

УДК 616.153.1:577.157.85+616.8-009.62:615.212+547.891

ЛИГАНДЫ БРАДИКИНИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АНАЛЬГЕТИЧЕСКИЕ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СРЕДСТВА

С.А.Андронати, Т.А.Кабанова, В.И.Павловский,
К.С.Андронати, С.Ю.Бачинский

Физико-химический институт им. А.В.Богатского НАН Украины,
65080, г. Одесса, ул. Люстдорфская дорога, 86. E-mail: medchem_department@ukr.net

Ключевые слова: гиперальгезия; воспаление; брадикинин; антагонисты брадикининовых рецепторов; 1,4-бенздиазепины

Брадикинин принимает участие во многих патологических процессах, связанных с воспалением и гиперальгезией. В поисках антагонистов рецепторов брадикинина достигнут определенный успех. Новые производные 1,4-бенздиазепинов проявили анальгетический эффект, сравнимый с эффектом диклофенака.

LIGANDS OF BRADYKININ RECEPTORS AS POTENTIAL ANALGESIC AND ANTI-INFLAMMATORY MEDICINES

S.A.Andronati, T.A.Kabanova, V.I.Pavlovsky, K.S.Andronati, S.Yu.Bachinsky

Bradykinin is involved in various pathological processes associated with inflammation and hyperalgesia. A definite success has been achieved in searching bradykinin receptors antagonists. The new derivatives of 1,4-benzodiazepines have demonstrated the analgesic effect comparable to that of dichlophenac one.

ЛІГАНДИ БРАДИКІНІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ ЯК ПОТЕНЦІЙНІ АНАЛГЕТИЧНІ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНІ ЗАСОБИ

С.А.Андронаті, Т.А.Кабанова, В.І.Павловський, К.С.Андронаті, С.Ю.Бачинський

Брадікінін бере участь у багатьох патологічних процесах, пов'язаних із запаленням і гіпералгезією. У пошуках антагоністів рецепторів брадікініну досягнуто певний успіх. Нові похідні 1,4-бенздіазепінів виявили анальгетичний ефект, який можна порівняти з ефектом диклофенаку.

Миллионы людей в мире страдают от хронической боли различного генеза, от остеоартритов до раковых заболеваний. Сопутствующие депрессии, тревога, бессонница и утрата дееспособности наносят урон обществу [1]. К сожалению, современные анальгетические препараты либо не всегда эффективны, как например, нестероидные противовоспалительные средства, либо такие как наркотические анальгетики имеют опасные побочные эффекты. Поэтому клиника, безусловно, нуждается в новых более совершенных лекарствах для облегчения боли.

Один из наиболее мощных природных альгогенов — брадикинин. Это эндогенный нонапептид, который, входя в состав калликреин-кининовой системы, участвует в нормальной физиологической регуляции, а также вовлечен в целый ряд патофизиологических процессов, таких как воспаление, риниты, астма, ожог и травма. Кинины, брадикинин (БК) и каллидин (КД, Lys-БК) сразу после повреждения тканей образуются из циркулирующих в крови белков-прекурсоров кининогенов под воздействием протеаз, называемых калликреинами. Эффекты кининов опосредуются их

связыванием с B₂ рецепторами брадикинина. Брадикинин и каллидин быстро деградируют под воздействием пептидаз, время их полужизни в плазме составляет около 15-17 с. Кининаза П или ангиотензин I превращающий фермент, локализованный в сосудах легких, разрушает более 90% циркулирующего брадикинина за одно прохождение через легкие. Под действием же кининазы I или карбоксипептидазы N, которая в большом количестве циркулирует в плазме, образуются селективные и полные агонисты другого подтипа кининовых рецепторов — B₁. Это des-Arg⁹-БК и des-Arg⁹-КД [2]. Рецепторы брадикинина относятся к семейству рецепторов, связанных с G-белками, отличительным признаком которых является наличие семи спиральных трансмембранных доменов. Оба подтипа рецепторов брадикинина клонированы в начале 90-х, B₂ — в 1992, B₁ — в 1994 г. [3].

По результатам направленного мутагенеза установлено, что во взаимодействии брадикининовых рецепторов с их лигандами участвуют прежде всего трансмембранные домены рецептора TM3, TM6 и TM7. Гомологические модели как B₁, так

Таблица

Пептидные антагонисты рецепторов брадикинина

Название	Структура										
	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
B₂R антагонисты											
NPC-349		D-Arg	Arg	Pro	Hyp	Gly	Thi	Ser	D-Phe	Thi	Arg
NPC-17731		D-Arg	Arg	Pro	Hyp	Gly	Phe	Ser	Y	Oic	Arg
Ное 140 (Икатибант)		D-Arg	Arg	Pro	Hyp	Gly	Thi	Ser	Tic	Oic	Arg
B₁R антагонисты											
[Leu8]-des-Arg9BK			Arg	Pro	Pro	Gly	Phe	Ser	Pro	Leu	
Lys-[Leu8]-des-Arg9BK		Lys	Arg	Pro	Pro	Gly	Phe	Ser	Pro	Leu	
R-715		AcLys	Arg	Pro	Gly	Phe	Ser	βD-Nal	Ile		
R-954		AcOrn	Arg	Oic	Pro	Gly	(αMe)-Phe	βD-Nal	Ile		
B-9958	Lys	Lys	Arg	Pro	Hyp	Gly	CpG	Ser	D-Tic	Cpg	
B-10352	D-Lys	Lys	Arg	Pro	Hyp	Gly	CpG	Ser	D-Tic	Cpg	
B₂R/B₁R антагонисты											
B-9430		D-Arg	Arg	Pro	Hyp	Gly	Igl	Ser	D-Igl	Oic	Arg
Des-Arg10-Hoe140		D-Arg	Arg	Pro	Hyp	Gly	Thi	Ser	Tic	Oic	
JMV-1431		D-Arg	Arg	Pro	Hyp	Gly	Thi				

и B₂ рецептора созданы по кристаллической структуре бычьего родопсина, входящего в то же семейство рецепторов, связанных с G-белками, что и рецепторы брадикинина. При помощи докинга пептидных агонистов и антагонистов в молекулярную модель брадикининового B₁ рецептора показано, что они занимают один и тот же карман связывания, но взаимодействуют с несколько иными аминокислотными остатками [4].

Брадикининовые B₁ и B₂ рецепторы по-разному экспрессируются: B₂ рецепторы конститутивно представлены во многих здоровых тканях, а B₁ рецепторы воссоздаются в течение 2-5 часов в ответ на воспаление или повреждение тканей. Считается, что B₁ рецепторы брадикинина также конститутивно экспрессируются в ЦНС грызунов, что предполагает центральный компонент восприятия боли [5]. Этот факт был подтвержден демонстрацией гипоальгезивной реакции при центральном введении B₁ антагонистов [1]. В отличие от B₂ рецепторов, которые быстро интернализуются, B₁ рецепторы, не подверженные фосфорилированию, устойчивы к десенсibilизации, что приводит к пролонгированному действию их природных агонистов [6].

Брадикинин может проявлять положительные физиологические эффекты, к примеру, гипотензивный, однако он также опосредует многие патологические эффекты, включая гиперальгезию, воспаление, образование отеков и бронхоспазм. Таким образом, антагонисты рецепторов брадикинина могут найти применение в клинике для облегчения разнообразных болезненных состояний [7].

Попытки разработать пептидные антагонисты рецепторов брадикинина относятся к концу 70-х

годов XX в. Одной из основных задач было получение модифицированных пептидов, устойчивых к деградации. Различным группам исследователей удалось синтезировать высокоаффинные селективные пептидные антагонисты как B₂ [8-10], так и B₁ [11-13] рецепторов брадикинина (таблица). Наиболее ярким представителем B₂ антагонистов является пептид НОЕ-140 или икатибант [14], который был использован более чем в 700 научных исследованиях как удобный инструмент для выяснения роли брадикинина в различных физиологических и патологических процессах и в 15 клинических испытаниях, что помогло продемонстрировать привлекательность B₁ и B₂ антагонистов как терапевтических средств [2, 6].

Однако для рутинного клинического использования более удобными являются небольшие непептидные соединения, совместимые с биотранспортом. В этом плане и ведутся в последние годы разработки в области антагонистов рецепторов брадикинина. Первый непептидный B₂ антагонист WIN 64338 был создан в 1993 г. учеными Sterling-wintrop. Он содержит две положительно заряженные группы, разделенные расстоянием приблизительно 10 Å, что соответствует предполагаемой биоактивной конформации брадикинина. Однако это соединение имеет низкую специфичность и большой аффинитет к брадикининовым рецепторам животных, чем человека [15].

За последующее десятилетие учеными различных фармакологических компаний были разработаны и получены высокоаффинные B₂ антагонисты с функциональной активностью *in vivo* [16-19]. Примеры структур некоторых B₂ антагонистов приведены на рис. 1. Это соединение FR 173675

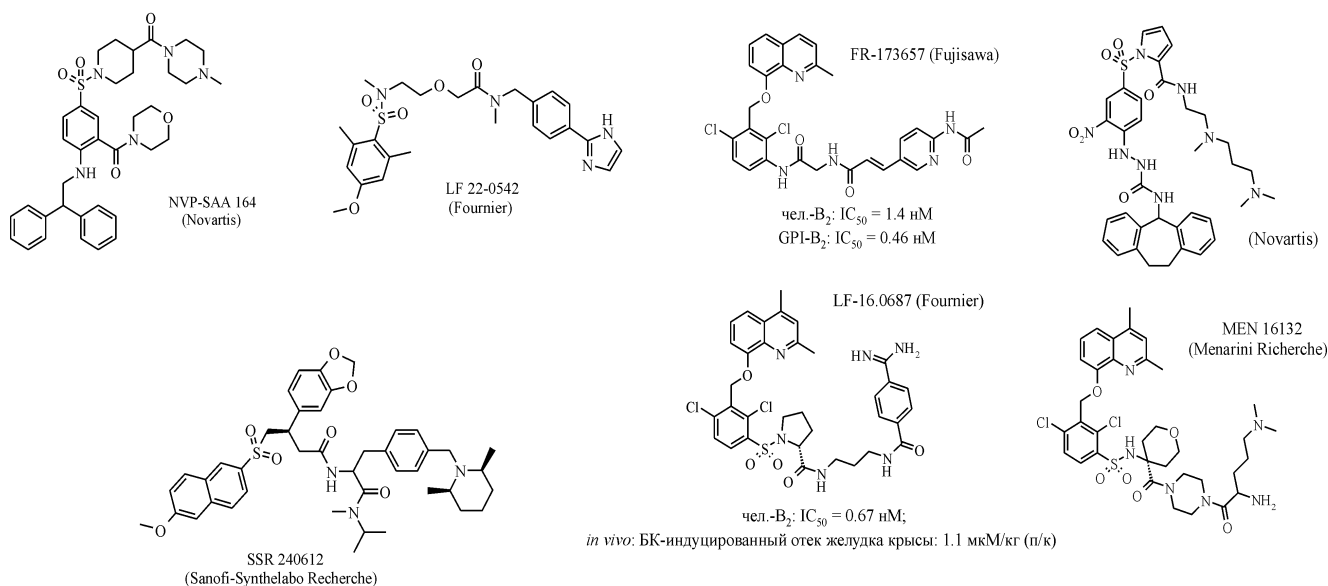
В₁ антагонистыВ₂ антагонисты

Рис. 1. Непептидные антагонисты брадикининовых рецепторов.

от фирмы “Fujisawa Pharmaceutical” [20], один из первых перорально доступных антагонистов В₂ рецепторов брадикинина, проявляющий наномолярный аффинитет и селективность к рецептору человека. Перорально активный и селективный В₂ антагонист от компании “Novartis” [21], чья активность была подтверждена при помощи экспериментов по сократимости пупочной вены человека. Селективный и конкурентный непептидный В₂ антагонист LF 16-0687 (анатибант) от лабораторий Fournie [22], который может использоваться в качестве водорастворимой димезилатной соли для парентерального введения и который обладает высоким аффинитетом к брадикининовым В₂ рецепторам человека, крысы и морской свинки. И, наконец, недавно созданный на основе структуры LF 16-0687 фирмой “Menarini Recherche” высокоактивный и селективный в отношении В₂ рецепторов человека антагонист MEN 16132 [23], содержащий конформационно ограниченную структуру 4-амино-4-карбокситетрагидропирана и заряженную N-δ-триметил-орнитиную часть, который полностью и длительно ингибировал индуцированный брадикинином бронхоспазм и назальное воспаление при местном применении.

В последние годы исследователи начали уделять внимание разработке также непептидных В₁ антагонистов, одно время незаслуженно забытых [24-27]. На рис. 1 приведены представители В₁ антагонистов от различных фирм. Компания “Sanofi-Synthelabo Recherche” создала перорально доступный В₁ антагонист SSR 240612 [28], высокоаффинный, селективный и конкурентный в отношении брадикининовых В₁ рецепторов человека ($K_i = 0,5$ нМ), проявивший активность при пероральном введении на нескольких моделях воспа-

ления и гипералгезии у грызунов. Ученые лабораторий Fournier совсем недавно разработали В₁ антагонист LF 22-0542 [6], однако в литературе крайне мало сведений о его фармакологических свойствах. А непептидный В₁ антагонист NVP-SAA 164 — достижение компании “Novartis” [29].

1,4-Бенздиазепиновое ядро часто используется для дизайна различных пептидомиметиков, поскольку способно с успехом имитировать β-изгиб, во многих случаях постулированный для биоактивной конформации линейных пептидов. Кроме того, в качестве лекарственного класса бенздиазепины имеют хорошую пероральную биодоступность и хорошо переносятся пациентами. Структурный элемент β-изгиба, установленный для биоактивной конформации НОЕ 140, стал основой для дизайна непептидных В₂ антагонистов, содержащих 1,4-бенздиазепиновый каркас, осуществленного учеными фирмы “Novartis” (рис. 2). В *in vitro* исследованиях эти вещества проявили микромолярный аффинитет к В₂ рецепторам человека [30].

Несколько позднее, проведя скрининг собственной коллекции образцов, исследователи фирмы “Merck Laboratories” выявили соединение — лидер на основе бенздиазепиновой структуры. При оптимизации лидера была показана важность наличия основной группировки в заместителе по третьему положению. В результате синтезирован ряд аналогов, наиболее активный из которых обладает аффинитетом к В₁ рецепторам брадикинина человека с показателем $K_i = 0,59$ нМ. Он обладает также высоким аффинитетом к В₁ рецепторам крыс ($K_i = 0,6$ нМ), что очень важно для проведения доклинических исследований. В опытах *in vivo* при в/б введении в дозе 3 мг/кг этот антагонист ингибировал каррагенан-индуцированную гипералгезию в лапке крысы, однако при

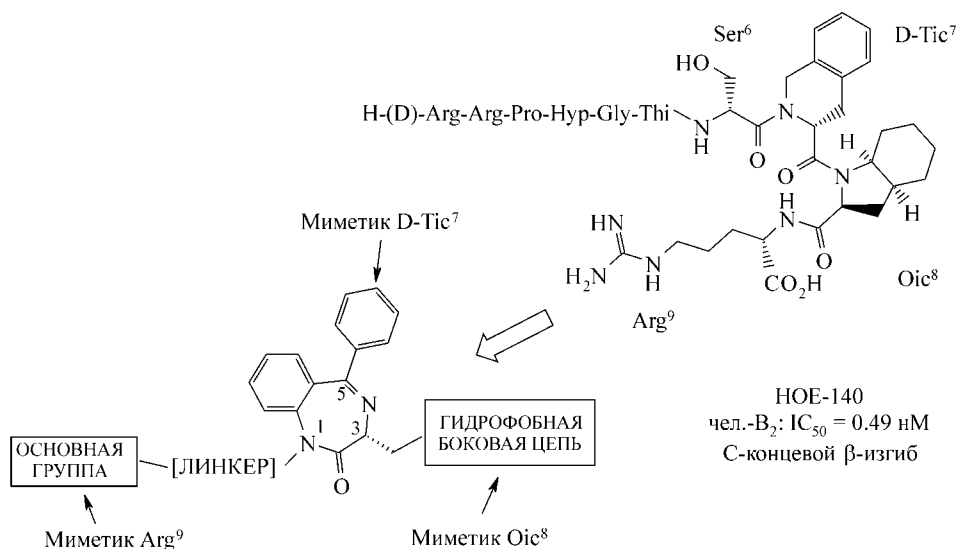


Рис. 2. De novo дизайн В₂ антагонистов рецепторов брадикинина на основе 1,4-бенздиазепин-2-она (Novartis).

пероральном введении не обладал достаточно хорошей биодоступностью [31].

В последние годы были запатентованы как антагонисты В₁ кининовых рецепторов следующие соединения на основе бенздиазепиновой структуры представителями компаний “Merck и Elan Pharmaceuticals” [32, 33].

Исследователями Тегеранского университета медицины в 2005 г. опубликовано сообщение о наличии анальгетической активности у производных бенздиазепина. На модели формалинового воспаления у мышей в дозах 100-150 мг/кг они снижали реакцию животных в первой болевой фазе на 70% [34].

Был проведен скрининг новых 3-бензилиден- и 3-аминопроизводных 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепинов, синтезированных нами, при внутрибрюшинном введении в опытах на мышах по методу “корчей”, вызванных уксусной кислотой [35], и по методу “горячей пластинки” [36].

3-Аминопроизводные 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепинов (соединения **1**, **2**) в дозе 1 мг/кг проявили отчетливую анальгетическую активность по обоим тестам. Причем 3-пиперазинильное производное (**2**) обладало активностью на уровне диклофенака-натрия. (рис. 3).

Из ряда 3-бензилиден производных 1,2-дигидро-3Н-1,4-бенздиазепинов можно выделить несколько соединений (**3-7**) (рис. 4), которые по тесту уксуснокислых корчей не уступают диклофенаку или даже несколько превышают его показатель, а по тесту горячей пластинки два соединения (**3** и **7**) существенно превосходят диклофенак (внутрибрюшинно, 10 мг/кг).

Можно отметить некоторые закономерности зависимости анальгетической активности 3-бензилиден производных от их структуры. Прежде всего отметим, что изученный аналог без заместителя по третьему положению бенздиазепинового ядра практически не обладал активностью (дан-

Merck @ Co. Inc.

Elan Pharmaceuticals, Inc.

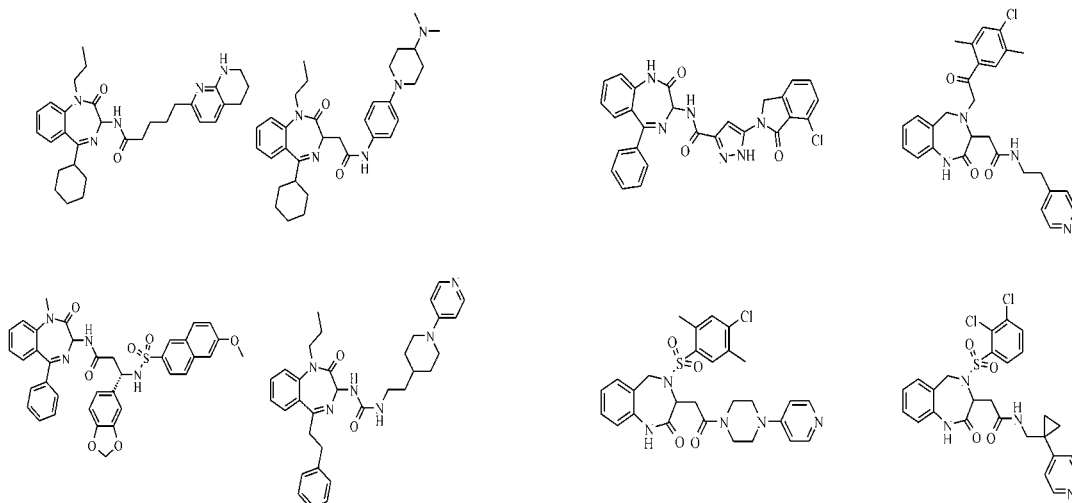


Рис. 3. Запатентованные непептидные БК В₁ антагонисты.

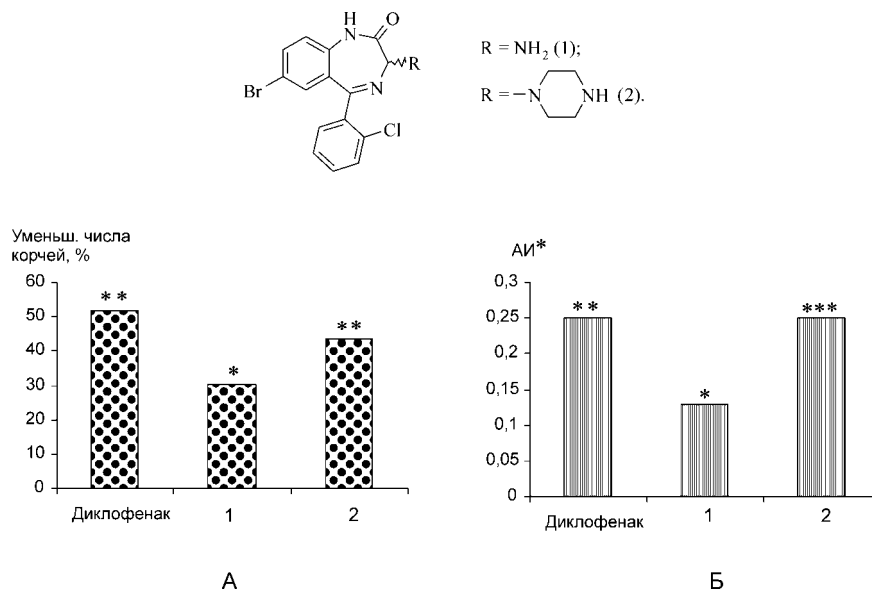


Рис. 4. Анальгетическая активность 3-амино производных 1,4-бенздиазепинов в дозе 1 мг/ кг (в/б) *in vivo* на мышах по тестам укусно-кислых корчей (А) и "горячей пластины" (Б). *) Анальгетический индекс.

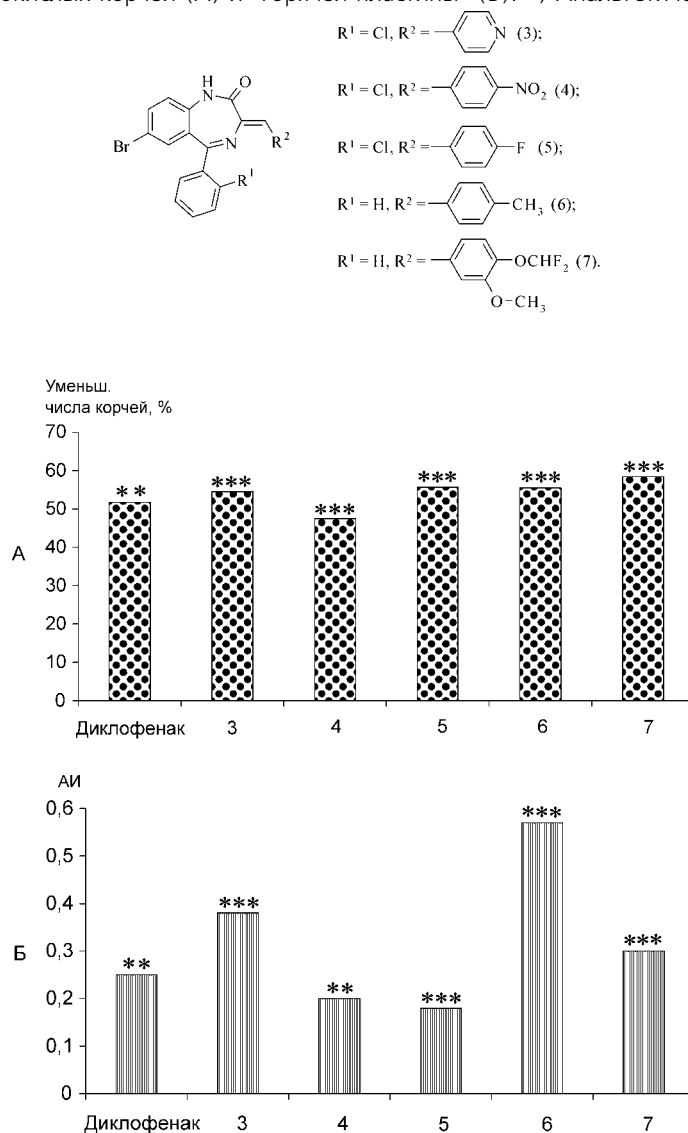


Рис. 5. Анальгетическая активность 3-бензилиден производных 1,4-бенздиазепинов в дозе 1 мг/кг (в/б) *in vivo* на мышах по тестам укусно-кислых корчей и "горячей пластины".

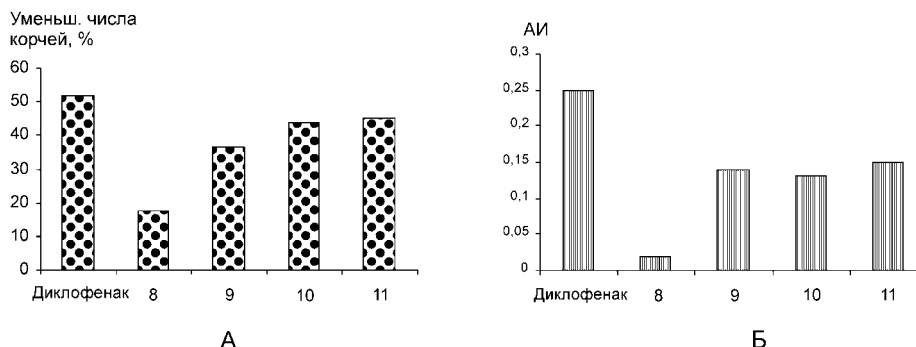
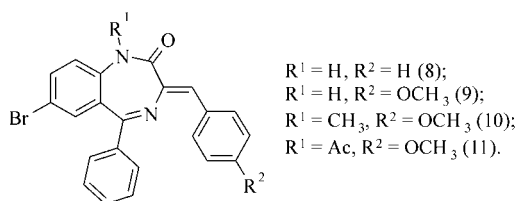


Рис. 6. Зависимость анальгетической активности 3-бензилиден производных 1,4-бенздиазепинов от их структуры. Тест уксуснокислых корчей (А) и метод "горячей пластины" (Б).

ные по нему не приведены), а увеличение липофильности заместителя привело к возрастанию анальгетической активности, что можно заметить по возрастанию анальгетической активности у соединения **9** по сравнению с соединением **8**. Кроме того, основываясь на приведенных результатах, можно предположить, что наличие заместителей по первому положению бенздиазепинового кольца (соединения **10** и **11**) также несколько повышает анальгетическую активность (рис. 5).

Сравнение производных с различным положением брома в бензилиденном фрагменте (соединения **12-14** и **16-18**) позволяет предположить, что

предпочтительным является мета-положение (соединения **13** и **17**), причем при наличии как фенильного заместителя (соединение **13**), так и орто-хлор фенильного заместителя (соединение **17**), по пятому положению бенздиазепинового ядра (рис. 6).

В заключение следует отметить, что в области фармакологии кининов достигнут впечатляющий прогресс за последние 30 лет, но реальное применение в клинике разработанных модуляторов кининовых рецепторов еще остается делом будущего. Применимость в клинике антагонистов рецепторов брадикинина подтверждена. Пептид НОЕ-

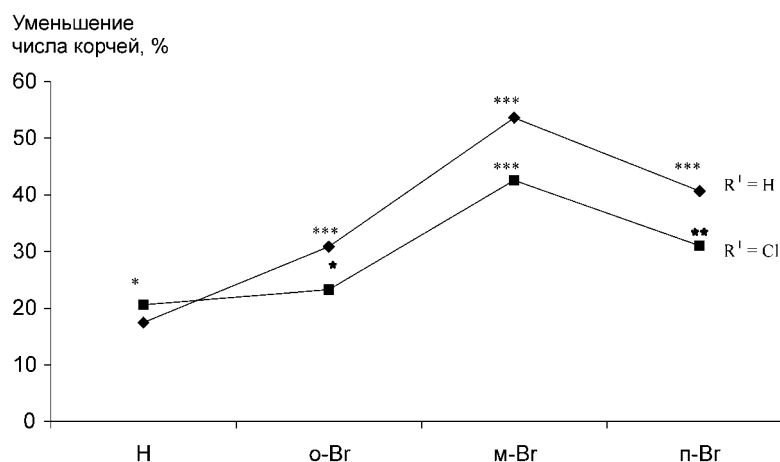
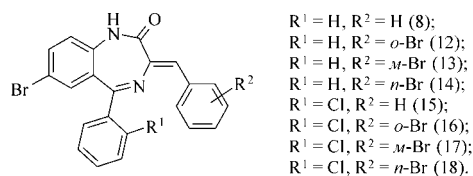


Рис. 7. Влияние положения брома в арилиденном заместителе на анальгетическую активность 3-бензилиденпроизводных 1,4-бенздиазепинов.

140 имел успех в клинических испытаниях в случаях бронхиальной астмы и аллергических ринитов при местном применении [6]. Сообщений о клинических испытаниях неоптидных антаго-

стов в литературе пока нет. Однако разработки в области антагонистов брадикининовых рецепторов продолжаются, и новые результаты ожидаются с нетерпением.

Литература

1. Kuduk S.D., Di Marco Ch.N., Chang R.K. et al. // *J. Med. Chem.* — 2007. — Vol. 50, №2. — P. 272-282.
2. Stewart J.M. // *Peptides.* — 2004. — №25. — P. 527-532.
3. Michineau S., Alhenc-Gelas F., Rajerison R.M. // *Biochemistry.* — 2006. — Vol. 45, №8. — P. 2699-2707.
4. Ha S.N., Hey P.J., Ranson R.W. et al. // *Biochemistry.* — 2006. — Vol. 45, №48. — P. 14355-14361.
5. Wood M.R., Schirripa K.M., Kim J.J. et al. // *J. Med. Chem.* — 2006. — Vol. 49, №4. — P. 1231-1234.
6. Fortin J.-Ph., Marcean F. // *Current Topics in Medicinal Chemistry.* — 2006. — Vol. 6, №13. — P. 1353-1363.
7. Heitsch H. // *Current Medicinal Chemistry.* — 2002. — Vol. 9, №9. — P. 913-928.
8. Lembeck F., Griesacher T., Eckhardi M. et al. // *British J. of Pharmacol.* — 1991. — Vol. 102. — P. 297-304.
9. Amblard M., Daffix I., Bedos P. et al. // *J. Med. Chem.* — 1999. — Vol. 42, №20. — P. 4185-4192.
10. Kyle D.J., Blake P.R., Smithwick D. et al. // *J. Med. Chem.* — 1993. — Vol. 36, №10. — P. 1450-1460.
11. Gobeil F., Neugebauer W., Filteau C. et al. // *Hypertension.* — 1996. — Vol. 28. — P. 833-839.
12. Neugebauer W., Blas P.A., Halle S. et al. // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* — 2002. — Vol. 80. — P. 287-292.
13. Larrive J.-P., Gera L., Haule S. et al. // *British J. of Pharmacol.* — 2000. — Vol. 131. — P. 885-892.
14. Garini F., Guelfi M., Lecci A. et al. // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* — 2002. — Vol. 80. — P. 310-322.
15. Douty B.D., Salvino J.M., Seoane P.R. et al. // *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* — 1995. — Vol. 5, №4. — P. 363-366.
16. Meini S., Lecci A., Garini F. et al. // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* — 2002. — Vol. 80, № 4. — P. 293-302.
17. Meini S., Guchi P., Bellucci F. et al. // *Biochem. Pharmacol.* — 2004. — Vol. 67. — P. 601-609.
18. Dziandulewicz E.K., Ritchie T.J., Hallett A. et al. // *J. Med. Chem.* — 2000. — Vol. 43. — P. 769-771.
19. Heitch H., Wagner A., Scholkens B.A. et al. // *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* — 1999. — Vol. 9. — P. 327-332.
20. Asano M., Janamura N., Hatori Ch. et al. // *British J. of Pharmacol.* — 1997. — Vol. 120, №4. — P. 617-624.
21. Dziandulewicz E.K., Ritchie T.J., Hallett A. et al. // *J. Med. Chem.* — 2002. — Vol. 45. — P. 2160-2172.
22. Pruneau D., Paquet J.L., Luccanini J.M. et al. // *Immunopharmacol.* — 1999. — Vol. 43, №2-3. — P. 187-194.
23. Valenti C., Cialdai C., Griuliani S. et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2005. — Vol. 315. — P. 616-623.
24. Dziandulewicz E.K. // *Expert. Opin. Ther. Patents.* — 2005. — Vol. 15. — P. 829-859.
25. Kuduk S.D., Ng C., Feng D.-M. et al. // *J. Med. Chem.* — 2004. — Vol. 48. — P. 6439-6442.
26. Feng D.M., Wai J.M., Kuduk S.D. et al. // *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* — 2005. — Vol. 15. — P. 2385-2388.
27. Fox A., Kaur S., Li B. et al. // *British J. of Pharmacol.* — 2005. — Vol. 144. — P. 889-899.
28. Gougat J., Ferrari B., Sarran L. et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2004. — Vol. 309. — P. 616-623.
29. Ritchie T.J., Dziandulewicz E.K., Culshaw A.J. et al. // *J. Med. Chem.* — 2004. — Vol. 47, №19. — P. 4642-4644.
30. Dziandulewicz E.K., Brown M.C., Dunstan A.R. et al. // *Bioorg. & Med. Chem. Lett.* — 1999. — Vol. 9. — P. 463-468.
31. Wood M.R., Kim J.J., Han W. et al. // *J. Med. Chem.* — 2003. — Vol. 46, №10. — P. 1803-1806.
32. Пат. WO 02/099338 A2 (2002).
33. Пат. WO 2006/071775 A2 (2006).
34. Наджафа Н., Пирали М., Даулатбади Р. и др. // *Хим.-фарм. журн.* — 2005. — Т. 30, №12. — С. 21-23.
35. Choi S.S., Han K.-J., Lee H.-K. et al. // *Biol. Pharm. Bull.* — 2003. — Vol. 26, №9. — P. 1283-1288.
36. Eddi N.B., Leimbach D. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 1953. — Vol. 107, №3. — P. 385-393.

Надійшла до редакції 23.03.2009 р.