

## ІМУНОДЕПРЕСАНТИ НА ОСНОВІ АЗЕТИДИНІВ

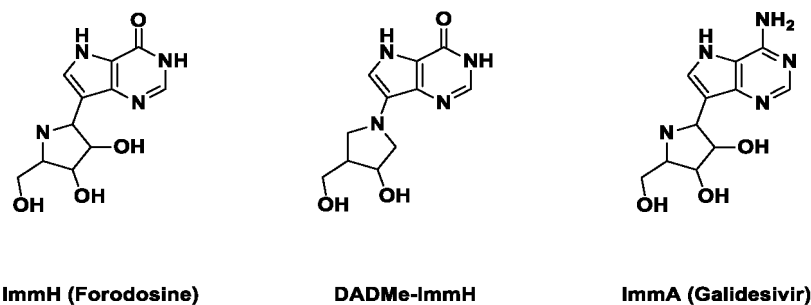
*Якименко О. Я.*

КПІ ім. Ігоря Сікорського, Київ, Україна, [yakymenko.oleksandr@iit.kpi.ua](mailto:yakymenko.oleksandr@iit.kpi.ua)

Пуриннуклеозидфосфорилаза (ПНФ) каталізує зворотню реакцію фосфоролізу пуринових дезокси- та рибонуклеозидів з утворенням (d)Rib-1-P і відповідних основ. Цей ензим відіграє важливу роль у засвоєнні клітиною нуклеозидів і нуклеотидів, у підтриманні імунного статусу організму. Основна мета досліджень його властивостей є виявлення високоефективних інгібіторів щодо цього ензиму, похідних пуринових нуклеозидів, які використовуються в медицині як імуносупресори для забезпечення селективного Т-клітинного імунодефіцитного статусу організму в разі трансплантації органів і тканин. Особливе значення мають інгібітори, які ефективні щодо ферментів із тканин пухлин. Використання інгібіторів пуриннуклеозидфосфорилази за низки патологій свідчить про важливість та перспективність досліджень як цього ензиму, так і сполук, які впливають на його активність.

З 1980-х років ПНФ була біологічною мішенню, обраною різноманітними фармацевтичними компаніями. У 2003 році було повідомлено про розробку та синтез серії аналогів перехідного стану, два з яких, імуцилін-Н (ImmH) і 5'-деаза-1'-аза-2'-деокси-1'-(9-метилен)-імуцилін-Н (DADMe-ImmH), які в даний час знаходяться у клінічних випробуваннях проти Т- і В-клітинного раку та різноманітних аутоімунних захворювань.

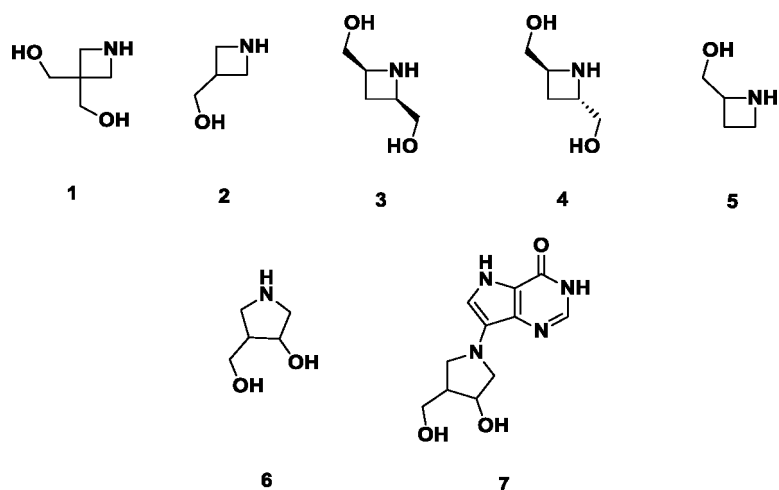
Але більш відомою похідною став Імуцилін А (Галідесивір) розроблений компанією «BioCrystPharmaceuticals» за фінансової участі Національного інституту алергії та інфекційних хвороб США, спочатку розроблений для лікування гепатиту С, але згодом досліджувався як потенційний засіб для лікування небезпечних філовірусних інфекцій, таких як гарячка Ебола, гарячка Марбург та гарячки Зіка [1]. 9 квітня 2020 року компанія «BioCrystPharmaceuticals» розпочала рандомізоване, подвійне сліпе, плацебо-контрольоване клінічне дослідження для оцінки безпеки, клінічного впливу та противірусного ефекту галідесивіру у хворих COVID-19.



**Рис.1** Розроблені імуциліни, що знаходяться на стадії клінічних досліджень

У пошуках нових і покращених інгібіторів ПНФ, які легше та дешевше отримувати, було досліджено синтез і біологічну активність сполук де амінна субодинаця є частиною азетидину. Ці азетидини можна легко приготувати всього за чотири-шість стадій з комерційно доступних реагентів. Ми виявили, що відповідні імуциліни отримані з цих субодинацьазетидину є потужними інгібіторами ПНФ, з константами дисоціації в діапазоні від наномолярного до пікомолярного, і демонструють потенціал як нові перспективні препарати з нижчими витратами, ніж їхні аналоги, що в даний час знаходяться на клінічних випробуваннях.

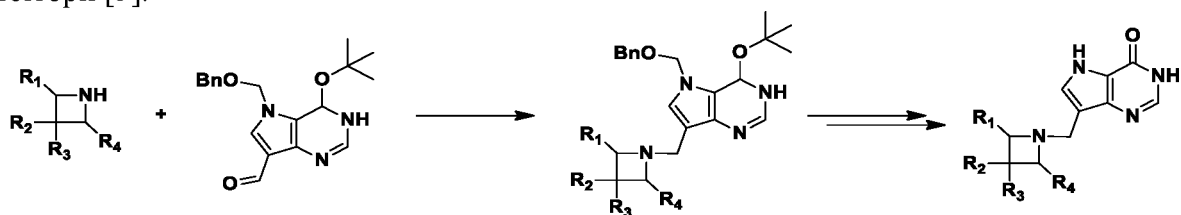
Раніше вже були опубліковані різноманітні методи синтезу  $\alpha$  та  $\beta$ -амінокислот, що містять азетидинове ядро [2]. Відновлення цих кислот, або їх ефірів надає легкий доступ до п'яти азетидинів, сполук 1–5 (рис 2). Ці сполуки є близькими аналогами піролідинусубодинаці6, раніше включеної в синтез DADMeimmucillin-H 7, пікомолярногоінгібітора ПНФ.



**Рис.2** Цільові азетидини (1-5), субодиниця DADMe-ImmH (6), DADMe-ImmH (7)

Далі використовували гідрохлориди сполук 1–5 для одержання цільових імуцилінів (рис. 3) як аналогів інгібіторів ПНФ в перехідному стані.

Основним методом синтезу для цих нуклеозидів є відновне амінування альдегіду з азетидинами, використовуючи  $\text{NaCNBH}_3$ , для отримання захищених імуцилінів з виходами близькими до 70%. Після зняття захистів з гетероатомів – отримуємо кінцеві інгібітори [3].



**Рис.3** Загальна схема отримання азетидинових інгібіторів

Ефективність інгібування людської та телячої ПНФ була перевірена [3]. Хоча деякі з них демонстрували повільне інгібування, та всі з них міцно зв'язувались з ПНФ ссавців із різними константами дисоціації від  $10^{-7}$  до  $10^{-10}$  М. На жаль, жоден з продемонстрованих азетидинових інгібіторів не наблизилися до дії DADMe-ImmH, який з константою дисоціації 11 пМ є одним з найефективніших інгібіторів ПНФ людини. Ймовірно, що більш обмежене чотиричленне азетидинове кільце не дозволяє інгібіторам прийняти таку сприятливу конформацію, як з п'ятичленним піролідиновим кільцем, що міститься в імуцилінах. Незважаючи на цю геометричну проблему, більшість з азетидинів виявляли значне пригнічення ферментів ссавців, що призводить до констант інгібування до 200 пМ для ПНФ, а отже варто продовжити дослідження цих сполук з іншими замісниками в азетидиновому ядрі у пошуках більш сильних інгібіторів.

1. Warren TK, Wells J, Panchal RG, Stuthman KS, Garza NL, Van Tongeren SA, et al. (April 2014) "Protection against filovirus diseases by a novel broad-spectrum nucleoside analogue BCX4430". *Nature*. 508 (7496): 402–5.

2. Miller, R. A.; Lang, F.; Marcune, B.; Zewge, D.; Song, Z. J.; Karady, S. A practical process for the preparation of azetidine-3-carboxylic acid. *Synth. Commun.* 2003, 33, 3347–3353.

3. Gary B. Evans, Richard H. Furneaux, Ben Greatrex, Andrew S. Murkin, Vern L. Schramm, and Peter C. Tyler. "Azetidine Based Transition State Analogue Inhibitors of N-Ribosyl Hydrolases and Phosphorylases" *Journal of Medicinal Chemistry* 2008 51 (4), 948-956