

УДК 547.8:577.4

НОВЫЕ ГИБРИДНЫЕ СТРУКТУРЫ НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛ МЕМАНТИНА И ЭДАРАВОНА

© 2023 г. В. В. Григорьев^{1,*}, Е. Ф. Шевцова¹, А. Ю. Аксиненко¹, И. М. Веселов¹,
Т. В. Горева¹, А. В. Габрельян¹, академик РАН С. О. Бачурин¹

Поступило 25.06.2023 г.

После доработки 30.06.2023 г.

Принято к публикации 03.07.2023 г.

Синтезированы новые соединения на основе молекул лекарственных препаратов мемантина и эдаравона. Выявлено, что помимо способности блокировать внутриканальный сайт NMDA-рецепторов новые гибридные соединения проявляют свойство блокаторов аллостерического сайта NMDA-рецепторов, не присущее мемантину и эдаравону. Определено наиболее активное соединение-лидер, которое наряду со свойствами блокатора двух сайтов NMDA-рецептора проявляет выраженную активность в качестве ингибитора перекисного окисления липидов подобно препарату эдаравон.

Ключевые слова: боковой амиотрофический склероз, болезнь Альцгеймера, мемантин, эдаравон, 1-аминоадамантаны, NMDA-рецепторы, окислительный стресс, перекисное окисление липидов

DOI: 10.31857/S2686738923600413, **EDN:** PYWTWG

Известно, что большинство нейродегенеративных заболеваний (НЗ) имеют сложную мультифакторную природу [1]. Так, важным фактором развития бокового амиотрофического склероза (БАС) и болезни Альцгеймера (БА), наряду с процессами патологической агрегации определенных белков, является нарушение функций нейромедиаторных систем, в частности, развитие эксайтотоксических процессов, в ходе которых происходит гиперактивация ионотропных глутаматных рецепторов [2, 3]. При этом NMDA-подтип глутаматных рецепторов рассматривается как перспективная мишень для создания нейропротекторных препаратов [4, 5]. Препарат мемантин — низкоаффинный блокатор NMDA-рецепторов — является одним из наиболее активно применяемых препаратов для лечения БА [6], а также рассматривается в качестве возможного средства лечения БАС [7]. Установлено, что оба этих заболевания (БАС и БА) связаны также с развитием окислительного стресса, приводящего, в частности, к перекисному окислению липидов (ПОЛ) мембран клеток нервной системы [8]. Для лечения БАС в настоящее время применяются два

препарата — рилузол и эдаравон. Нейропротекторный эффект первого связывают, в частности, с подавлением высвобождения глутамата и, соответственно, со снижением эксайтотоксичности, а второго — с антиоксидантным эффектом [9]. Вместе с тем терапевтический эффект этих лекарственных препаратов крайне ограничен — они увеличивают продолжительность жизни пациентов с БАС всего на несколько месяцев и не способны существенно замедлить прогрессирование болезни. Поэтому создание новых более эффективных препаратов для терапии подобных НЗ является крайне актуальной задачей. Мультифакторная природа развития хронических НЗ дает основание рассматривать создание мультитаргетных препаратов, способных одновременно действовать на несколько звеньев их патогенеза, как перспективную стратегию получения новых более эффективных лекарств для лечения и предупреждения таких патологий [10]. Ранее нами были разработаны методы получения оригинальных конъюгированных структур, которые сочетают в одной молекуле базовые элементы ряда фармакологически активных молекул [11, 12].

Целью данной работы было получение оригинальных гибридных структур на основе молекул мемантина и эдаравона, и изучение действия полученных соединений на различные сайты связывания NMDA-рецептора, и процессы ПОЛ.

В результате установлено, что некоторые из исследованных новых соединений оказались эф-

¹Институт физиологически активных веществ
ФГБУ науки Федерального исследовательского центра
проблем химической физики и медицинской химии РАН,
Черноголовка, Россия

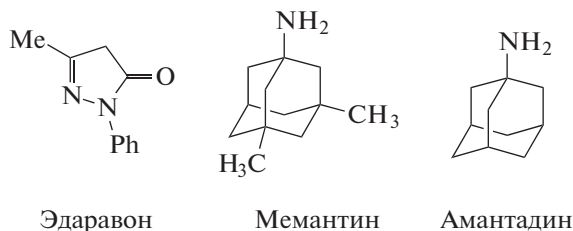
*e-mail: grigor@ipac.ac.ru

Таблица 1. Действие новых гибридов мемантина и эдаравона и их аналогов на два сайта связывания NMDA-рецептора

Вещество	IC ₅₀ ,* мкМ	
	[³ H]МК-801	[³ H]ИФ
Va	108.2 ± 8.7	20.9 ± 3.0
Vb	10.6 ± 1.2	13.3 ± 1.8
Vc	79.8 ± 7.4	22.6 ± 2.1
Vd	96.5 ± 8.9	44.8 ± 4.3
Ve	37.4 ± 3.9	9.8 ± 1.1
Vf	29.7 ± 3.0	15.2 ± 2.0
Vg	71.5 ± 7.0	8.9 ± 1.1
Эдаравон	375.5 ± 22.4	144.7 ± 13.5
Мемантин	1.36 ± 0.086	>100
Амантадин	22.6 ± 2.1	15.6 ± 1.3

* — Величина IC₅₀ характеризует концентрацию вещества, снижающую на 50% связывание специфического лиганда (МК-801 или ифенпродила) с соответствующими сайтами NMDA-рецептора.

фективными блокаторами NMDA-рецепторов. Помимо способности блокировать внутриканальный сайт NMDA-рецепторов новые гибридные соединения проявляют свойство блокаторов аллостерического сайта NMDA-рецепторов, не присущее препаратам мемантину и эдаравону. Наиболее активный блокатор NMDA-рецепторов соединение **Vb** сохранило антиоксидантные свойства подобно эдаравону.



Соединения **Va-g** получали взаимодействием эдаравона и его аналогов **Ia-d** с эпиидогидрином в присутствии K₂CO₃ и каталитических количеств бензилтриэтиламмонийхлорида в ДМФА при комнатной температуре в течение 1 дня. После обработки водой, экстракции и последующей хроматографии на силикагеле были выделены эпоксиды **IIa-d** с выходом 48–65%. Взаимодействие эпоксидов **IIa-d** с 1-аминоадамантинами **II-Ia,b** проводили в запаянной ампуле в растворе гептана и присутствии каталитических количеств BiCl₃ при 120°C в течение 15 ч. После обработки водой, экстракции и последующей хроматографии на силикагеле соединения **IVa-g** были выделены с выходом 40–50% и для проведения биологических исследований переведены в соответ-

ствующие водорастворимые гидрохлориды **Va-g** (синтез соединений подробно описан в [13]).

Связывание соединений различными модуляторными участками NMDA-рецепторов исследовано радиолигандным методом. Конкуренция веществ по связыванию с [³H]МК-801 (дизоцилпинном) была использована для определения способности веществ взаимодействовать с внутриканальным сайтом всего пула NMDA-рецепторов. Конкуренция с [³H]ифенпродилом использовалась для определения способности веществ взаимодействовать с аллостерическим сайтом NMDA-рецепторы, локализованного на NR2B субъединицах рецептора [10]. Вещества были протестированы в диапазоне концентраций 10⁻¹⁰–10⁻³ М в условиях *in vitro*. Радиоактивность определяли на сцинтилляционном счетчике Tri-Carb2800 TR (PerkinElmer, Packard, США) с эффективностью счета около 65%. IC₅₀ (мкМ) соединений были рассчитаны при помощи программы SigmaPlot 10.0.

Антиоксидантные свойства синтезированных соединений оценивали по их способности ингибировать ПОЛ в грубой мембранной фракции (1500 g) гомогената головного мозга крысы [14]. Пробы, содержащие разные концентрации новых гибридов эдаравона и производных аминокислот амантадина или пробы с ДМСО (контроль), инкубировали в течение 2 ч при 37°C. Степень ПОЛ оценивали по образованию триметиновых комплексов вторичных продуктов ПОЛ с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБКрв).

В табл. 1 приведены данные по активности соединений в отношении двух сайтов связывания NMDA-рецепторов. Надо отметить, что большинство соединений обладает умеренной (в микромолярном диапазоне концентраций) активностью в отношении внутриканального (МК-801-связывающего) сайта связывания NMDA-рецептора. Наибольшую способность связываться с этим подтипом рецептора проявило соединение **Vb**, являющееся конъюгатом базовых структур мемантина и эдаравона, объединенных 2-оксипропильным линкером. Любое замещение в структуре 1-фенил-3-метил-5-пиразолон (эдаравона), а также использование в качестве второго компонента амантадина вместо мемантина приводило к значительному снижению связывания синтезированных соединений с этим сайтом NMDA-рецептора.

Неожиданным явилось обнаружение у вновь синтезированных соединений способности связываться с аллостерическим сайтом NMDA-рецептора, специфичному к ифенпродилу, поскольку ни мемантин, ни эдаравон сами по себе такого вида активности не проявляют. Известно, что блокаторы ифенпродилового сайта NMDA-рецептора обладают нейропротекторным дей-

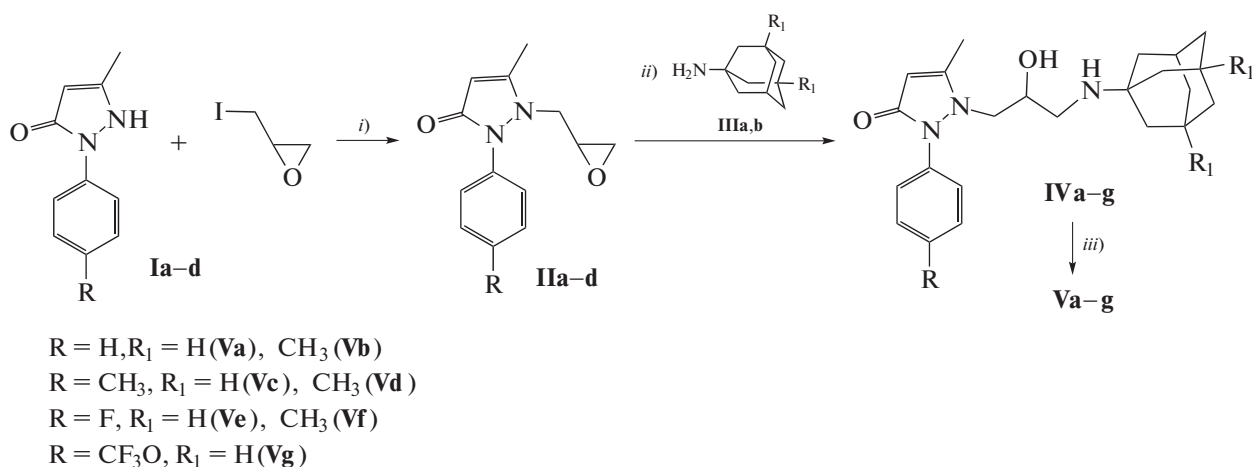


Рис. 1. Синтез гибридных соединений эдаравона и 1-аминоадамантанов. Реагенты и условия: *i*) K_2CO_3 , ТЕВА, ДМФА, 20°C , 1 д; *ii*) BiCl_3 , гептан, 20°C , 15 ч; *iii*) HCl , ацетон.

ствием и до настоящего времени рассматриваются в качестве потенциальных когнитивных стимуляторов и нейропротекторов [15].

В качестве соединения-хита нами было отобрано соединение **Vb**, проявившее выраженную способность связываться с обоими сайтами NMDA-рецептора, и проведена оценка его способности предотвращать спонтанное ПОЛ в гомогенате мозга крыс. В качестве сравнения мы взяли соединение **Va**, в котором структура мемантина заменена на амантадин, отличающийся отсутствием обоих метильных заместителей в адамантильном фрагменте. Как видно из рис. 2, соединение **Vb**, так же, как и эдаравон, является

эффективным антиоксидантом и концентрационно-зависимо подавляет развитие спонтанного ПОЛ в гомогенате мозга крыс, причем как эдаравон, так и соединение **Vb** в концентрации $30 \mu\text{M}$ практически полностью блокируют спонтанное ПОЛ. В то же время соединение **Va** в диапазоне исследованных концентраций не проявило заметной антиоксидантной активности.

Результаты изучения антиоксидантного потенциала исследуемых соединений при индукции процесса ПОЛ пероксидом водорода (10 mM) приведены на рис. 3 и согласуются с описанными

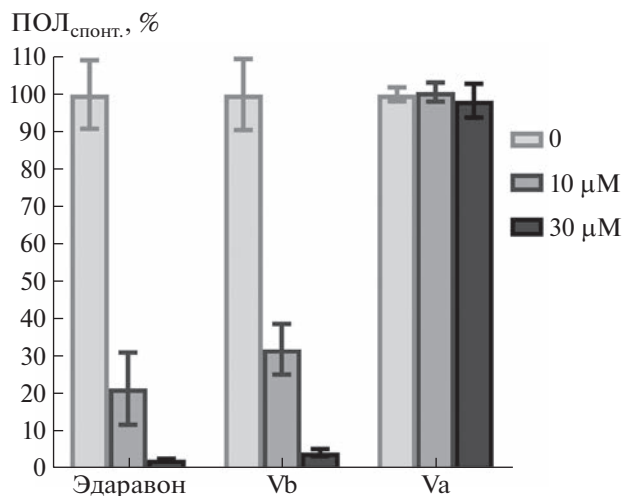


Рис. 2. Влияние эдаравона и соединений **Vb** и **Va** на развивающееся в течение 2 ч спонтанное ПОЛ в гомогенате мозга крыс, измеряемое по накоплению соединений, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКрв).

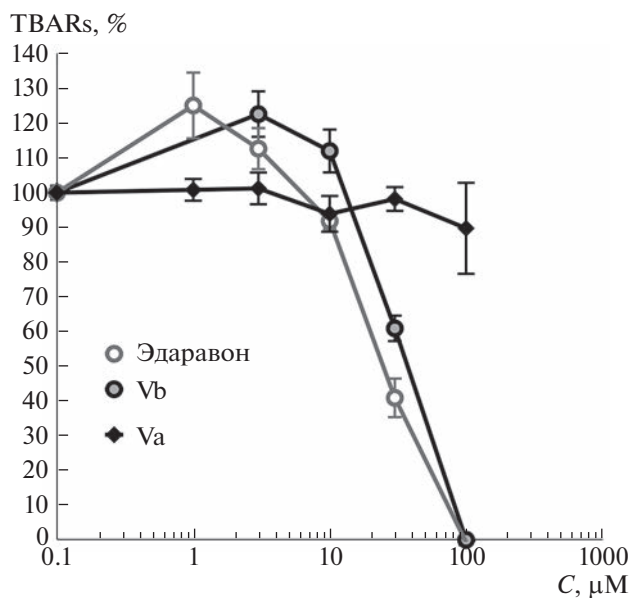


Рис. 3. Влияние эдаравона и соединений **Va** и **Vb** на индуцированное $10 \mu\text{M}$ H_2O_2 накопление продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКрв), в гомогенате мозга крыс.

выше результатами по их слиянию на спонтанное ПОЛ. Как эдаравон, так и соединение **Vb**, являются антиоксидантами с IC₅₀, равными 26 ± 4 мМ и 33 ± 5 мМ соответственно. Соединение **Va** практически не подавляет H₂O₂-индуцированное ПОЛ.

Таким образом, в результате проведенного исследования показано, что объединение в одной структуре двух фармакологически активных молекул может привести к созданию соединений, которые способны обладать как свойствами, характерными для исходных компонентов, так и некоторыми новыми свойствами, не присущими базовым структурам. В данном случае получено соединение—лидер **Vb**, которое обладает выраженной активностью в отношении внутриканального сайта NMDA-рецептора, подобно мемантину, способностью блокировать ПОЛ, аналогично эдаравону, но помимо этого проявляет новое, не присущее обоим “исходным” препаратам свойство блокировать аллостерический сайт NMDA-рецептора, что может оказывать дополнительный вклад в нейропротекторные и когнитивно-стимулирующие свойства препаратов на этой основе.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках проекта № 19-13-00378-П. Содержание экспериментальных животных, использованных для выделения биологических структур, обеспечено средствами государственного задания № FFSN-2021-0005.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. P.V. Peplow, B. Martinez, T.A. Gennarelli, Eds. *Neurodegenerative Diseases Biomarkers: Towards Translating Research to Clinical Practice*. Springer US, 2021, 565 p.
2. Blasco H., Mavel S., Corcia P., Gordon P.H. // *Curr Med Chem*. 2014. V. 21. № 31. P. 3551–3375.
3. Wang R., Reddy P.H. // *J Alzheimers Dis*. 2017. V. 57. № 4. P. 1041–1048.
4. Ahmed H., Haider A., Ametamey S.M. // *Expert Opin Ther Pat*. 2020. V. 30. № 10. P. 743–767.
5. Tikhonova I.G., Baskin I.I., Palyulin V.V., Zefirov N.S., Bachurin S.O. // *J. Med. Chem*. 2002. V. 45. № 18. P. 3836–3843.
6. Lipton S.A. // *Nat. Rev. Drug Discov*. 2006. V. 5. № 2. P. 160–170.
7. Jiang J., Wang Y., Deng M. // *Front Pharmacol*. 2022. V. 28. № 13. 1054006.
8. Angelova P.R., Esteras N., Abramov A.Y. // *Med Res Rev*. 2021. V. 41. № 2. P. 770–784.
9. Jaiswal M.K. // *Med Res Rev*. 2019. V. 39. № 2. P. 733–748.
10. Savellieff M.G., Nam G., Kang J., et al. // *Chem Rev*. 2019. V. 119. № 2. P. 1221–1322.
11. Bachurin S.O., Makhaeva G.F., Shevtsova E.F., et al. // *Molecules*. 2021. V. 26. 5527.
12. Bachurin S.O., Shevtsova E.F., Makhaeva G.F., et al. // *Int J Mol Sci*. 2022. V. 23. № 22. 13925.
13. Аксиненко А.Ю., Горева Т.В., Епишина Т.А., Бачурин С.О. // *Изв. АН. Сер. хим.*, 2022. № 8. С. 1794–1800.
14. Махаева Г.Ф., Шевцова Е.Ф., Болтнева Н.П., и др. // *Доклады РАН, Биохимия, биофизика*, 2019. Т. 484. № 1. С. 104–108.
<https://doi.org/10.7868/S0205-961448410104-108>
15. Ugale V., Dhote A., Narwade R., et al. // *CNS & Neurological Disorders – Drug Targets*. 2021. V. 20. Iss. 9.

NEW HYBRID STRUCTURES BASED ON MEMANTHINE AND EDARAVONE MOLECULES

V. V. Grigoriev^{a,*}, A. Yu. Aksinenko^a, E. F. Shevtsova^a, T. V. Goreva^a, I. M. Veselov^a,
A. V. Gabrelyan^a, and Academician of the RAS S. O. Bachurin^a

^a*Institute of Physiologically Active Substances, Federal State Budgetary Institution of Science, Federal Research Center for Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry, Russian Academy of Sciences, Chernogolovka, Moscow Region, Russian Federation*

*e-mail: grigor@ipac.ac.ru

New hybrid structures based on memantine and edaravone molecules, in which the pyrazolone ring and adamantane fragments are linked by an alkyl linker, have been synthesized. It was found that in addition to the ability to block the intrachannel site of NMDA receptors, new hybrid compounds exhibit the property of blockers of the allosteric site of NMDA receptors, which is not inherent in memantine and edaravone preparations. The most active hit compound was determined, which, along with the properties of a two-site blocker of the NMDA receptor, exhibits a pronounced activity as an inhibitor of lipid peroxidation, similar to the drug edaravone.

Keywords: amyotrophic lateral sclerosis, Alzheimer’s disease, memantine, edaravone, 1-aminoadamantanes, NMDA receptors, oxidative stress, lipid peroxidation