

УДК 547.94:834.2

DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-4-41-44

**ПРОИЗВОДНЫЕ ХИНОЛИЗИДИНОВОГО АЛКАЛОИДА (–)-ЦИТИЗИНА
С ПРОТИВОГРИППОЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ**

© А.В. Галочкина, П.Р. Петрова, А.В. Ковальская, И.П. Цыпышева, В.В. Зарубаев

По данным Всемирной Организации Здравоохранения смертность от гриппа и возникающих на его фоне осложнений составляет более 200 000 случаев в год, и, в основном – это смертность среди людей пожилого возраста и детей. Грипп отличается высокой скоростью распространения, приводящей к эпидемиям, и возникновением штаммов вируса с лекарственной резистентностью. Среди медикаментозных средств лечения и профилактики гриппа лидирующие позиции занимают препараты, действующие непосредственно на вирусную репродукцию – это Арбидол®, римантадин и амантадин, занамивир (Реленца®), осельтамивир (Тамифлю®), перамивир (Рапиакта®) и ланинамивир (Инавир®), а также разрешенный в 2018 году в Японии и США Балоксавир марбоксил (Ксофлуза®). К недостаткам перечисленных препаратов можно отнести: «узкое» терапевтическое окно (часть из них эффективна только на ранних стадиях заражения), ограничения в применении, наличие заметных побочных эффектов, а также не всегда удобная готовая лекарственная форма (некоторые препараты выпускаются в форме аэрозолей). Поэтому поиск и разработка новых противогриппозных агентов, более эффективных, но лишенных перечисленных выше недостатков и ограничений, остаются актуальной задачей медицинской, органической химии и отечественного здравоохранения. В то же время в лечении инфекционных заболеваний, включая вирусные, существует многовековая традиция применения лекарственных растений, значительную часть которых составляют алкалоидоносы. Так, в семействе *Fabaceae* (растения, принадлежащие к этому семейству, являются основными продуцентами хинолизидиновых алкалоидов) найдено несколько родов, экстракты и индивидуальные компоненты которых проявляют высокую противогриппозную активность. В настоящей работе представлены результаты скрининга способности амидов, тио- и карбоксамидов хинолизидинового алкалоида (–)-цитизина ингибировать репродукцию вируса гриппа А (H1N1), полученные в лаборатории экспериментальной вирусологии Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Показано, 10 из 42 синтезированных производных эффективно подавляют репродукцию вируса с индексами селективности (SI) от 10 до 59, что заметно превосходит таковой для препарата сравнения римантадин (SI = 5), но ниже индекса селективности рибавирина (SI = 67).

Ключевые слова: хинолизидиновые алкалоиды, (–)-цитизин, вирус гриппа А(H1N1).

Введение. Грипп – вирусное заболевание, характеризующееся острым началом, тяжестью протекания, возникновением осложнений и высоким уровнем смертности. Скорость распространения и исключительная контагиозность вируса гриппа часто приводят к возникновению сезонных вспышек этого заболевания, а иногда к пандемиям [1]. Средства химиотерапии гриппозной инфекции, действующие

непосредственно на отдельные фазы жизненного цикла вируса гриппа (этиотропные противогриппозные препараты) – ингибиторы гемагглютинаина, ионного канала, ингибиторы нейраминидазы или фермента РНК-полимеразы, а также рибавирин – нуклеозидный аналог с широким спектром противовирусного действия, в настоящее время считаются наиболее эффективными. Учитывая высокую скорость мутации

ГАЛОЧКИНА Анастасия Валерьевна – к.б.н., Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, e-mail: tsipisheva@anrb.ru

ПЕТРОВА Полина Радиковна, Уфимский Институт химии УФИЦ РАН, e-mail: tsipisheva@anrb.ru

КОВАЛЬСКАЯ Алена Витальевна – к.х.н., Уфимский Институт химии УФИЦ РАН,

e-mail: tsipisheva@anrb.ru

ЦЫПЫШЕВА Инна Петровна – к.х.н., Уфимский Институт химии УФИЦ РАН,

e-mail: tsipisheva@anrb.ru

ЗАРУБАЕВ Владимир Викторович – к.б.н., Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, e-mail: tsipisheva@anrb.ru

вируса, наличие ряда противопоказаний к применению и побочные эффекты [2], поиск новых антигриппозных агентов, не обладающих перечисленными выше недостатками и ограничениями, с новыми механизмами противовирусного действия, остается одной из актуальных задач в области разработки эффективных средств химиотерапии этого опасного инфекционного заболевания. Так, недавно было показано, что и «сырые» экстракты, и индивидуальные компоненты, выделенные из таких растений, как *Sophora*, *Acacia*, *Caragana* и *Thermopsis*, принадлежащих к семейству бобовых (*Fabaceae*), проявляют выраженную активность в отношении вирусов гепатитов С (HCV) и В (HBV), вируса простого герпеса (HSV-I), вируса иммунодефицита человека HIV-1 и вируса гриппа А (H1N1) [3]. Поскольку растения семейства *Fabaceae* являются основными продуцентами хинолизидиновых алкалоидов [4], с которыми могут быть связаны вышеуказанные противовирусные свойства, поиск новых противогриппозных агентов целесообразно вести среди их синтетических производных, в том числе и (–)-цитизина. Таким образом, синтез новых производных этого алкалоида с параллельной оценкой способности ингибировать репродукцию вируса гриппа А (H1N1) может стать одним из эффективных вариантов решения задачи создания новых противогриппозных агентов на основе веществ природного происхождения.

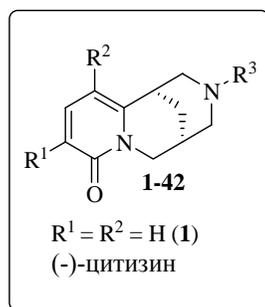
Результаты и их обсуждение. Для синтетических трансформаций (–)-цитизина были выбраны наиболее простые и эффективные химические превращения: электрофильное замещение в 2-пиридиновом ядре (введение атомов галогенов или нитро группы в 9 и/или 11 положение) и реакции, типичные для вторичной аминогруппы (введение алкильного, алкенильного, бензильного, амидного, тио- или карбоксамидного фрагментов в 3 положение исходной молекулы), что привело к получению библиотек соответствующих производных **2-42** (рис. 1). *N*-Замещенные производные хинолизидинового алкалоида (–)-цитизина **2-6** были получены по известным литературным методикам [5]; синтез амидов и карбоксамидов **7-26** описан нами ранее [6, 7]. Группа тиомочевин **27-42** синтезирована путем аналогичных химических трансформаций.

Для изучения вирус-ингибирующей активности всех синтезированных производных использовали штамм вируса гриппа A/California/07/09(H1N1)pdm09, полученный из Центра по контролю за заболеваемостью (CDC, Atlanta, USA). В качестве препаратов сравнения были выбраны римантадин и рибавирин в соответствии с их умеренной и высокой эффективностью; методики проведения экспериментов описаны в [8, 9]. Активность соединений оценивали на основании величин их 50% ингибирующих концентраций (IC_{50}) и индекса селективности SI (отношение CC_{50} (50% цитотоксическая концентрация) к IC_{50}).

В результате проведенных экспериментов установлено, что из 42 соединений 10 образцов – **4, 15, 16, 18, 19, 21, 32, 33** и **40** – ингибируют репродукцию вируса гриппа А (H1N1) со значениями IC_{50} от 5.0 до 27 μ M (рис. 2). Эти значения заметно ниже соответствующих для римантадина ($C_{50} = 44.5 \mu$ M) и рибавирина ($IC_{50} = 32.5 \mu$ M). Однако индексы селективности, учитывающие вклад цитотоксических свойств соединений **4, 15, 16, 18, 19, 21, 32, 33** и **40**, находятся в интервале от 10 до 59, что существенно превосходит таковой для римантадина ($SI = 5$), но ниже индекса селективности рибавирина ($SI = 67$). В то же время необходимо отметить, что производные на **15** и **16** с аллилмочевинным и фенилмочевинным фрагментами в 9 положении исходной молекулы (рис. 2) являются абсолютными лидерами ('hit-compounds') среди производных (–)-цитизина **2-42**. Индексы селективности 9-карбоксоамидов **15** и **16** составляют 59 и 47 соответственно.

Заключение. Таким образом, полученные в результате биологического скрининга данные о высокой противогриппозной активности некоторых тио- и карбоксамидов (–)-цитизина подтвердили перспективность выбранных направлений его химических трансформаций и могут служить основанием для дальнейшего направленного поиска новых эффективных средств для химиотерапии этого социально-значимого инфекционного заболевания.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 18-33-00877_мол_а.



$R^1 = H, R^2 = H, R^3 = Me$ (2);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = All$ (3);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = Bn$ (4);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = Ac$ (5);

$R^1 = H, R^2 = H, R^3 = (CO)NHAll$ (10);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = (CO)NHPh$ (11);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = (CO)NHAd$ (12);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = (CO)NH(CH_2)_2OH$ (13);
 $R^1 = NH(CO)NHAll, R^2 = H, R^3 = Me$ (15);
 $R^1 = NH(CO)NHPh, R^2 = H, R^3 = Me$ (16);
 $R^1 = NO_2, R^2 = H, R^3 = (CO)NHAll$ (17);
 $R^1 = Br, R^2 = H, R^3 = (CO)NHAll$ (18);
 $R^1 = H, R^2 = Br, R^3 = (CO)NHPh$ (19);
 $R^1 = Br, R^2 = H, R^3 = (CO)NHAd$ (20);
 $R^1 = Br, R^2 = Br, R^3 = (CO)NHAll$ (21);
 $R^1 = Br, R^2 = Br, R^3 = (CO)NHPh$ (22);
 $R^1 = Br, R^2 = Br, R^3 = (CO)NHAd$ (23);
 $R^1 = H, R^2 = Cl, R^3 = (CO)NHAll$ (24);
 $R^1 = H, R^2 = Cl, R^3 = (CO)NHPh$ (25);
 $R^1 = H, R^2 = Cl, R^3 = (CO)NHAd$ (26);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = (CS)NH_2$ (27);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = (CS)NHAll$ (28);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = (CS)NHPh$ (29);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = (CS)NHAd$ (20);
 $R^1 = H, R^2 = H, R^3 = (CS)NH(CO)Ph$ (31);
 $R^1 = NO_2, R^2 = H, R^3 = (CS)NHAll$ (32);
 $R^1 = NO_2, R^2 = H, R^3 = (CS)NHPh$ (33);
 $R^1 = Br, R^2 = H, R^3 = (CS)NHAll$ (34);
 $R^1 = Br, R^2 = H, R^3 = (CS)NHPh$ (35);
 $R^1 = Br, R^2 = H, R^3 = (CS)NHAd$ (36);
 $R^1 = Br, R^2 = Br, R^3 = (CS)NHAll$ (37);
 $R^1 = Br, R^2 = Br, R^3 = (CS)NHPh$ (38);
 $R^1 = Br, R^2 = Br, R^3 = (CS)NHAd$ (39);
 $R^1 = H, R^2 = Cl, R^3 = (CS)NHAll$ (40);
 $R^1 = H, R^2 = Cl, R^3 = (CS)NHPh$ (41);
 $R^1 = H, R^2 = Cl, R^3 = (CS)NHAd$ (42).

Рис. 1. (-)-Цитизин **1** и его производные **2-42**

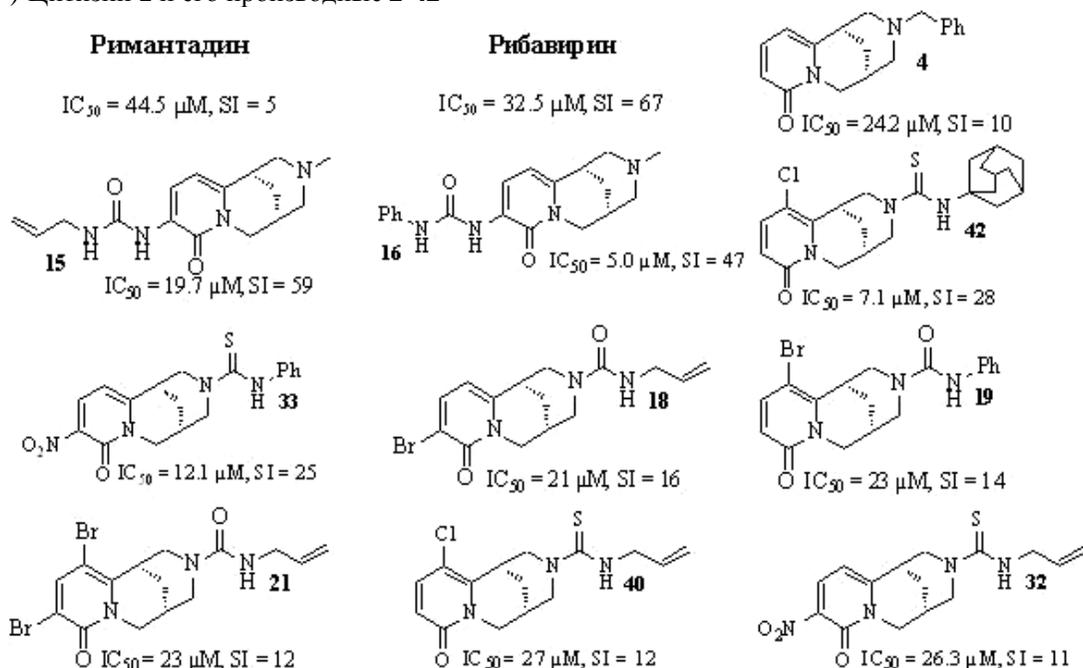


Рис. 2. Активность римантадина, рибавирина и некоторых производных (-)-цитизина в отношении вируса гриппа A/California/07/09(H1N1)pdm09

Литература

- Rothberg M.B., Haessler S.D. Complications of seasonal and pandemic influenza // *Crit. Care Med.* 2010. V. 38. P. 91–97.
- Ison M.G. Antivirals and resistance: Influenza virus // *Curr. Opin. Virol.* 2011. V. 1. P. 563–573.
- Moradi M.-T., Karimi A., Lorigooini Z. Alkaloids as the natural anti-influenza virus agents: A systematic review // *Toxin Rev.* 2017. V. 37. P. 1–8.
- Buckingham J., Baggaley K.H., Roberts A.D., Szlabo L.F. Dictionary of alkaloids. Second edition. CRC Press, 2010. 2289 p.

- Rouden J., Lasne M.-C., Blanchet J., Baudoux J. (-)-Cytisine and derivatives: Synthesis, reactivity, and applications // *Chem. Rev.* 2014. V. 114. P. 712–778.
- Tsypysheva I.P., Kovalskaya A.V., Makara N.S., Lobov A.N., Petrenko I.A., Galkin E.G., Sapozhnikova T.A., Zarudii F.S., Yunusov M.S. Synthesis and specific nootropic activity of (-)-cytisine derivatives with carbamide and thiocarbamide moieties in their structure // *Chem. Nat. Compd.* 2012. V. 48. P. 629–634.
- Fedorova V.A., Kadyrova R.A., Slita A.V., Muryleva A.A., Petrova P.R., Kovalskaya A.V., Lobov A.N., Tsypysheva I.P., Zarubaev V.V. Antiviral activity of amides and carboxamides of quinolizidine alka-

loid (–)-cytisine against human flu virus A(H1N1) and parainfluenza virus type 3 // Nat. Prod. Res. 2019. In press.

8. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays // J. Immunol. Methods. 1983. V. 65. P. 55–63.

9. Zarubaev V.V., Golod E.L., Anfimov P.M., Shtro A.A., Saraev V.V., Gavrilov A.S., Logvinov A.V., Kiselev O. I. Synthesis and anti-viral activity of azolo-adamantanes against influenza A virus // Bioorg. Med. Chem. 2010. V. 18. P. 839–848.

References

1. Rothberg M.B., Haessler S.D. Complications of seasonal and pandemic influenza. Crit. Care Med., 2010, vol. 38, pp. 91–97.

2. Ison M.G. Antivirals and resistance: Influenza virus. Curr. Opin. Virol., 2011, vol. 1, pp. 563–573.

3. Moradi M.-T., Karimi A., Lorigooini Z. Alkaloids as the natural anti-influenza virus agents: A systematic review. Toxin Rev., 2017, vol. 37, pp. 1–8.

4. Buckingham J., Baggaley K.H., Roberts A.D., Szlabo L.F. Dictionary of alkaloids. Second edition. CRC Press, 2010. 2289 p.

5. Rouden J., Lasne M.-C., Blanchet J., Baudoux J. (–)-Cytisine and derivatives: Synthesis, reactivity, and applications. Chem. Rev., 2014, vol. 114, pp. 712–778.

6. Tsypysheva I.P., Kovalskaya A.V., Makara N.S., Lobov A.N., Petrenko I.A., Galkin E.G., Sapozhnikova T.A., Zarudii F.S., Yunusov M.S. Synthesis and specific nootropic activity of (–)-cytisine derivatives with carbamide and thiocarbamide moieties in their structure. Chem. Nat. Compd., 2012, vol. 48, pp. 629–634.

7. Fedorova V.A., Kadyrova R.A., Slita A.V., Muryleva A.A., Petrova P.R., Kovalskaya A.V., Lobov A.N., Tsypysheva I.P., Zarubaev V.V. Antiviral activity of amides and carboxamides of quinolizidine alkaloid (–)-cytisine against human flu virus A(H1N1) and parainfluenza virus type 3. Nat. Prod. Res., 2019. In press.

8. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. J. Immunol. Methods, 1983, vol. 65, pp. 55–63.

9. Zarubaev V.V., Golod E.L., Anfimov P.M., Shtro A.A., Saraev V.V., Gavrilov A.S., Logvinov A.V., Kiselev O. I. Synthesis and anti-viral activity of azolo-adamantanes against influenza A virus. Bioorg. Med. Chem., 2010, vol. 18, pp. 839–848.

DERIVATIVES OF QUINOLIZIDINE ALKALOID (–)-CYTISINE WITH ANTI-INFLUENZA ACTIVITY

© A.V. Galochkina¹, P.R. Petrova², A.V. Koval'skaya², I.P. Tsypysheva², V.V. Zarubaev¹

¹Saint-Petersburg Pasteur Institute,

15, ulitsa Bolshaya Monetnaya, 197101, St. Petersburg, Russian Federation

²Ufa Institute of Chemistry – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences,

69, prospect Oktyabrya, 450054, Ufa, Russian Federation

According to the World Health Organization data, mortality from influenza and its complications is more than 200 000 cases per year, and mortality among an elderly and children is the main contribution. The high rate of infection expansion leading to epidemics, as well as the emergence of strains of viruses with drug resistance, are a feature of influenza. A set of drugs for the treatment and prevention of influenza is wide enough, but the drugs that act directly on viral reproduction stay at the leading positions of influenza therapy. There are Arbidol®, rimantadine (α – methyl-1-adamantyl-methylamine hydrochloride) and amantadine (1-aminoadamantane), zanamivir (Relenza®), oseltamivir (Tamiflu®), peramivir (Rapiacta®) and laninamivir (Inavir®), and at last Baloxavir marboxyl (Xoflusa®) allowed to using in 2018 in Japan and United States. ‘Narrow therapeutic window’ (some of them are effective for first stage of infection), restrictions in the application, the presence of noticeable side effects, as well as uncomfortable finished dosage form (some drugs are available only as aerosols) can be attributed to the shortcomings of listed drugs. Therefore, the search and development of new and more effective anti-influenza agents without such shortcomings and limitations are an urgent task of medicinal, organic chemistry and national health. At the same time, the centuries-old tradition of using medicinal plants (a significant part of which are alkaloid-containing) exists in the treatment of infectious viral diseases. Indeed, a few genera of plants, extracts and individual components of which exhibit a high antiviral and anti-influenza activity, was found in the *Fabaceae* family (plants of this family are the main producers of quinolizidine alkaloids). The results of screening of the ability of amides, tio – and carboxamides of quinolizidine alkaloid (–)-cytisine to inhibit the reproduction of influenza A/California/07/09(H1N1)pdm09 virus, performed in the laboratory of experimental virology of the research Pasteur Institute of epidemiology and microbiology (St. Petersburg) are presented in this research. It was shown that 10 of 42 synthesized derivatives effectively inhibit virus reproduction with selectivity indexes (SI) from 10 to 59, which is significantly higher than that for the reference drug rimantadine (SI = 5), but below the ribavirin selectivity index (SI = 67).

Key words: quinolizidine alkaloids, (–)-cytisine, influenza A (H1N1) virus.