

Выживаемость в группе, получавшей клопидогрель, составила 90 %, данные достоверны как по отношению к контролю ($p \leq 0,01$), так и по отношению к группе мышей, получавшей тиклопидин ($p \leq 0,05$). Легкие животных, которым вводили клопидогрель, имели нормальную окраску с минимальными точечными потемнениями.

При пероральном введении соединения РУ-286 гибель животных уменьшалась в 11,2 раза по сравнению с контролем ($p \leq 0,01$) и в 2,3 раза по сравнению с группой, получавших тиклопидин. По сравнению с клопидогрелем смертность в группе крыс, получивших соединение РУ-286, была выше на 20 %, однако различия не были статистически достоверны. Животные были более активны, наблюдалось уменьшение выраженности двигательных нарушений. Можно также отметить, что внешние проявления генерализованного тромбоза развивались постепенно в отличие от контрольной группы. Макроскопическая оценка при морфологическом исследовании легких показала сокращение площади массивного тромбоза, легкие в целом имели нормальную светло-розовую окраску.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о наличии антитромботических свойств у антагонистов пуриновых Р2Y1-

рецепторов, что позволяет рассматривать их как потенциальный класс новых антитромботических средств.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зиганшин А. У., Зиганшина Л. Е., Бернсток Дж. // Бюлл. эксперимент. биол. и медицины. – 2002. – Т. 134, № 10. – С. 364–370.
2. Сакаев М. Р., Миндукшеев И. В., Лесиовская Е. Е. и др. // Эксперим. и клинич. фармакол. – 2000. – № 3. – С. 65–69.
3. Стуковина А. Ю., Черников М. В., Гречко О. Ю. // Тез. докл. VIII Регион. конф. молодых исследователей Волгоградской области. – Волгоград, 2003. – С. 40–41.
4. Di Minno G., et al. // J. Clin. Invest. – 1985. – Vol. 75. – P. 328–338.
5. Hallam T. J., Rink T. J. // J. Physiol. (Lond). – 1985. – Vol. 368. – P. 131–146.
6. Hourani S. M. O., Hall D. A. // Trends Pharmacol. Sci. – 1994. – Vol. 15. – P. 103–108.
7. MacKenzie A. B., Mahaut-Smith M. P. // Biochim. Biophys. Acta. – 1996. – Vol. 1278, № 1. – P. 131–136.
8. Ralevic V., Burnstock J. // Pharmacol. Rev. – 1998. – Vol. 50, №3. – P. 415–492.

Выражаем благодарность фирме "Sanofi-syntelabo", Франция, за любезно предоставленную субстанцию вещества клопидогрель.

© Коллектив авторов, 2006

УДК 615:547.854.4:616.98–097–022

СИНТЕЗ И АНТИ-ВИЧ-1 АКТИВНОСТЬ 1-[2-(2-БЕНЗИЛ-4-МЕТИЛФЕНОКСИ)ЭТИЛ]ПРОИЗВОДНЫХ УРАЦИЛА

М. С. Новиков, Ю. А. Орлова, А. А. Озеров, Т. Хартман, Р. У. Букхайт

*Лаборатория фармацевтической химии ВНЦ РАМН и ABO,
ImQuest BioScience Inc. (США)*

Ингибиторы обратной транскриптазы (ОТ) явились первым классом анти-ВИЧ препаратов, применяемым в клинике для лечения СПИДа. Они блокируют ранние стадии жизненного цикла вируса. В настоящее время известны две группы ингибиторов ОТ: нуклеозидные аналоги (зидовудин, ламивудин) и ненуклеозидные ингибиторы ОТ ВИЧ (невирапин, далавердин, эфавиренц). С теоретической точки зрения ингибиторы ОТ ВИЧ необходимо применять как для терапии, так и с профилактическими целями, поскольку они могут предотвращать интеграцию провирусной ДНК в клеточную ДНК.

С середины 1990-х годов в комбинированной терапии ВИЧ-инфекции и СПИДа стали применяться ингибиторы протеазы. Это дало заметное понижение заболеваемости и смертности от

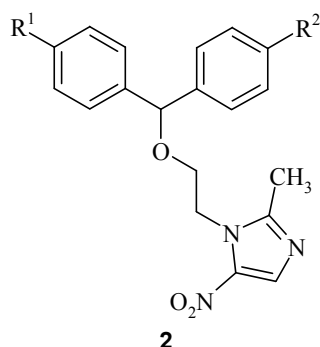
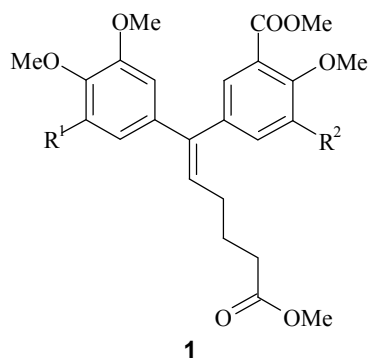
оппортунистических инфекций. Использование в терапии СПИДа комбинации ингибиторов ОТ и ингибиторов протеазы способно обеспечить длительную супрессию репликации вируса и предупредить лекарственную резистентность вируса, что приводит к долговременной клинической пользе [6, 7].

Однако применение в клинике ингибиторов ОТ и протеазы ограничено их специфическими недостатками: нуклеозидные ингибиторы ОТ имеют относительно невысокий терапевтический индекс и обычно вызывают у людей серьезные побочные эффекты; ненуклеозидные ингибиторы ОТ обладают меньшей токсичностью и более высокой специфичностью, однако к ним быстро развивается устойчивость вируса [10]; использование ингибиторов протеазы сопро-

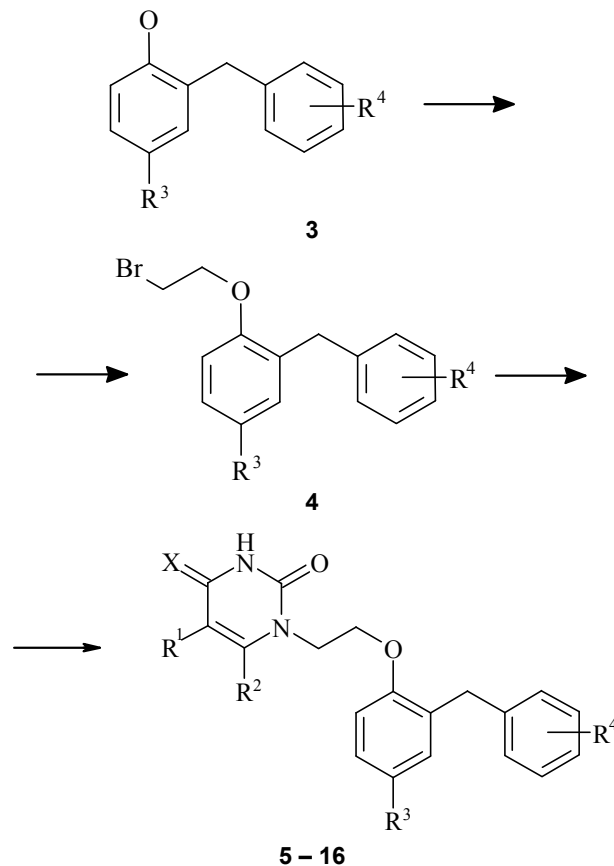
ждается липодистрофией и другими серьезными нарушениями метаболизма [3]. Кроме того, ингибиторы протеазы бессмысленно применять в профилактических целях, поскольку они блокируют вирусную репродукцию на поздних (постинтеграционных) стадиях жизненного цикла вируса.

Лекарственная резистентность является наиболее серьезной клинической проблемой в лечении инфекций как бактериальной или вирусной природы, так и онкологических заболеваний. Особенно остро стоит эта проблема в терапии ВИЧ-инфекции. Появление устойчивых к действию лекарств вариантов ВИЧ – основная причина неудач в радикальном лечении СПИДа. Поскольку резистентные штаммы вируса способны передаваться между индивидуумами в человеческой популяции, то в настоящий момент в США и Европе около 10 % вновь установленных ВИЧ-1 инфекций имеют устойчивость к одному или даже ко всем трем указанным классам анти-ВИЧ-1 препаратов [8, 9]. По этой причине поиск новых противовирусных агентов, имеющих генетический барьер и активных как в отношении дикого штамма ВИЧ-1, так и в отношении мутантных изолятов вируса, устойчивых к действию известных анти-ВИЧ-1 препаратов, представляется весьма важной и актуальной задачей.

Известно, что некоторые алкенилдиарилметаны (1) [5] и 2-(дифенилметокси)этилпроизводные 2-метил-5-нитроимидазола (2) [4] проявляют мощную анти-ВИЧ-1 активность *in vitro*.



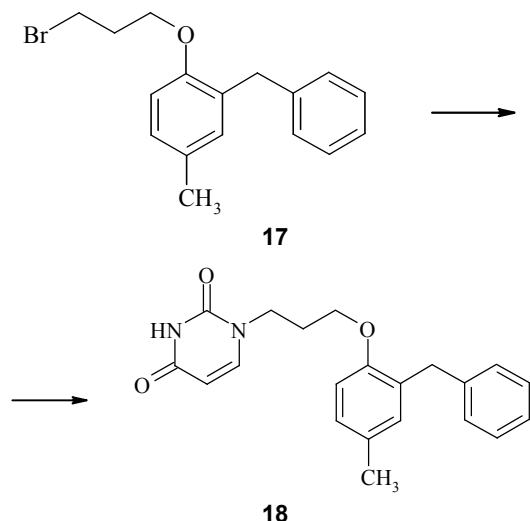
В плане поиска новых ингибиторов репродукции ВИЧ-1 нами был синтезирован ряд новых N¹-производных урацила, также содержащих в составе заместителя диарилметильный фрагмент. На первой стадии синтеза исходные 2-бензил-4-метилфенолы (3) в растворе кипящего изопропилового спирта обрабатывали 4-кратным молярным избытком 1,2-дибромэтана в присутствии 2,5-кратного молярного избытка карбоната калия и каталитического количества краун-эфира DB-18-CR-6. Вследствие значительного стерического эффекта со стороны бензильной группы, реакция протекала достаточно медленно и требовала кипячения в течение 30–40 ч. При этом выход 2-(2-бензил-4-метилфенокси)-1-бромэтанола (4) составил 59–66 %. Вторая стадия синтеза заключалась в конденсации триметилсилилпроизводного урацила с бромэфирами 4 (R³ = CH₃, *i*-Pr или Cl; R⁴ = H, CH₃ или *t*-Bu), которая проводилась в соответствии с разработанной нами ранее методикой [1]. Эквимолярные количества 2,4-бис(триметилсилилокси)пиримидина и бромэфира 4 нагревали при 180–190 °С в течение 3 ч, что приводило после гидролиза к целевым 1-[2-(2-бензил-4-метилфенокси)этил]урацилам (5–11), выход которых составил 66–83 %:



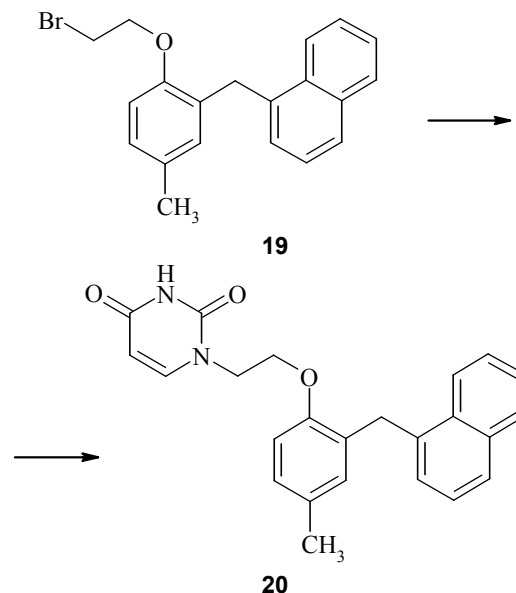
где R₁, R₂ = H или CH₃; R₃ = CH₃, *i*-Pr или Cl; R₄ = H, CH₃ или *t*-Bu; X = O или NH.

По этой схеме нами также были синтезированы [2-(2-бензил-4-метилфенокси)этил]производные, содержащие различные модификации в остатке урацила. Так, конденсация триметилсилпро производного тимина с эквимольным количеством 2-(2-бензил-4-метилфенокси)-1-бромэтана (4) при нагревании до 180–190 °С с выходом 69 % привела к 1-[2-(2-бензил-4-метилфенокси)этил]тимину (12). 6-Метилурацильный аналог был синтезирован путем алкилирования 2,5-кратного молярного избытка 6-метилурацила бромэфиром 4 в растворе ДМФА в присутствии карбоната калия. После разделения смеси N1-моно- и N1,N3-дизамещенных продуктов алкилирования целевой 1-[2-(2-бензил-4-метилфенокси)этил]-6-метилурацил (13) был получен с выходом 38 %. Обработка цитозина бромэфиром 4 в растворе ДМФА в присутствии карбоната калия с выходом 70 % привела к 1-[2-(2-бензил-4-метилфенокси)этил]цитозину (14).

Для изучения соотношения "структура-активность" нами был получен аналог, содержащий в составе мостика, связывающего остаток урацила с дифенилметановым фрагментом, три метиленовые группы. Его синтез был осуществлен путем конденсации эквимольных количеств 2,4-бис(триметилсилил-окси)пиримидина и 3-(2-бензил-4-метилфенокси)-1-бромпропана (17). Целевой 1-[3-(2-бензил-4-метилфенокси)пропил]урацил (18) был получен с выходом 76%:



Аналогичным образом, путем конденсации эквимольных количеств 2,4-бис(триметилсилилокси)пиримидина и 1-бром-2-[2-(1-нафтилметил)-4-метилфенокси]этана (19) был получен 1-[2-[2-(1-нафтилметил)-4-метилфенокси]этил]урацил (20), выход которого составил 49 %:



Физико-химические свойства полученных веществ представлены в таблице. Структура целевых соединений **5–16**, **18** и **20** подтверждена ЯМР ¹H спектроскопией. Химические сдвиги, мультиплетность и интегральная интенсивность сигналов протонов соответствуют расчетным значениям. Чистота и индивидуальность соединений доказаны методом тонкослойной хроматографии, состав – элементным анализом.

Противовирусные свойства в отношении ВИЧ-1 *in vitro* полученных 1-[2-(2-бензил-4-метилфенокси)этил]производных урацила были исследованы в ImQuest BioScience Inc. (Мериленд, США) в соответствии с ранее описанным методом [2]. Исследования показали, что 1-[2-[2-(3,5-диметилбензил)-4-метилфенокси]этил]урацил (9) проявляет заметную вирусингибиторную активность: соединение ингибирует на 50 % репродукцию вируса в концентрации 0,26 μM. Однако за счет относительно высокой цитотоксичности (ЦК₅₀ 13,6 μM) это соединение имеет относительно низкий индекс селективности – 52,3.

Таблица

Свойства синтезированных соединений

Соединение	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R _f (система)	Выход, %	T _{пл} , °С
5	H	H	4-Me	H	0,53 (A)	66	146–147
6	H	H	4-Me	2-Me	0,44 (A)	70	173–174
7	H	H	4-Me	3-Me	0,35 (A)	83	127–128
8	H	H	4-Me	2,5-Me ₂	0,68 (A)	79	175–177
9	H	H	4-Me	3,5-Me ₂	0,58 (A)	74	156–158
10	H	H	4-Me	2,4,6-Me ₃	0,50 (A)	67	208–209

Соединение	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R _f (система)	Выход, %	T _{пл} , °C
11	H	H	4-Me	2,3-Me ₂ -5-t-Bu	0,71 (A)	75	166–168
12	Me	H	4-Me	H	0,60 (A)	69	134–135
13	H	Me	4-Me	H	0,44 (A)	38	160–161
14	H	H	4-Me	H	0,45 (B)	70	222–223
15	H	H	4- <i>i</i> -Pr	H	0,55 (A)	54	106–107
16	H	H	4-Cl	H	0,48 (A)	62	169–170
18	H	H	4-Me	H	0,70 (A)	76	157–158
20	H	H	4-Me	–	0,56 (A)	49	192–194

Таким образом, нами синтезирован ряд новых производных урацила, содержащих в своем составе дифенилметановый фрагмент, который связан с остатком урацила двух- или трехуглеродным мостиком. Найдено, что некоторые представители этого ряда соединений проявляют заметную активность в отношении ВИЧ-1 *in vitro*. Результаты исследований могут служить основой для дальнейшего целенаправленного поиска новых анти-ВИЧ-1 лекарственных веществ.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР ¹H регистрировали на спектрометре "Bruker DRX-500" (500 МГц) в ДМСО-D₆, внутренний стандарт ТМС. Интерпретацию спектров осуществляли с помощью лицензионной программы ACD/HNMR "Predictor Pro 3.0" фирмы "Advanced Chemistry Development" (Канада). Масс-спектры регистрировали на спектрометре "Varian MAT-111" с прямым вводом образцов в ионный источник, энергия ионизирующих электронов 70 эВ. ТСХ выполняли на пластине "Silufol UV-254", проявление – в парах йода. В качестве элюента использовали системы: этилацетат (А); хлороформ-метанол, 10:1 (Б); гексан-этилацетат, 10:1 (В). Температуры плавления измерены в стеклянных капиллярах на приборе "Mel-Temp 3.0" (Laboratory Devices Inc., США).

2-(2-Бензил-4-метилфенокси)-1-бромэтан (4). Смесь 17,5 г (88,3 ммоль) 2-бензил-4-метилфенола, 30,0 г (217 ммоль) K₂CO₃, 30,0 мл (348 ммоль) 1,2-дибромэтана и 0,6 г DB-18-CR-6 в 150 мл безводного изопропилового спирта кипятят в течение 40 ч (контроль ТСХ по исчезновению пятна исходного фенола в системе В). Реакционную смесь фильтруют, фильтрат упаривают при пониженном давлении, остаток перегоняют в вакууме. Собирают фракцию, кипящую при 192–196 °C / 2 мм рт. ст., и получают 16,9 г (выход 66 %) вязкой прозрачной бесцветной жидкости, которая при комнатной температуре кристаллизуется. T_{пл} = 58–59 °C, R_f 0,71 (система В). ¹H ЯМР-спектр (CCl₄), δ, м.д., J (Гц): 2,14 с (3H, CH₃); 3,28 т (2H, J = 6 Гц, N-CH₂); 3,80 с (2H, PhCH₂); 3,96 т (2H, J = 6 Гц, O-CH₂); 6,46–6,48 м (1H, H-5'); 6,46–6,48 м (2H, H-3', H-6'); 6,97–

7,11 м (5H, C₆H₅).

Соединения **4**, **17** и **19** получают аналогично.

1-[2-(2-Бензил-4-метилфенокси)этил]урацил (5). К 2,4-бис(триметилсилилокси)пиримидину, полученному кипячением 1,5 г (13,4 ммоль) урацила в 50 мл гексаметилдисилазана в присутствии каталитического количества хлорида аммония, добавляют 4,1 г (13,4 ммоль) 2-(2-бензил-4-метилфенокси)-1-бромэтана (**4**) и нагревают при 180–190 °C в течение 3 ч с защитой от влаги воздуха. Образовавшуюся вязкую прозрачную светло-коричневую жидкость оставляют на ночь при комнатной температуре. Реакционную массу растворяют в 25 мл этилацетата и добавляют 10 мл изопропилового спирта. Выделившийся осадок отфильтровывают, промывают на фильтре этилацетатом (2 x 10 мл), сушат на воздухе при комнатной температуре и дважды кристаллизуют из смеси 30 мл изопропилового спирта и 10 мл ДМФА. Получают 3,0 г соединения **5** (выход 66 %) в виде белого кристаллического вещества, T_{пл} = 146–147 °C, R_f 0,53 (система А). ¹H ЯМР-спектр (ДМСО-D₆), δ, м.д., J (Гц): 2,18 с (3H, CH₃); 3,81 с (2H, PhCH₂); 4,07 т (2H, J = 6 Гц, N-CH₂); 4,14 т (2H, J = 6 Гц, O-CH₂); 5,48 д (1H, J = 8 Гц, H-5); 6,84–6,98 м (3H, ароматические H); 7,12–7,25 м (5H, ароматические H); 7,60 д (1H, J = 8 Гц, H-6); 11,31 уш. с (1H, NH). Масс-спектр m/z: 336 [M]⁺.

Соединения **6–12**, **15**, **16**, **18** и **20** получают аналогично.

1-[2-(2-Бензил-4-метилфенокси)этил]-6-метилурацил (13). Суспензию 3,0 г (23,8 ммоль) 6-метилурацила и 1,35 г (9,8 ммоль) K₂CO₃ в 50 мл безводного ДМФА перемешивают при 80 °C в течение 1 ч до образования К-соли 6-метилурацила, затем добавляют раствор 2,9 г (9,5 ммоль) 2-(2-бензил-4-метилфенокси)-1-бромэтана (**4**) в 10 мл ДМФА и полученную смесь перемешивают еще 4 ч при той же температуре. Реакционную массу выливают в 200 мл холодной воды и помещают на ночь в холодильник. Водный слой декантируют, твердый остаток сушат на воздухе при комнатной температуре, растворяют в смеси 60 мл четыреххлористого углерода и 20 мл изопропилового спирта, фильтруют, фильтрат разбавляют 20 мл гексана и помещают на ночь в холо-

дильник, вновь фильтруют и добавляют еще 20 мл гексана. Образовавшийся осадок отфильтровывают, промывают на фильтре 10 мл гексана, сушат на воздухе и перекристаллизовывают из смеси 30 мл изопропилового спирта и 20 мл гексана. Получают 1,25 г соединения **13** (выход 38 %) в виде светло-желтого мелкокристаллического вещества, $T_{пл} = 160-161\text{ }^\circ\text{C}$, $R_f 0,44$ (система **A**). ^1H ЯМР-спектр (ДМСО- D_6), δ , м.д., J (Гц): 2,16 с (3H, CH_3); 2,34 с (3H, CH_3); 3,85 с (2H, PhCH_2); 4,09 т (2H, $J = 6$ Гц, N-CH_2); 4,15 т (2H, $J = 6$ Гц, O-CH_2); 6,85-6,99 м (3H, ароматические H); 7,10-7,24 м (5H, ароматические H); 7,60 с (1H, H-6); 11,20 уш. с (1H, NH). Масс-спектр m/z : 350 $[\text{M}]^+$.

Соединение **14** получают аналогично.

Исследование анти-ВИЧ-1 активности *in vitro*. СЕМ-SS-клетки суспендировались в культуральной среде в количестве 10^5 клеток/мл и инфицировались ВИЧ-1 (штамм HTLV-III_B) при мультипликации инфекции 0,2. Немедленно после инфицирования вирусом вносились растворы, содержащие различные концентрации исследуемого вещества в ДМСО, и инкубировались в течение 4 дней при $37\text{ }^\circ\text{C}$. Число живых клеток устанавливалось на 4-й день инкубации при помощи бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия, при этом устанавливалась концентрация вещества, которая на 50 % защищала СЕМ-SS-клетки от цитопатического

эффекта ВИЧ-1 (ИК₅₀). Цитотоксичность тестируемых соединений определялась параллельно, при этом определялась концентрация вещества, которая на 50 % уменьшала количество СЕМ-SS-клеток (ЦК₅₀). Расчетным путем определяли индекс селективности, являющийся отношением цитотоксической концентрации к ингибиторной концентрации: ЦК₅₀/ИК₅₀ [10].

ЛИТЕРАТУРА

1. Новиков М. С., Озеров А. А. // ХГС. – 2005. – С. 1071–1076.
2. Buckheit R. W., White E. L., Fliakas-Boltz V., et al. // Antimicrob. Agents Chemother. – 1999. – Vol. 43. – P. 1827–1834.
3. Calza L., Manfredi R., Chiodo F. // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2003. – Vol. 22. – P. 89–99.
4. De Martino G., La Regina G., Di Pasquali A., et al. // J. Med. Chem. – 2005. – Vol. 48. – P. 4378–4388.
5. Deng B.-L., Hartman T.L., Buckheit R.W., et al. // Там же. – P. 6140–6155.
6. Montaner J. S., Reiss P., Cooper D., et al. // JAMA. – 1998. – Vol. 279. – P. 930–937.
7. Pialoux G., Raffi F., Brun-Vezinet F., et al. // N. Engl. J. Med. – 1998. – Vol. 339. – P. 1269–1276.
8. Salomon H., Wainberg M., Brenner B., et al. // AIDS. – 2000. – Vol. 14. – P. 17–23.
9. Tamalet C., Pasquier C., Yahi N., et al. // J. Med. Virol. – 2000. – Vol. 61. – P. 181–186.
10. Wainberg M. A. // J. Acquir. Immune. Defic. Syndr. – 2003. – Vol. 34. – Suppl. 1. – S. 2–7.

© Коллектив авторов, 2006

УДК 616.379–008.64–085.547.458.6

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ "АСТРОЛИНА", ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ИНУЛИНА В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ II ТИПА

П. А. Бакумов, Ю. В. Козыренко, Н. В. Деркач

Кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии, кафедра общей врачебной практики и профессиональных заболеваний ВолГМУ

Сахарный диабет II типа является одним из наиболее распространенных заболеваний во всем мире и представляет собой хроническое заболевание, имеющее кумулятивный характер и приводящее к ранней инвалидизации и летальности в связи с поздними сосудистыми осложнениями, в числе которых – микроангиопатии (ретинопатия и нефропатия), макроангиопатии (инфаркт миокарда, инсульт, гангрена нижних конечностей) [1, 2]. Для сахарного диабета II типа характерно раннее развитие и быстрое прогрессирование атеросклероза, являющегося патогенетическим субстратом ишемической болезни сердца. Атеросклероз различных сосудистых регионов развивается у больных сахарным диабетом в 2–5 раз чаще, чем у лиц без диабета, что обусловлено наличием дополнительных факторов риска: гипергликемией, инсулинорезистентностью и гиперинсулинемией, па-

тологией тромбоцитарного звена гемостаза, диабетической нефропатией [1]. Поэтому сахарный диабет II типа остается одной из актуальных проблем здравоохранения и требует поиска новых методов и препаратов, позволяющих повысить эффективность терапии, способствующих лучшей компенсации метаболических нарушений, улучшению качества жизни больных. Имеются данные о нормализующем влиянии на углеводный и липидный обмен инулина – полисахарида, содержащегося в растительных экстрактах клубней топинамбура [3].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработать оптимальный режим дозирования препарата, содержащего инулин (астролин) в комплексном лечении больных сахарным диабетом II типа с сопутствующей патологией сердечно-сосудистой системы, оценить влияние астролина на углеводный обмен, показатели