

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ДОКЛИНИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ СУБСТАНЦИИ 9-[2-(4-ИЗОПРОПИЛФЕНОКСИ)ЭТИЛ]АДЕНИНА, ОБЛАДАЮЩЕГО ПСИХОТРОПНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

¹Петров В.И., ²Озеров А.А., ²Новиков М.С., ¹Тюренков И.Н., ¹Бугаева Л.И.,
¹Багметова В.В.

¹Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия, e-mail: post@volgmed.ru;

²Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, Россия, e-mail: fibfuv@mail.ru

Выполнен комплекс доклинических исследований субстанции 9-[2-(4-изопропилфенокси)этил]аденина, включающий определение параметров острой, подострой, хронической, специфической токсичности и спектра психофармакологического действия. Синтез субстанции соединения осуществлен с выходом 55% путем N-алкилирования нуклеинового основания аденина 1-бром-2-(4-изопропилфенокси)этаном в среде безводного диметилформамида при температуре 105-110 °С в присутствии избытка карбоната калия. Средние величины острой токсичности соединения ЛД₅₀ составляют 1 г/кг у мышей и 4 г/кг у крыс при внутрижелудочном введении. При введении крысам самкам и самцам в течение 3 месяцев в дозах до 150 мг/кг в сутки соединение является безопасным. Вещество не обладает мутагенными, аллергенными, иммунотоксическими и эмбриотоксическими свойствами. В спектре психотропной активности соединения преобладают антидепрессантное, противострессорное и нейропротекторное действие. Механизм действия вещества связан со стимуляцией дофамин- и серотонинергической нейротрансмиссии посредством антагонистического взаимодействия с глутаматными NMDA-рецепторами.

Ключевые слова: аденин, психотропная активность, лекарственная безопасность.

THE MAIN RESULTS OF THE PRECLINICAL STUDY OF 9-[2-(4-ISOPROPYLPHENOXY)ETHYL]ADENINE SUBSTANCE, HAVING PSYCHOTROPIC ACTIVITY

¹Petrov V.I., ²Ozerov A.A., ²Novikov M.S., ¹Tyurenkov I.N., ¹Bugaeva L.I., ¹Bagmetova V.V.

¹Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia, e-mail: post@volgmed.ru;

²Volgograd Medical Scientific Centre, Volgograd, Russia, e-mail: fibfuv@mail.ru

The complex of preclinical studies of 9-[2-(4-isopropylphenoxy)ethyl]adenine substance has been performed, including the determination of the parameters of acute, subacute, chronic, specific toxicity and the spectrum of psychopharmacological action. Synthesis of the compound was performed by N-alkylation of adenine nuclear base with 1-bromo-2-(4-isopropylphenoxy) ethane in dry dimethylformamide solution at 105-110 C at the presence of excess of potassium carbonate. Average acute toxicity LD₅₀ of the compound is 1 g/kg in mice and 4 g/kg in rats after oral administration. The oral introduction of the substance to rats for 3 months at doses up to 150 mg/kg per day is safety. The substance has not mutagenic, allergenic, immunotoxic and embryotoxic properties. The spectrum of psychotropic activity of the compounds includes the antidepressant, anti-stress and neuroprotective effects. The mechanism of action of the substances is related to the stimulation of dopamine and serotonergic neurotransmission through antagonistic interactions with glutamate NMDA receptors.

Keywords: adenine, psychotropic activity, drug safety.

Открытие нового класса фармакологически активных веществ ряда арилоксиалкиладенина [5] стало результатом многолетних исследований по изысканию эффективных нуклеозидных ингибиторов вирусной репродукции пуриновой природы [2; 4; 13]. Среди малотоксичных [1; 6] производных арилоксиалкиладенина следует выделить 9-(2-феноксиэтил)производные, демонстрирующие высокую активность в отношении цитомегаловируса человека [7; 10], и 9-(2-бензилоксиэтил)производные, обладающие более широким спектром антивирусных свойств и проявляющие высокую активность в отношении ВИЧ-1, цитомегало- и Коксаки-вируса [8; 9]. Дальнейшие исследования

общепармакологического действия соединений-лидеров выявили у ряда веществ выраженные психотропные свойства [3; 11], что послужило основой разработки нового отечественного антидепрессанта, обладающего противострессорным действием.

Цель исследования

Исследование лекарственной безопасности и спектра психофармакологической активности субстанции 9-[2-(4-изопропилфенокси)этил]аденина.

Материалы и методы исследования

Синтез 9-[2-(4-изопропилфенокси)этил]аденина был осуществлен путем алкилирования аденина-основания 1-бром-2-(4-изопропилфенокси)этаном в среде безводного диметилформамида в присутствии избытка карбоната калия при температуре 105-110 °С. Исследование лекарственной безопасности (острой, подострой, хронической токсичности, кумулирующего действия, мутагенности, аллергенности, иммунотоксичности, влияния на репродуктивную функцию и половое поведение животных) 9-[2-(4-изопропилфенокси)этил]аденина проводили в соответствии с руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ [12].

1-Бром-2-(4-изопропилфенокси)этан. Смесь 15,0 г (0,110 моль) 4-изопропилфенола, 20,0 мл (0,232 моль) 1,2-дибромэтана и раствора 6,2 г (0,110 моль) КОН в 10 мл воды кипятят в течение 8 ч до нейтральной реакции. Реакционную массу разбавляют 100 мл хлороформа, органический слой промывают 3%-ным раствором натрия гидроксида (50 мл) и водой (2 × 50 мл) до нейтральной реакции, сушат сульфатом натрия, фильтруют, растворитель и избыток 1,2-дибромэтана отгоняют в вакууме водоструйного насоса на кипящей водяной бане. Остаток перегоняют в вакууме, собирая фракцию, кипящую при 158-162 °С (3 мм рт. ст.). Получают 13,5 г бесцветной прозрачной жидкости, n_D^{20} 1,5118, выход 51%.

9-[2-(4-Изопропилфенокси)этил]аденин. Суспензию 5,0 г (0,037 моль) аденина и 6,3 г (0,045 моль) свежепрокаленного карбоната калия в 50 мл безводного ДМФА перемешивают при температуре 105-110 °С в течение 30 мин, добавляют раствор 9,0 г (0,037 моль) 1-бром-2-(4-изопропилфенокси)этана в 25 мл ДМФА и перемешивают при той же температуре в течение 2 ч. Горячую реакционную массу фильтруют, фильтрат упаривают в вакууме, остаток растирают с 50 мл холодной воды и выдерживают при температуре 0-5 °С в течение суток. Образовавшийся осадок отфильтровывают, сушат на воздухе и перекристаллизовывают из смеси 100 мл ДМФА и 10 мл воды. Получают 6,1 г светло-желтого кристаллического вещества, выход 55%. R_f 0,64 (Silufol UV-254, метиленхлорид - метанол, 10 : 1). Т. пл. 231-233 °С. Масс-спектр: M^+ 297 (6%), 282 (2%), 254 (2%), 178 (9%), 163 (81%), 149 (84%), 134 (100%), 119 (30%), 107 (50%), 105 (47%), 92 (99%), 91 (80%). Спектр ЯМР 1H (ДМСО- D_6), δ , м. д.: 1,24 д (7 Гц, 6 H, CH_3); 3,02 м (7 Гц, 1 H, CH); 3,98-4,16

м (4 Н, CH₂CH₂); 6,62 уш. с (2 Н, NH₂); 6,70-7,14 м (4 Н, C₆H₄); 8,04 с (1 Н, Н⁸); 8,12 с (1 Н, Н²).

Результаты исследования и их обсуждение

Изучение острой токсичности 9-[2-(4-изопропилфенокси)этил]аденина показало, что в токсикологическом плане этот ароматический аналог пуринового нуклеозида аденозина является безопасным. Величина ЛД₅₀ субстанции 9-[2-(4-изопропилфенокси)этил]аденина при внутрижелудочном введении половозрелым животным составляет: 992 мг/кг у мышей самок и 1035 мг/кг - у мышей самцов; 4812 мг/кг - у крыс самок и самцов. ЛД₅₀ субстанции 9-[2-(4-изопропилфенокси)этил]аденина при внутрибрюшинном введении половозрелым животным составляет: 943 мг/кг у мышей самок и 963 мг/кг - у мышей самцов; 3958 мг/кг - у крыс самок и самцов. С учетом классификации токсичности веществ по И.В. Саноцкому субстанция 9-[2-(4-изопропилфенокси)этил]аденина может быть отнесена к классу малотоксичных веществ.

Проведено исследование подострой токсичности субстанции 9-[2-(4-изопропилфенокси)этил]аденина. Субстанцию вводили внутрижелудочно в течение одного месяца в дозах 10 мг/кг (терапевтическая доза), 75 мг/кг (превышающая терапевтическую в 7,5 раз), 150 (превышающая терапевтическую в 15 раз) и 300 мг/кг (токсическая доза). Наблюдения за животными вели в течение 2 месяцев, то есть в период введения субстанции и одного месяца после её отмены. Установлено, что изучаемая субстанция при месячном введении крысам в дозах 10 и 75 мг/кг не приводит к изменениям в общем состоянии животных. При этом отмечено, что прирост массы тела животных был положительным и значимо с контролем не различался. По результатам электрокардиографических, гематологических и биохимических исследований патологических изменений не зафиксировано. Выявленные сдвиги в данных исследованиях не выходили за рамки физиологических норм и восстанавливались до уровня контрольных значений в течение месяца после отмены введения соединения. У животных, получавших субстанцию в дозе 300 мг/кг, снижение прироста массы тела было достоверно ниже. В дальнейшем было показано, что у крыс, получавших испытуемую субстанцию в дозе 300 мг/кг, обратимо активируется выброс в периферическую кровь эритроцитов, которые существенно снижаются после отмены введения данного вещества. Функциональными исследованиями показано обратимое, но достоверное увеличение продолжительности «гексеналового сна» у крыс, получавших испытуемую субстанцию в дозе 300 мг/кг, и снижение реабсорбирующей и экскреторной активности почек, что, вероятно, может свидетельствовать о действии субстанции на данные органы, как «мишень». Гибели животных в этой группе не

наблюдалось, патоморфологическими исследованиями показано мишенеобразное действие вещества в дозе 300 мг/кг на печень и почки.

Выполнено изучение хронической токсичности субстанции 9-[2-(4-изопропилфенокс)этил]аденина. Субстанцию вводили самкам и самцам крыс внутрижелудочно в течение 3 месяцев в дозах 10, 75 и 150 мг/кг. Установлено, что при 3-месячном введении крысам в дозах 10 и 75 мг/кг субстанция не приводит к изменениям в общем состоянии крыс. При этом отмечено, что прирост массы тела животных был положительным и значимо с контролем не различался. По результатам электрокардиографических, гематологических и биохимических исследований патологических изменений не зафиксировано. Выявленные сдвиги в данных исследованиях не выходили за рамки физиологических норм. В дозе 150 мг/кг субстанция не влияет на общее состояние животных, но способствует обратимому снижению прироста массы тела. Таким образом, на основании проведённых исследований можно заключить, что вещество при внутрижелудочном введении крысам в дозах 10, 75 и 150 мг/кг не оказывает патологического действия на основные гомеостатические константы, то есть является безопасным.

Показано отсутствие у субстанции 9-[2-(4-изопропилфенокс)этил]аденина гонадотоксического, эмбрио- и фетотоксического действия, регистрируемых в антенатальном и постнатальном периодах развития. Вещество не обладает аллергенными, мутагенными и иммунотоксическими свойствами.

При изучении специфической нейрорепрессивной активности установлено, что 9-[2-(4-изопропилфенокс)этил]аденин на различных моделях депрессии и стресса: хемоиндуцированная модель депрессии «резерпиновая депрессия», стрессиндуцированная модель депрессии «выученная беспомощность» (вызванная хроническим стрессом), тест «принудительное неизбежное плавание» по Порсолту, тест «потребления/предпочтения сахарозы», тест отчаяния (вынужденное плавание в сосуде со свободновращающимся колесом) - проявляет выраженную антидепрессивную и стресспротекторную активность. По выраженности антидепрессивного действия соединение превосходит мелипрамин, циталопрам и мапротилин, сопоставимо с флуоксетином, сертралином, уступает пароксетину и венлафаксину. Соединение положительно влияет на психоэмоциональный статус крыс на модели «зоосоциального взаимодействия», превосходит препараты сравнения имипрамин и циталопрам в сопоставимых дозах. В условиях естественного старения и алкогольно-токсического поражения головного мозга на различных моделях депрессивных состояний 9-[2-(4-изопропилфенокс)этил]аденин уменьшает выраженность депрессивных и эмоциональных нарушений, превосходит по антидепрессивной активности имипрамин и

циталопрам в сопоставимых дозах. Соединение существенно ослабляет выраженность депрессивных эффектов резерпина (гипотермия, каталепсия и блефароптоз) и выраженность гипотермии, каталепсии и блефароптоза, вызванных фенотиозиновым нейролептиком левомепромазином. На модели ишемического инсульта у крыс 9-[2-(4-изопропилфенокси)этил]аденин (10 мг/кг в сутки) оказывает нейропротекторное действие, превосходя препарат сравнения мексидол в аналогичной дозе в отношении уменьшения неврологического дефицита, а также не уступает ему в дозе 25 мг/кг в сутки по влиянию на данный показатель и летальность. Механизм действия соединения связан со стимуляцией дофамин- и серотонинергической нейротрансмиссии, предположительно опосредованной антагонистическим взаимодействием с глутаматными NMDA-рецепторами.

Заключение

В результате проведенных исследований доказаны высокая эффективность и безопасность субстанции 9-[2-(4-изопропилфенокси)этил]аденина. Разрабатываемое на его основе лекарственное средство может обеспечить эффективное лечение пациентов с депрессивными расстройствами, являющимися частой причиной заболеваемости и преждевременной смертности трудоспособного населения.

Исследования выполнены в рамках государственного контракта от 13 сентября 2011 г. № 11411.1008700.13.077 с Минпромторгом России.

Список литературы

1. Ковалев Д.Г. Изучение уровня безвредности нового производного аденина, проявляющего антидепрессивную активность при однократном введении в максимальных дозах / Д.Г. Ковалев, Л.И. Бугаева, А.А. Озеров // Вестник Волгоградск. гос. мед. ун-та. - 2010. - № 4. - С. 15-18.
2. Озеров А.А. Синтез нового потенциального противовирусного агента - 9-аллилосиметилгуанина / А.А. Озеров, А.К. Брель // Хим. гетероциклич. соед. - 1993. - № 8. - С. 1109-1113.
3. Озеров А.А. Психотропный эффект производных 9-(2-арилоксиэтил)аденина, обладающих противовирусной активностью // Усп. совр. естествознания. - 2004. - № 8. - С. 59-60.
4. Озеров А.А. Синтез 3-О-ариловых эфиров (R,S)-9-(2,3-дигидроксипропил)аденина и его пиримидиновых аналогов - новых потенциальных ингибиторов S-аденозил-L-гомоцистеингидролазы / А.А. Озеров, М.С. Новиков, А.К. Брель // Хим. гетероциклич. соед. - 1999. - № 1. - С. 82-86.

5. Петров В.И. 9-(2-Арилоксиэтил)производные аденина - новый класс противовирусных агентов нуклеозидной природы // Хим. гетероциклич. соед. - 2003. - № 9. - С. 1389-1397.
6. Петров В.И. Изучение лекарственной безопасности новых противовирусных лекарственных веществ ряда аденина // Фундаментальные исследования. - 2004. - № 1. - С. 78.
7. Петров В.И. Противовирусная активность 9-(2-феноксиэтил)производных аденина в отношении цитомегаловируса человека // Фундаментальные исследования. - 2004. - № 1. - С. 77-78.
8. Петров В.И. 9-(2-Бензилоксиэтил)производные аденина - противовирусные агенты с широким спектром действия // Фундаментальные исследования. - 2004. - № 1. - С. 78-79.
9. Петров В.И. Новый класс нуклеозидных ингибиторов вирусной репродукции - производные 9-[2-фенокси(бензилокси)этил]аденина // Бюлл. Волгоградск. научн. центра РАМН. - 2006. - Вып. 1. - С. 15-16.
10. Петров В.И. Синтез и противовирусная активность новых производных 9-(2-феноксиэтил)аденина в отношении цитомегаловируса человека *in vitro* // Вестник Волгоградск. гос. мед. ун-та. - 2004. - № 11. - С. 21-24.
11. Петров В.И. Соотношение психотропных и антивирусных свойств в ряду производных 9-(2-феноксиэтил)аденина // Усп. совр. естествознания. - 2004. - № 9. - С. 59-60.
12. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева. - М. : Медицина, 2005. - 832 с.
13. De Clercq E. (S)-9-(2,3-Dihydroxypropyl)adenine: an aliphatic nucleoside analog with broad-spectrum antiviral activity // Science. - 1978. - Vol. 200. - P. 563.

Рецензенты:

Симонян А.В., д.фарм.н., профессор кафедры фармацевтической технологии и биотехнологии ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Волгоград;

Сысуев Б.Б., д.фарм.н., доцент, заведующий научно-производственной лабораторией ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр» Администрации Волгоградской области, г. Волгоград.