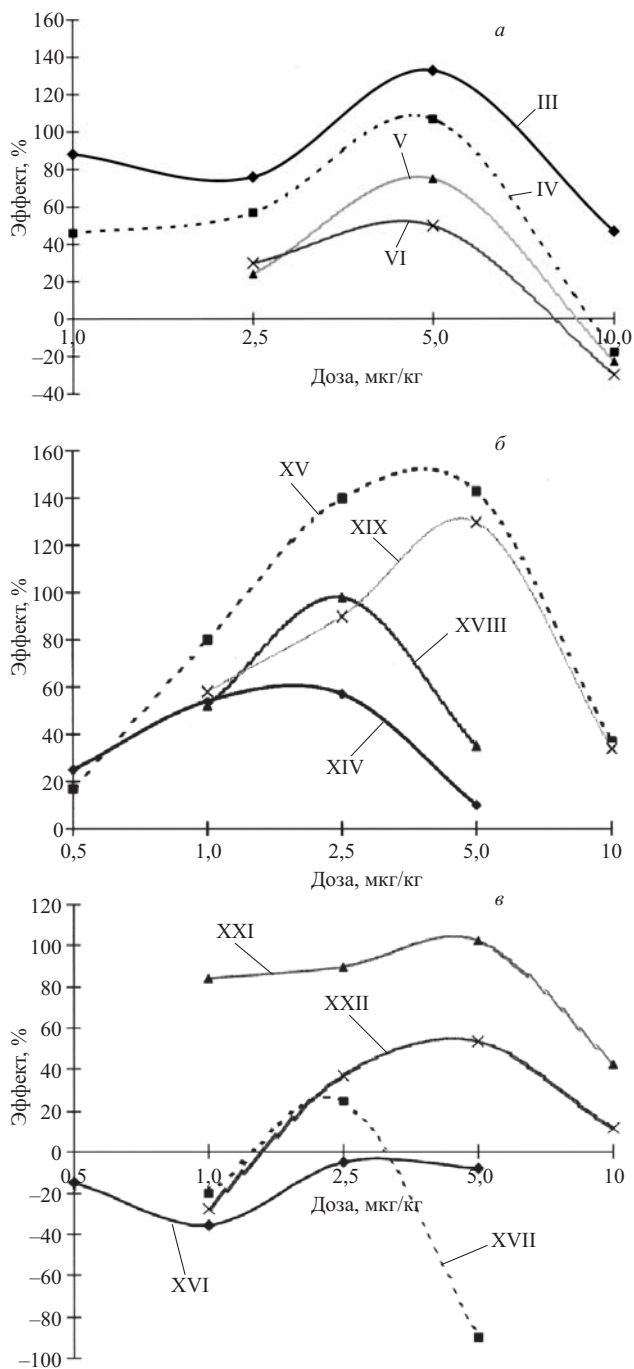
основой для сравнения эффектов простаноидов [27]. Диапазон эффективных доз большинства простаноидов лежит в пределах 2,5 – 5,0 мкг/кг. Величины индексов относительной активности (эффект иммунизации контрольных мышей принят за 1) для большинства простаноидов существенно не различаются между собой. Графическое же изображение зависимости эффекта от дозы испытанных соединений является наглядным свидетельством количественных различий иммуностропного эффекта не только в зависимости от дозы, но и от структуры модифицированных простаноидов (рис. 2, а, б, в).

Простаноиды I и II, лишенные оксо- и гидроксигрупп в циклопентановом кольце, но содержащие полностью или почти полностью сформированную  $\alpha$ -цепь и фрагмент малонового эфира в  $\omega$ -цепи, не проявляют значимой иммуномодулирующей активности. Простаноид III в дозах 1 и 2,5 мкг/кг проявляет фактически одинаковый стимулирующий эффект, характеризующийся увеличением на 80 – 90 % В-клеточного иммунного ответа. С увеличением дозы III до 5 мкг/кг стимуляция иммунного ответа превышает двукратное усиление его по сравнению с контролем, причем возникает состояние насыщения. При дальнейшем увеличении дозы III до 10 мкг/кг эффект снижается почти в 3 раза по сравнению с максимальным, что свидетельствует о том, что доза простаноида III, превышающая насыщающую, вызывает необычную реакцию организма.

Количественная зависимость эффекта простаноида IV от дозы имеет такой же тип сигмоида, как и в случае III, однако максимум его эффекта при том же уровне доз несколько ниже, чем у простаноида III, содержащего полностью сформированную  $\alpha$ -цепь.

Выраженная иммуностимулирующая активность простаноидов III и IV, представляющих собой модифицированные по циклопентановому кольцу структуры, но отличающихся от простаноидов I и II только по типу замещения  $C_9$ -кетогруппы, является доказательством того, что  $C_9$ -кетальная группа в цикле имеет весомое значение для формирования стимулирующего эффекта. Основным фармакофором, который определяет иммуностимулирующий эффект этих простаноидов, является оксогруппа в положении 7. При отсутствии этой группы в структуре XIII последний заметно стимулирующего эффекта не проявляет. Даже 10-кратное увеличение дозы простаноида XIII не приводит к проявлению иммуностропной активности.

Кривая зависимости эффекта от дозы простаноидов V и VI (рис. 2, а) имеет типичную форму сигмоида. Этот тип дозозависимости также характеризуется эффектом насыщения, однако насыщающая доза ( $ED_s = 5$  мкг/кг) обуславливает увеличение В-клеточного иммунного ответа на 50 – 70 % относительно иммунизированного контроля. Графическое изображение зависимости между дозой и эффектом V и VI показывает существенно меньшую эффективность их по сравнению с таковой простаноидов III и IV соответственно. Можно заключить, что у простаноидов с полностью или почти полностью сформированной карбоксилальной  $\alpha$ -цепью и модифицированной  $\omega$ -цепью,



**Рис. 2.** Зависимость иммуномодулирующего эффекта от дозы простаноидов. а) соединения III – VI; б) соединения XIV, XV, XVIII, XIX; в) соединения XVI, XVII, XXI, XXII.

адекватной рецепторам EP, наличие  $\Delta^{8,9}$  двойной связи определяет проявление фармакологически значимой иммуностимулирующей активности в отличие от простаноидов I и II, которые обнаруживают лишь тенденцию к торможению иммунного ответа. Бесспорно также, что кетальная защита  $9C=O$  группы в молекулах III и IV оказалась весьма эффективной модификацией замещающих групп в циклопентановом кольце, которая гарантирует синтезируемому лиганду взаимодействие с EP-рецептором и перевод его в активное состояние.

Бициклопентановый простаноид VII по величине иммуностимулирующего действия и типу зависимости между дозой и эффектом приближается к VI, тогда

как VIII, содержащий 6-оксокарбокисильный фрагмент, обнаруживает лишь тенденцию к угнетению иммунного ответа. Значимая величина иммуностимулирующего эффекта VII свидетельствует о том, что замена циклопентанового фрагмента в структуре простаноида на бициклопентановый при сформированной карбоксиалкильной  $\alpha$ -цепи и адекватной модификации  $\omega$ -цепи сохраняет способность лиганда взаимодействовать с PG-рецептором в качестве агониста [35].

Соединения IX и X, а также аналог XI, содержащий гетероатом S в положении 13, при определенных неконтролируемых условиях опыта могут проявлять выраженную иммуностимулирующую активность, которая, однако, не воспроизводится при изменившихся условиях их тестирования. При этом стимулирующий эффект этих предшественников простаноидов не возрастает с увеличением дозы, а возникает сразу при определенной дозе и проявляется полностью. Следующее шаговое увеличение тестируемой дозы уже не приводит к формированию значимого по величине эффекта.

Предшественники простаноидов IX и X, содержащие соответственно оксоэтильный или оксопентильный фрагмент в формируемой  $\alpha$ -цепи, могут взаимодействовать с EP-рецептором, но, вероятно, не обеспечивают в полной мере структурной комплементарности между фармакологическим агентом и рецептором. Наличие гетероатома в положении 13 способствует стабилизации стимулирующего действия соединения XI, однако его эффект в диапазоне реальных доз не достигает значимой величины.

Завершающий группу иммуноактивных соединений простаноид XII, содержащий в  $\omega$ -цепи 1-амино-3-оксоокт-1-енильный фрагмент вместо остатка малонового эфира, проявляет достаточно высокую дозозависимую иммуностимулирующую активность (табл. 1). Можно заключить, что такая функционализация  $\omega$ -цепи простаноида является альтернативным методом получения эффективных иммуномодулирующих простаноидов.

К иному типу модифицированных простаноидов относятся соединения XIV – XXII (рис. 1). Простаноиды XIV и XVIII являются аналогами 11-дезоксипро- $PGE_2$ , тогда как соединения XV – XVII и XIX – XXII относятся к простаноидам ряда 11-дезоксипро- $PGF$ . Обе группы простаноидов содержат функционализированный карбоцикл,  $\alpha$ -цепь, а в случае XVIII и XIX — двойную связь в  $\alpha$ -цепи, и  $\omega$ -цепь, содержащую гетероциклические, циклический или бициклический фрагменты [26, 28].

Дозозависимость стимулирующего эффекта простаноида XIV, имеющая форму сигмоида (рис. 2, б), свидетельствует о том, что нарастание максимального эффекта достигается при  $ED_{50} = 2,5$  мкг/кг и составляет 57 % относительно контроля. Трансформация этого 9-оксопростаноида в 9 $\alpha$ ,15-дигидрокси-13-оксопростаноид XV ряда F приводит к увеличению его стимулирующего эффекта в 2,5 раза по сравнению с активностью E-простаноида XIV. Таким образом, F-простаноид XV обладает более высокой активностью как агонист EP-рецепторов.

Аналогичная закономерность усиления активности при переходе от E-простаноида XVIII к F-простаноиду XIX видна на рис. 2, б. Обращает на себя внимание также то, что простаноид XIX, отличающийся от XV наличием в  $\alpha$ -цепи двойной связи, проявляет при  $ED_{50} = 5$  мкг/кг такой же максимальный эффект, который присущ и простаноиду XV. В то же время сравнение дозозависимости эффекта этих 2 соединений свидетельствует о более полном контакте с EP рецептора F-простаноида XV.

Результаты испытаний, представленные на рис. 2, в, показали, что простаноид XVI 11-дезоксипро-стагландин проявляет умеренное иммуносупрессивное действие, которое может быть обусловлено как иной конфигурацией 9-ОН группы, так и содержанием в  $\omega$ -цепи пиридил-4 фрагмента. F-простаноид XVII в зависимости от дозы проявляет двухфазное влияние на гуморальный иммунный ответ. Вероятно, стереоизомерия и 13-оксоили 13-гидроксигруппа изменяют вектор и величину эффекта простаноидов.

Результаты испытания простаноида XXI F-ряда, содержащего в  $\omega$ -цепи бициклический фрагмент, свидетельствуют о том, что иммуностимулирующая активность его сохраняется на более высоком уровне, чем у соединения XX с циклическим фрагментом в этой цепи, и представляет фармакологически значимую величину. Кроме того, такая модификация  $\omega$ -цепи может иметь значение для селективности иммуномодулирующего действия простаноида. С другой стороны, введение достаточно объемного фрагмента (13,15-изоксазоллил-16-ОС<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Cl-*m*) в  $\omega$ -цепь несомненно приводит к ослаблению фиксации соединения XXII на EP-рецепторе.

Синтетические подходы, обеспечивающие выход к широкому кругу целевых простаноидов, выяснение связи структура — активность синтезированных аналогов PG дали возможность получить новые высокоэффективные низкомолекулярные иммуномодуляторы.

Биодоступность иммуномодулирующих простаноидов при введении в вену и интрагастрально практически одинакова. Следовательно, тестируемые простаноиды, не разрушаясь, хорошо всасываются в желудочно-кишечном тракте, а потому могут применяться внутрь (орально). Продолжительность действия фармакологически значимых агентов у практически здоровых животных и на моделях индуцированных иммунодефицитов достаточна для реализации фармакотерапевтического эффекта.

Частично решена и проблема повышения избирательности действия новых иммуномодулирующих простаноидов. Влияние иммуномодулирующих простаноидов III и V на формирование клонов антигенспецифических Т-лимфоцитов в 2 раза сильнее, чем их влияние на способность этих же лимфоцитов продуцировать провоспалительные цитокины. Результаты испытания показали, что в спектре биологической активности простаноидов III и V сохраняется гастропротекторная активность, при этом они не влияют на сократительную активность гладкой мускулатуры матки, кишечника, агрегацию и адгезию тромбоцитов. Важно отметить, что повышение сопротивляемости слизи-

стой оболочки желудка и сохранение ее целостности при воздействии ulcerогенных факторов придает некоторым простаноидам дополнительное фармакотерапевтическое свойство [36, 37].

Простаноиды F-ряда XV и XIX проявляют отчетливый иммуностимулирующий эффект, однако избирательность их действия проблематична. Известно, что PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  и его синтетические аналоги оказывают утеротоническое, бронхоконстрикторное, провоспалительное влияние, усиливают действие ulcerогенных факторов на слизистую оболочку желудка [38].

Одним из подходов к повышению селективности действия простаноидов на систему иммунитета может быть получение модифицированных аналогов PGB<sub>1</sub> [39]. Данные опытов свидетельствуют, что 9-окса-7-азапростаноид (2,5 – 5,0 мкг/кг перорально) стимулирует В-клеточный иммунный ответ у практически здоровых иммунизированных мышей CBA и C57Bl/6 обоего пола. При этом достигается двукратное увеличение числа АОК на 10<sup>6</sup> спленоцитов с параллельным увеличением общего количества антителопродукторов в селезенке и титров антител в периферической крови. Простаноид проявляет комбинированное действие на иммунную систему, стимулируя также и Т-клетки иммунного ответа в реакции ГЗТ у мышей-гибридов F<sub>1</sub>(CBA × C<sub>57</sub>Bl/6), селективность его влияния на формирование клона антигенспецифи-

**Имуномодулирующая активность модифицированных простагландинов ряда 11-дезоксипро-стагландинов и F $\alpha$ , содержащих фармакофоры в разных положениях простанового скелета**

Соединение	ED <sub>50</sub> * мкг/кг в/ж	Число АОК на 10 <sup>6</sup> спленоцитов**	Относительная актив- ность***	P
I	5,0	327,0 ± 34,2	0,8	> 0,05
II	5,0	543,0 ± 55,6	0,8	> 0,05
III	5,0	1133,6 ± 28,3	2,3	< 0,002
IV	5,0	887,9 ± 62,3	2,1	< 0,05
V	5,0	1411,7 ± 123,1	1,8	< 0,01
VI	5,0	590,3 ± 44,3	1,5	< 0,05
VII	5,0	1140,0 ± 78,8	1,5	< 0,05
VIII	5,0	616,8 ± 190,6	0,8	> 0,05
IX	1,0	995,8 ± 83,8	1,4	< 0,05
X	5,0	1007,5 ± 24,5	1,6	< 0,05
XI	5,0	740,1 ± 101,8	1,4	< 0,05
XII	1,0	578,4 ± 55,2	1,6	< 0,05
XIII	5,0	552,3 ± 49,1	1,0	> 0,05
XIV	2,5	520,0 ± 25,2	1,6	< 0,05
XV	2,5	1216,9 ± 91,2	2,4	< 0,02
XVI	1,0	593,2 ± 27,6	0,6	< 0,05
XVII	5,0	42,0 ± 7,3	0,1	< 0,001
XVIII	2,5	438,5 ± 23,7	2,0	< 0,001
XIX	5,0	1349,4 ± 101,2	2,3	< 0,001
XX	5,0	1040,6 ± 82,2	1,3	< 0,001
XXI	5,0	719,4 ± 92,6	2,0	< 0,01
XXII	5,0	392,7 ± 34,2	1,5	< 0,05

\* ED<sub>50</sub> — доза насыщения.

\*\* в контроле варьировало от 327,2 ± 30,0 до 924,6 ± 45,3.

\*\*\* Эффект иммунизации принят за единицу.



ческих клеток иммунного ответа в 2 раза выше по сравнению с влиянием на их способность продуцировать цитокины.

Таким образом, простаноиды представляют собой новую группу эффективных и безопасных низкомолекулярных прототипов иммуномодуляторов, интенсивное изучение которых приближает многообещающую перспективу их терапевтического применения при различных заболеваниях.

## ЛИТЕРАТУРА

1. M. Katori, *Fol. Pharmacol. Jap.*, **94**, 159 – 163 (1989).
2. C. D. Funk, *Science*, **294**(5548), 1871 – 1875 (2001).
3. Sh. Narumiya, Y. Sugimoto, and F. Ushikubi, *Physiol. Rev.*, **79**(4), 1193 – 1226 (1999).
4. L. Z. Bito, *J. Physiol. (Lond.)*, **221**, 371 – 387 (1972).
5. I. Kennedy, R. A. Coleman, P. P. A. Humphrey, et al., *Prostaglandins*, **24**, 667 – 689 (1982).
6. R. W. Butcher and E. W. Sutherland, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **139**, 849 – 859 (1967).
7. Sh. Narumiya and G. A. FitzGerald, *J. Clin. Invest.*, **108**(1), 25 – 30 (2001).
8. R. A. Coleman, S. P. Glix, S. A. Head, et al., *Prostaglandins*, **47**, 151 – 168 (1994).
9. T. Ishikawa, Y. Tamai, J. M. Rochelle, et al., *Genomics*, **32**, 285 – 288 (1996).
10. M. Taketo, J. M. Rochelle, Y. Sugimoto, et al., *Genomics*, **19**, 585 – 588 (1994).
11. A. M. V. Duncan, L. L. Anderson, C. D. Funk, et al., *Genomics*, **25**, 740 – 742 (1995).
12. H. Toh, A. Ishikawa, and Sh. Narumiya, *FEBS Lett.*, **361**(1), 17 – 21 (1995).
13. S. L. Tilley, Th. M. Coffman, and B. H. Koller, *J. Clin. Invest.*, **108**(1), 15 – 23 (2001).
14. H. Naraba, *J. Immunol.*, **160**, 2974 – 2982 (1998).
15. R. P. Phipps, S. H. Stein, and R. L. Roper, *Immunol. Today*, **12**, 349 – 352 (1991).
16. D. M. Brown, G. L. Warner, J. E. Ales-Martinez, et al., *Clin. Immunol. Immunopathol.*, **63**, 221 – 229 (1992).
17. B. Rocca and G. A. FitzGerald, *Int. Immunopharmacol.*, **2**(5), 603 – 630 (2002).
18. V. Blaschke, K. Jungermann, and G. P. Puschel, *FEBS Lett.*, **394**(1), 39 – 43 (1996).
19. S. Bjercke and G. Gaudernack, *Scand. J. Immunol.*, **21**, 501 – 508 (1985).
20. C. Y. Wu, K. Wang, J. F. McDyer, and R. A. Seder, *J. Immunol.*, **161**, 2723 – 2730 (1998).
21. I. H. Koh, P. C. Kim, S. W. Chung, et al., *Transplantation*, **52**(4), 592 – 598 (1992).
22. M. Moran, M. F. Mozes, M. S. Maddux, et al., *N. Engl. J. Med.*, **322**(17), 1183 – 1188 (1990).
23. K. S. Henley, M. R. Lucey, D. P. Normolle, et al., *Hepatology*, **21**(2), 366 – 372 (1995).
24. Ф. А. Лахвич, Е. В. Королева, А. А. Ахрем, *Химия гетероцикл. соедин.*, № 4, 435 – 453 (1989).
25. Ф. А. Лахвич, Ф. С. Пашковский, Е. В. Королева, *Усп. химии*, **61**(3), 457 – 495 (1992).
26. Е. В. Королева, *Автореф. дис. докт. хим. наук*, Минск (1998).
27. Б. Б. Кузьмицкий, Н. А. Конопля, Г. С. Любин и др., *Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук*, № 4, 65 – 69 (2000).
28. Б. Б. Кузьмицкий, Н. А. Конопля, Г. С. Любин и др., *Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук*, № 1, 55 – 59 (2001).
29. В. Kuzmitsky, N. Konoplya, and G. Lyubin, *Abstrs. Of the Second Multidisciplinary Conference on Drug Research*, Jelenia Gora — Cieplice (2000), Abstr. K-17.
30. В. В. Kuzmitsky, N. A. Konoplya, M. B. Golubeva, et al., *News Biomed. Sciences (Minsk)*, № 1, 70 – 73 (2001).
31. В. В. Kuzmitsky, N. A. Konoplya, G. Lyubin, and F. Lakhvich, *Acta Polon. Pharmac.*, **57**(Suppl.), 21 – 22 (2000).
32. Н. А. Конопля, Г. С. Любин, Ф. А. Лахвич, *Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук*, № 2, 65 – 66 (2004).
33. В. В. Kuzmitsky, M. B. Golubeva, N. A. Konoplya, et al., *News Biomed. Sciences (Minsk)*, № 1, 79 – 82 (2002).
34. В. В. Kuzmitsky, M. B. Golubeva, N. A. Konoplya, et al., *News Biomed. Sciences (Minsk)*, № 1, 70 – 74 (2003).
35. N. F. Bondar, M. B. Golubeva, L. P. Isaenya, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, **39**, 389 – 396 (2004).
36. Б. Б. Кузьмицкий, А. Е. Машкович, Н. А. Мизуло и др., *Весці НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук*, № 2, 51 – 54 (2002).
37. Е. М. Тумар, Б. Б. Кузьмицкий, А. Е. Машкович и др., *Весці НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук*, № 3, 97 – 101 (2002).
38. S. Nicosia and C. Patrona, *FASEB J.*, **3**, 1941 – 1944 (1989).
39. Ф. С. Пашковский, М. Г. Грибовский, Е. М. Щукина, Ф. А. Лахвич, *Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук*, № 2, 85 (2004).

Поступила 28.02.05

## MODIFIED PROSTAGLANDINS: NEW POSSIBILITIES FOR THE PHARMACOLOGICAL CONTROL OF IMMUNODEFICIENT STATES

G. S. Lyubin, B. B. Kuz'mitskii, M. B. Golubeva, N. A. Konoplya, E. V. Koroleva, T. V. Chernikhova, F. S. Pashkovskii, I. P. Antonevich, and F. A. Lakhvich

Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

The role of exogenous prostaglandins (PGs) as the immune response and allergic inflammation regulators and the existing notions of the interaction between synthetic PGs or their modified analogs with prostanoid receptors are considered. Based on the principles of structural complementarity, the immunotropic effects of new synthetic 11-deoxyprostanoids of the E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, and F<sub>2α</sub> series, modified at the *α*- and *ω*-chains and containing pharmacophores at various positions of the prostanoid skeleton, were studied as dependent on the dose and the chemical structure. It established that prostanoids of the E series, which are deprived of oxo and hydroxy groups at the cyclopentane ring, but contain a complete or nearly complete *α*-chain and a malonic ether fragment at the *ω* chain, exhibit no immunotropic activity. On the other hand, the PG analogs containing 9-keto groups enhance both the cellular and humoral immunogenesis in mice immunized (sensitized) with sheep red blood cells. The presence of an oxo group at position 7 is also substantial for the immunopositive response and the pharmacological activity. The enhancement of the ligand – receptor interaction is retained upon replacing the cyclopentane fragment by the bicycloheptane moiety. The *ω*-chain modification by incorporating a sulfur heteroatom at position 13 caused no substantial changes in the immunomodulating activity, whereas the *ω*-chain modification resulting in the formation of 1-amino-3-oxo-oct-1-enyl fragment can be considered as an important condition for obtaining immunopositive prostanoids. As a rule, the ability to enhance the humoral immunity was increased on going from the E to F series of prostanoids. The pharmacodynamic parameters of the immune response evidenced a high affinity of F-series prostanoids to EP-receptors. It can be suggested that F-prostanoids may act as agonists of these receptors. From this standpoint, a decrease in the immunoactivity of compounds having too bulky fragments in the *ω*-chain is quite reasonable. Thus, some of the ligands affine to prostanoid receptors are worth of attention as the prototypes of safe and efficient low-molecular immunoregulators of the new generation.