

Поиск новых противовоспалительных препаратов среди фторированных салицилатов

В.И. Салоутин^а, Е.В. Щегольков^а, И.В. Щур^а, Я.В. Бургарт^а,
С.Ю. Солодников^б, О.П. Красных^б, А.Н. Трефилова^б,
Л.Н. Маркова^б, О.Н. Чупахин^а

^а *Институт органического синтеза им. И.Я.Постовского УрО РАН,*

^б *Пермский национальный исследовательский политехнический университет,*

^в *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН*

Особенности лекарственных препаратов ряда салицилатов

- Салициловая кислота – метаболит природного гликозида салицина, производимого многими растениями.
- Салициловая кислота и ее производные используются в медицине с конца 19 века.
- Ацетилсалициловая кислота (аспирин) – одно из самых популярных и продаваемых современных лекарственных средств. Ежегодно потребляется более 80 миллиардов таблеток аспирина. препарат входит в список важнейших лекарственных средств Всемирной организации здравоохранения, а также в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных средств РФ.
- Класс препаратов салицилового ряда отличается разнообразием спектра биологического действия



Биологическая активность производных салициловой кислоты

3

НСПВП
для лечения боли,
лихорадки и
воспалений

противовоспалительное

жаропонижающее

анальгезирующее

Аспирин для лечения
сердечно-сосудистых
заболеваний

антиагрегантное,
сосудорасширяющее

Снижение уровня
сахара в крови при
лечении диабета II типа

противодиабетическое

Лечение рака
кишечника

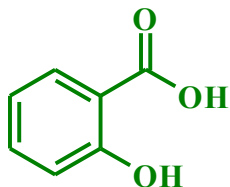
антипролиферативное
(противоопухолевое)

ПАСК

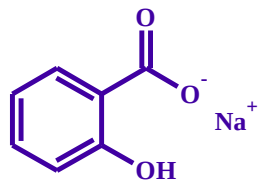
противотуберкулезное

Лекарственные производные салициловой кислоты

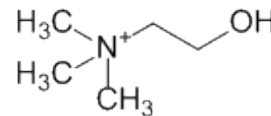
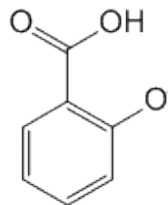
4



Салициловая кислота
(кожные заболевания)

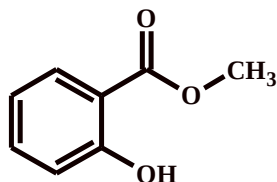


Салицилат натрия

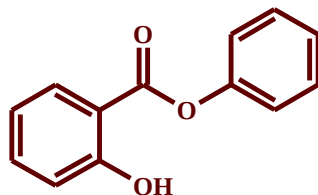


Холина салицилат
(отиты, стоматология)

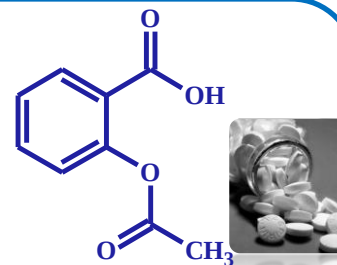
Соли



Метилсалицилат
(ревматизм, артриты,
остеохондроз, плеврит)

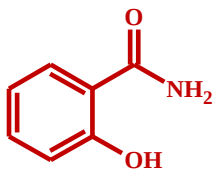


Фенилсалицилат
(колиты, циститы,
пиелонефриты)

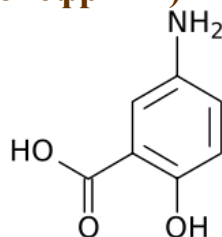


Ацетилсалициловая кислота

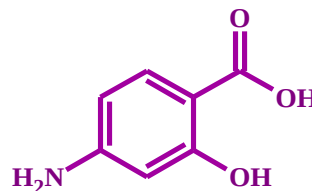
Эфиры



Салициламид
(анальгетик,
антипиретик)



Месализин
(язвенный колит и
болезнь Крона)



ПАСК
(тубекулостатик)

**Амино-
производные**

1. М.Д. Машковский. Лекарственные средства // М.: Новая волна, 2002. – Т.2;
2. D. Ekinç, M. Şentürk, O.I. Küfrevioğlu, // Expert Opin. Ther. Patents. 2011. Vol. 21. P. 1831.
3. G.L. Walford, H. Jonesa, T.Y. Shen // J. Med.Chem. 1971. Vol. 14. P. 339.

Недостатки лекарственных препаратов на основе салициловой кислоты

1. Побочные эффекты

- **высокая гастротоксичность** (раздражение слизистой оболочки желудка, эрозии, диспепсия, тошнота, рвота, язвенно-эрозивный эффект, развитие гастритов);
- геморрагии (кровоизлияния и кровотечения);
- детям до 12 лет, а также при гриппе, ветряной оспе, кори прием аспирина запрещен, из-за возможности развития синдрома Рейе, что приводит в большинстве случаев к летальному исходу;
- церебральные симптомы (шум в ушах, ослабление слуха, беспокойство, а в тяжелых случаях галлюцинации, потери сознания, судороги, нарушение дыхания);
- учащение приступов бронхоспазмов;
- гипогликемические состояния;
- патологии у новорожденных, матери которых принимали в конце беременности салицилаты;
- аллергические реакции (кожная сыпь, крапивница, зуд, ангионевротический шок, пурпура);

2. Относительно низкий уровень активности

- слабое противовоспалительное действие;
- незначительный анальгезирующий эффект



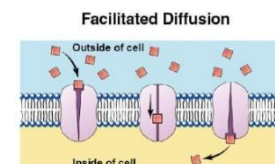
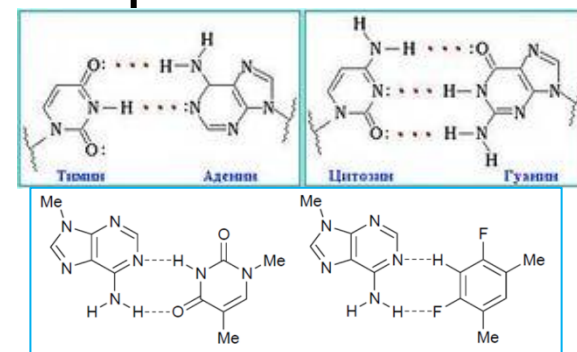
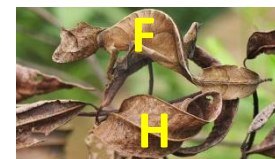
По мнению экспертов, химия салициловой кислоты и ее производных до сих пор является важной исследовательской областью при создании новых медицинских препаратов [D. Ekinçi, M. Şentürk, O.I. Küfrevioğlu, Expert Opin. Ther. Patents. 21 (2011) 1831-1841.].

Основные направления в развитии химии салицилатов

- **уменьшение побочного токсического действия;**
- **усиление ожидаемых видов активности (противовоспалительной, жаропонижающей, анальгезирующей);**
- **создание селективных ингибиторов циклооксигеназы-1 (COX-1) и циклооксигеназы-2 (COX-2);**
- **создание салицилатов с новыми видами биологического действия**

ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ФТОРА В БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

Близкий размер атомов Н и F	Химическая мимикрия
Высокая прочность связи С - F	Обрыв метаболических процессов
Высокая электро-отрицательность атомов F	Водородные связи R-X-H....F-R по типу Нуклеотиды-ДНК
Высокая растворимость в липидах	Облегченный транспорт через мембраны клеток



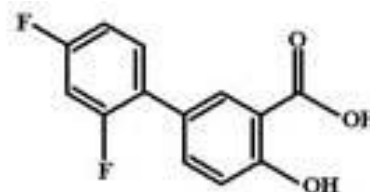
T.A. Evans, K.R. Seddon, Chem. Commun. 1997, p. 2023-2024.

E. A. Meyer et. al. Angew. Chem. Int. Ed. 2003, V. 42, N. 11, P. 1210-1250

Фторорганические соединения на фармацевтическом рынке

- фторорганические соединения играют важную роль в современном мире при разработке биологически активных веществ для фармацевтического рынка;
- около 20 % лекарственных препаратов, используемых в клинической практике, содержат, по крайней мере, один атом фтора.
- среди самых продаваемых лекарств 4 группы соединений, имеющих ароматический атом фтора: статины (Липитор, Крестор, Vytorin, Zetia), антидепрессанты (Лексапро), нейролептики (Рисперидон) и антибиотики фторхинолонового ряда (Пефлоксацин, Офлоксацин, Ципрофлоксацин, Левофлоксацин и др.).

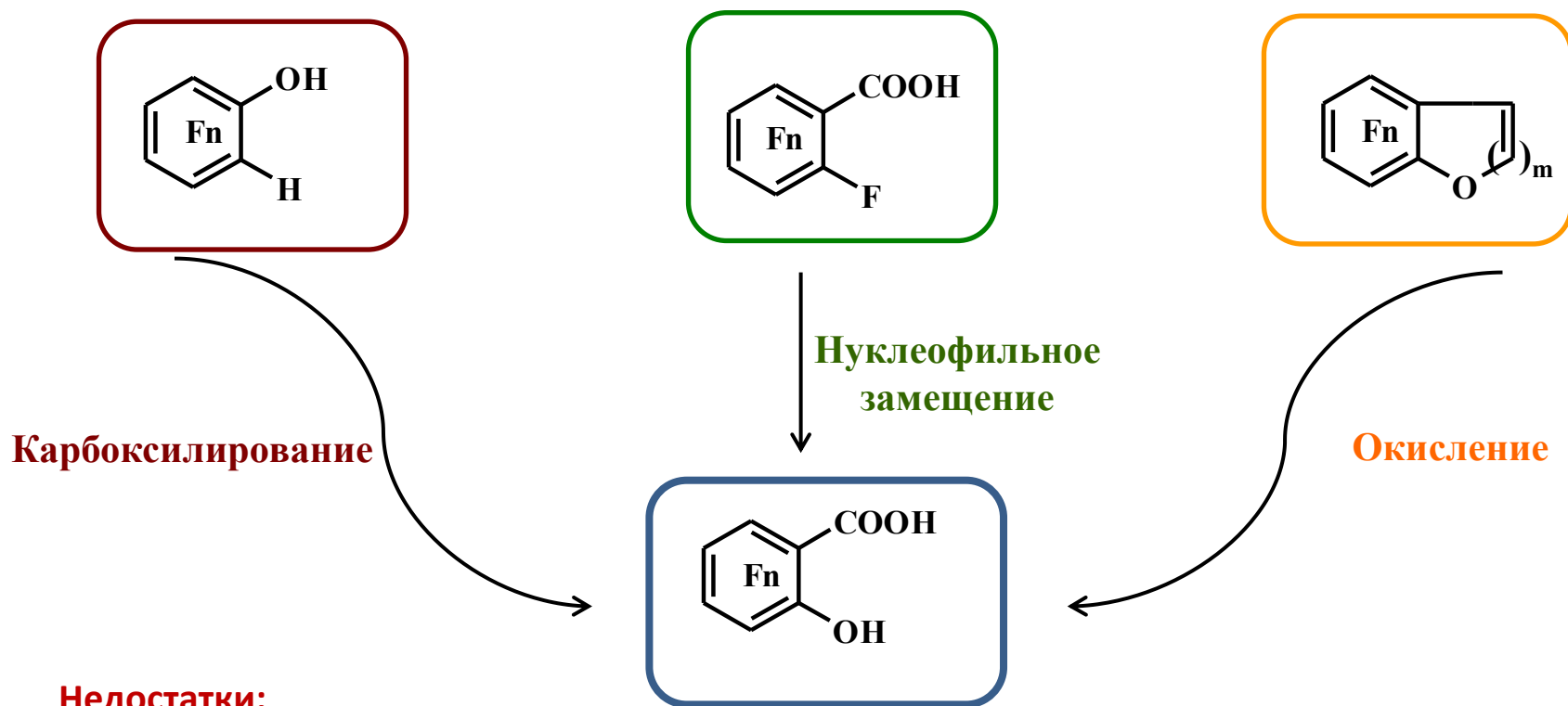
**Лекарственные препараты на
основе фторпроизводных
салициловой кислоты**



Дифлунизал
(остеоартрит, ревматоидный артрит)

Известные методы синтеза полифторсалициловых кислот

9



Недостатки:

- использование труднодоступных и дорогих исходных соединений;
- сложное аппаратное оформление процесса низкотемпературного синтеза, обусловленное необходимостью строгого контроля температуры реакции
- сложное выделение целевых продуктов, сопровождающееся низкими или средними выходами.

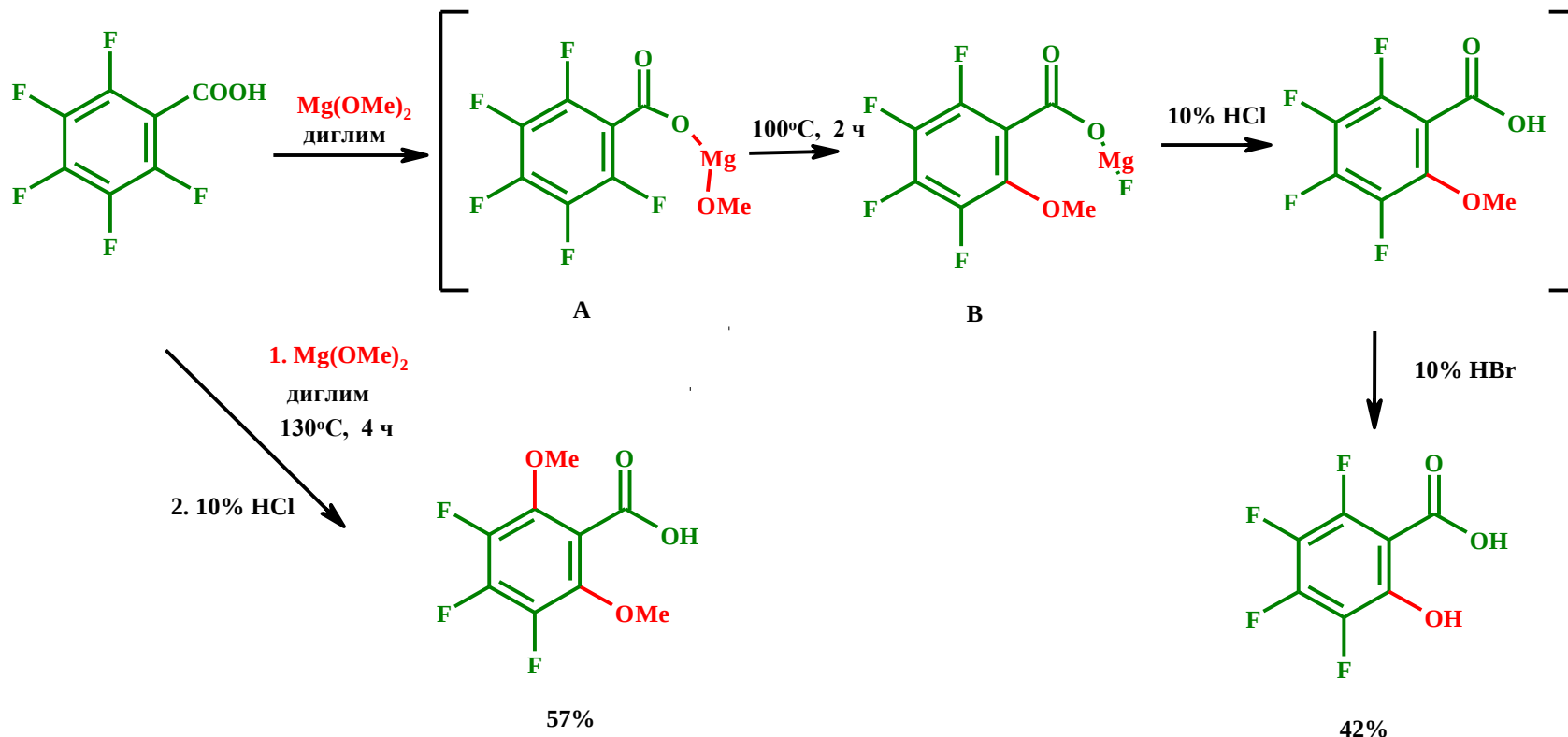
G.M. Brooke, B.S. Furniss, J. Chem. Soc. 1967, 869; K. Sung, R.J. Lagow, J. Mater. Chem. 1996, 6, 917;

U. Kazuto, T. Fumiya, K. Yoshikazu, J. Fluor. Chem. 2003, 121, 97;

E. Marzi, J. Gorecka, M. Schlosser, Synthesis, 2004, 1609;

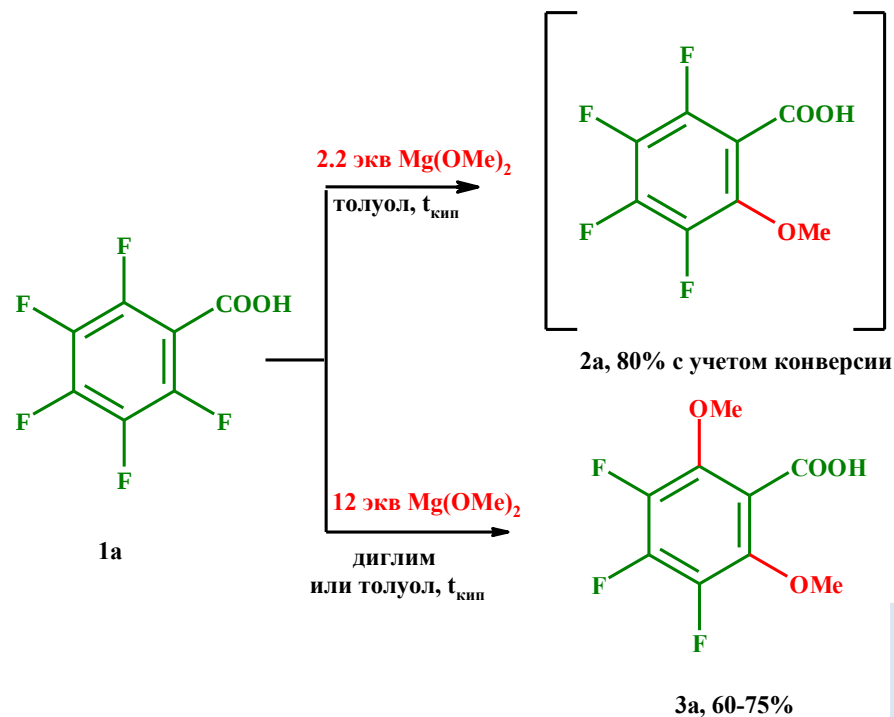
A.T. Prudchenko, L.P. Vovdenko, V.A. Barkhash, N.N. Vorozhtsov, Jr., Chem. Heterocycl. Comp. 1968, 698.

Синтез тетрафторсалициловой кислоты нуклеофильным *орто*-замещением атома фтора



Оптимизация метода синтеза тетрафторсалициловой кислоты

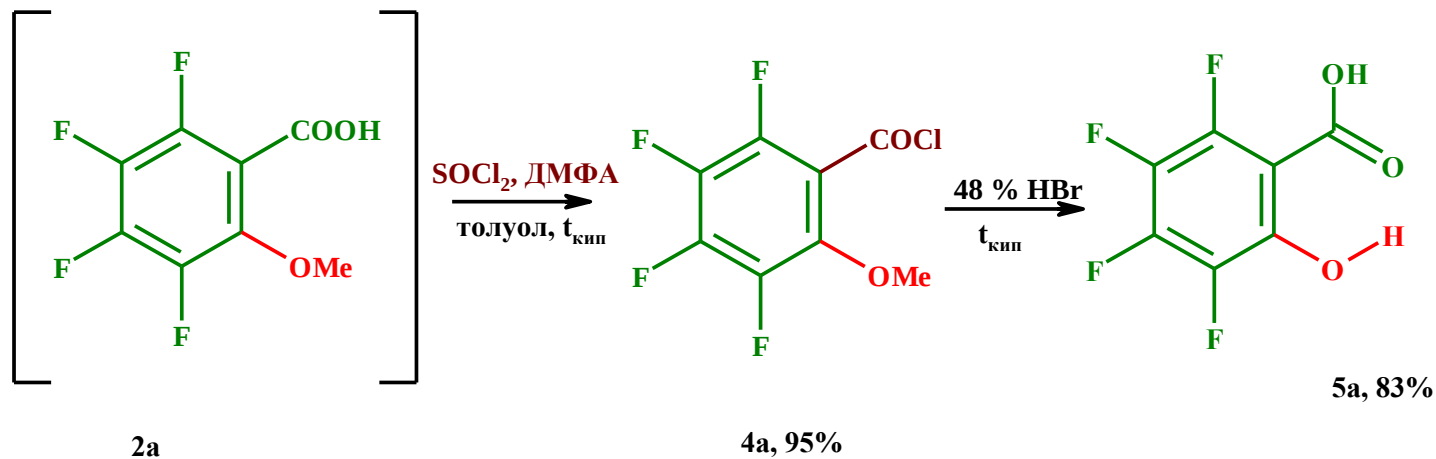
11



Оптимизация условий орто-метоксилирования
тетрафторбензойной кислоты (1a).

Растворитель	$\text{Mg}(\text{OMe})_2$, экв.	Соотношения соединений, % по данным ^{19}F ЯМР спектроскопии		
		Исходная кислота 1a	o-Метокси кислота 2a	Дизамещенная кислота 3
диглим	12	0	25	75
толуол	12	0	15	85
	5	2	35	63
	3	12	63	25
	2.5	14	76	10
	2	26	65	8
	1	51	46	3

Модификация метода синтеза тетрафторсалициловой кислоты



$$\eta_{\text{общ}} = 65\%$$

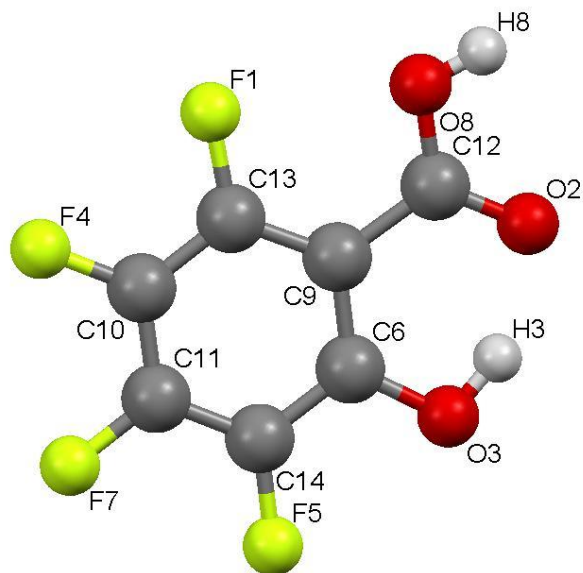
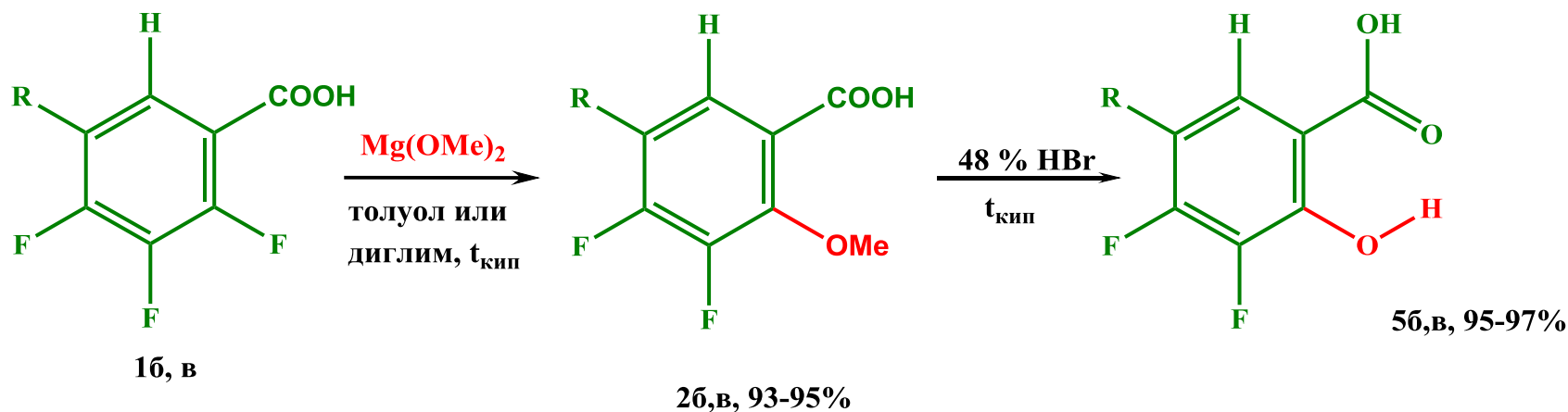


Рис. Структура тетрафторсалициловой кислоты по данным РСА



Синтез 3,4,5-трифторсалициловой кислоты

13

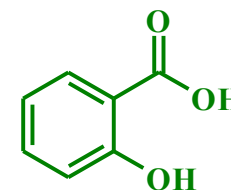


R = F (б), H (в)

$\eta_{\text{общ}} = 90-93\%$

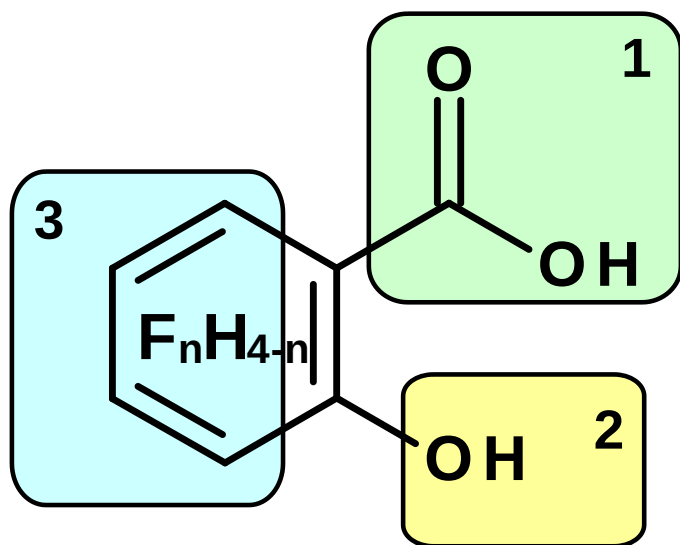
Достоинства метода:
коммерчески доступные
полифторбензойные кислоты;
легкость выделения;
высокие ходы целевых продуктов

Нефторированный аналог



Салициловая кислота

Возможности полифторсалициловых кислот для химической модификации



Химические превращения:

1. Карбоксильная группа

- образование солей,
- образование ангидридов,
- образование сложных эфиров,
- образование амидов,
- образование кетонов,
- образование бензиловых спиртов,
- образование альдегидов

2. Гидроксильная группа

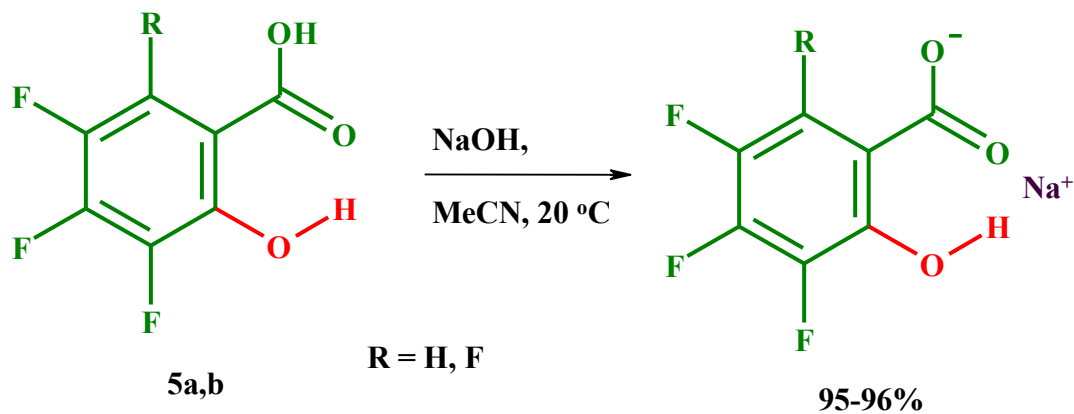
- образование простых эфиров,
- образование сложных эфиров

3. Полифторароматическое кольцо

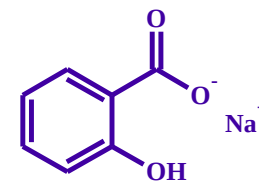
- введение различных группировок через замещение атомов фтора

Синтез полифторсалицилатов натрия

15

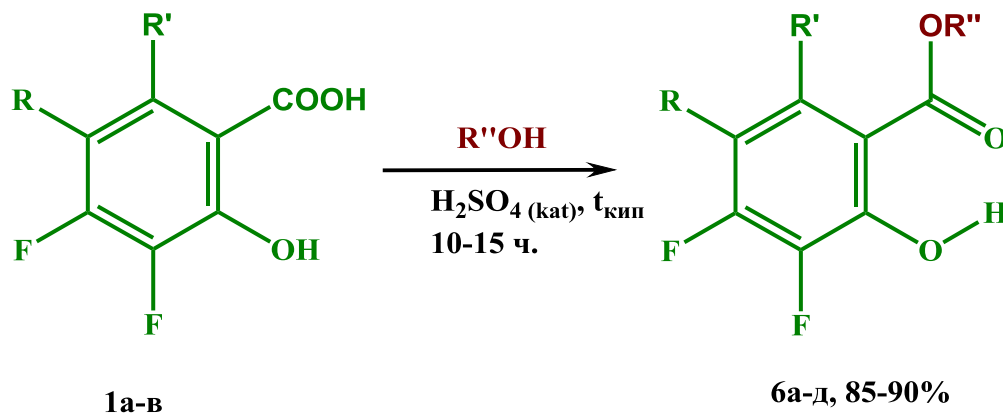


Нефторированный аналог



Салицилат натрия

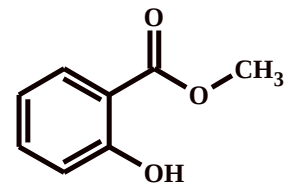
Химические трансформации полифторсалициловых кислот. Образование сложных эфиров



6: R, R' = F, R'' = Me (а), Et (б); R=F, R' = H, R'' = Me (в), Et (г);
R, R' = H, R'' = Me (д)

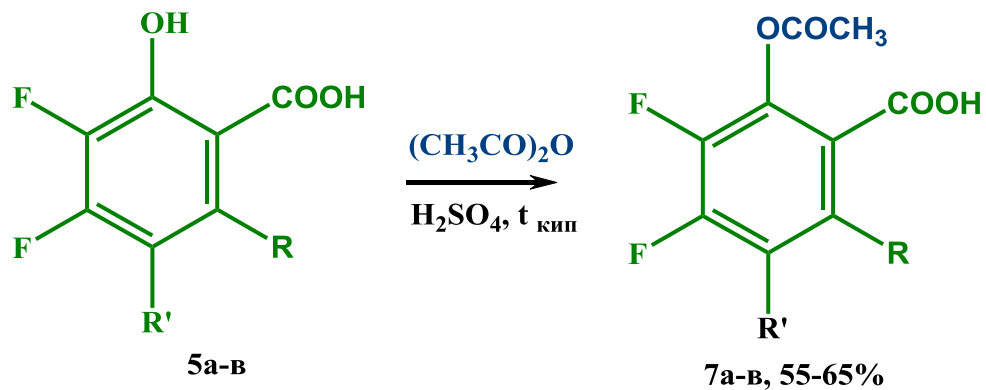


Нефторированный аналог



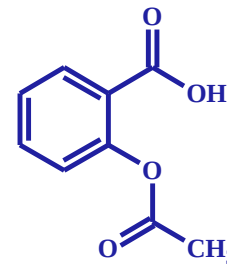
Метилсалицилат

Реакция ацилирования полифторсалициловых кислот. Синтез полифторированных аспиринов

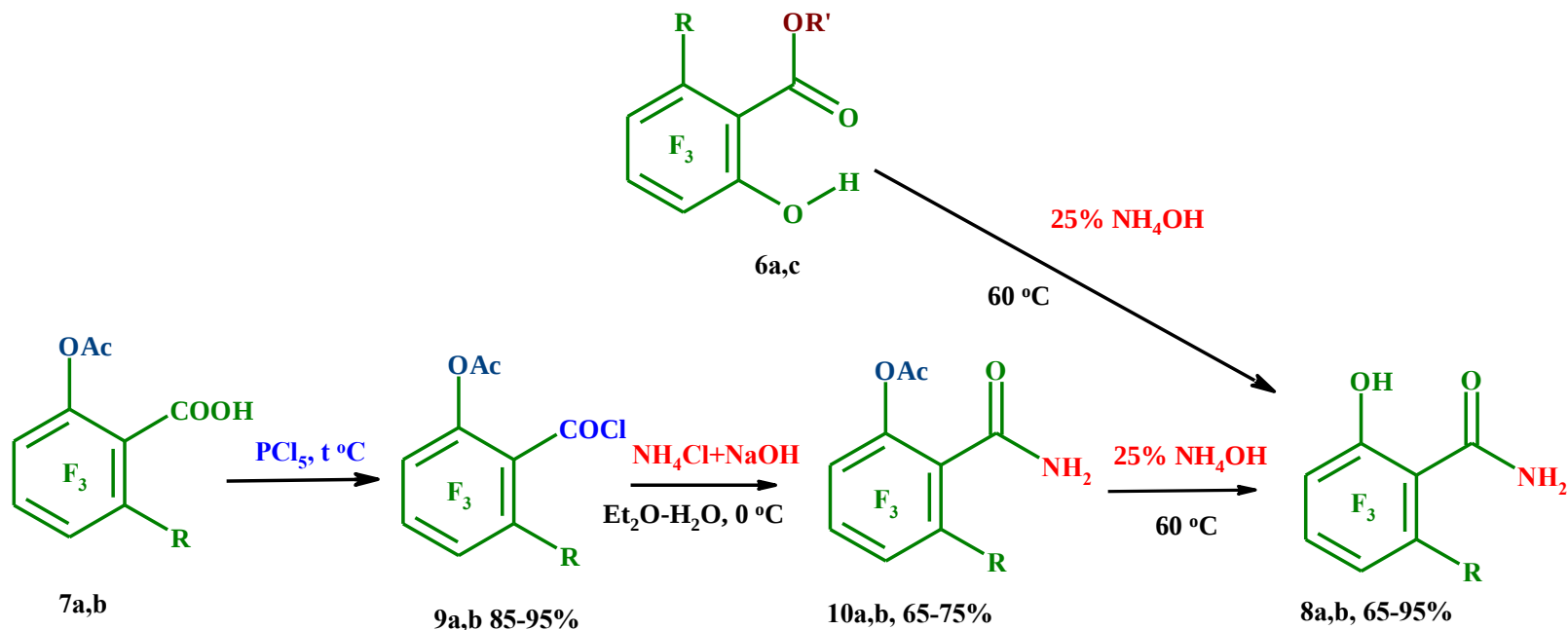


R, R' = F (a); R = H, R' = F (б), R, R' = H (в)

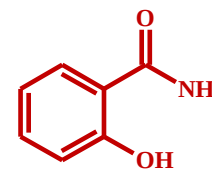
Нефторированный аналог



Ацетилсалициловая
кислота

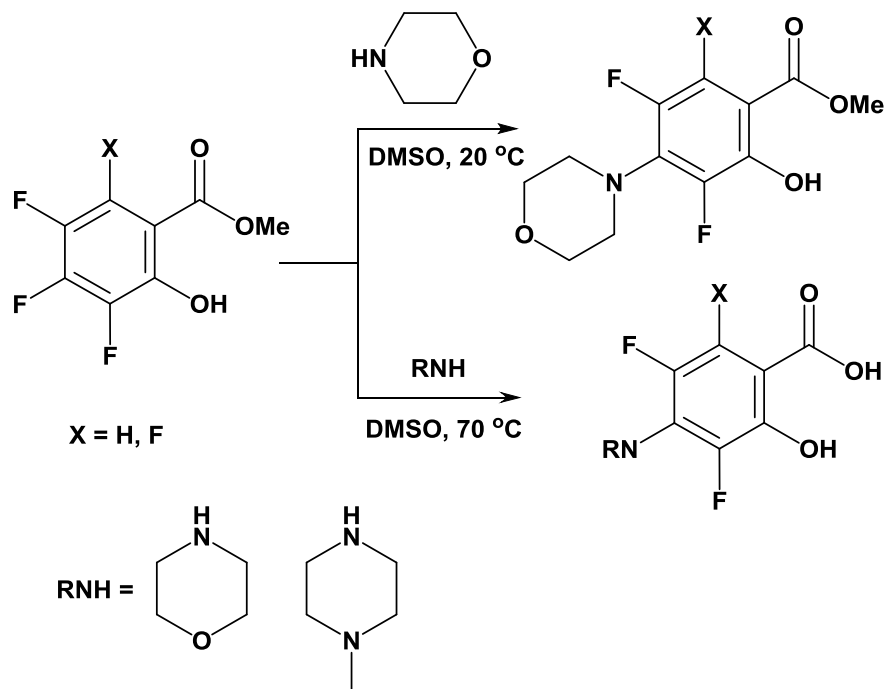
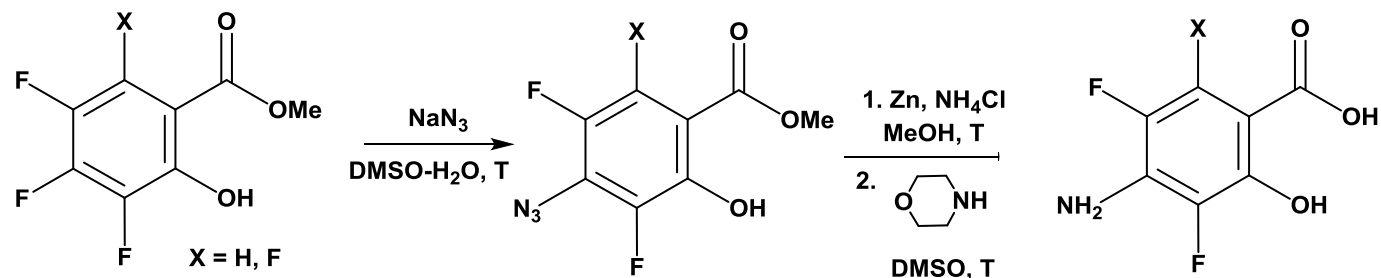


Нефторированный аналог

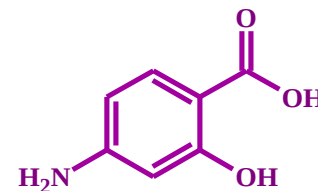


Салициламид

Синтез *p*-амино- и азгетерил-полифторсалициловых кислот



Нефторированный аналог



Пара-аминосалициловая кислота

Оценка биодоступности фторированных салицилатов.

Расчет коэффициента липофильности

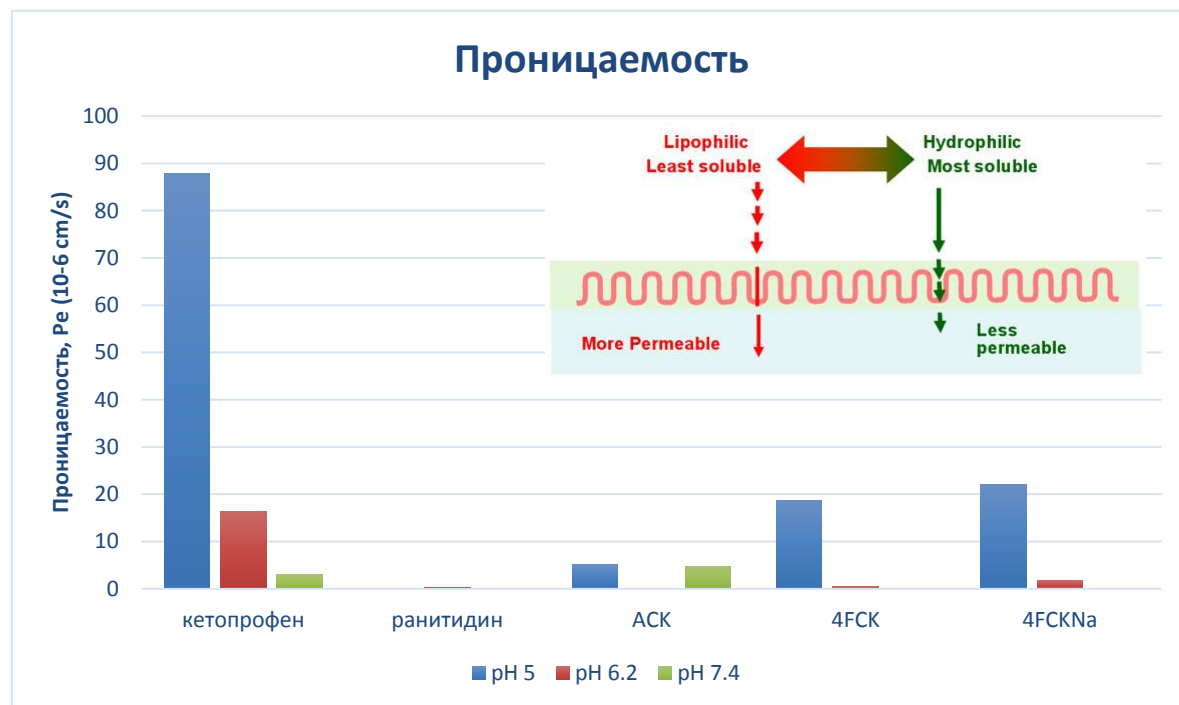
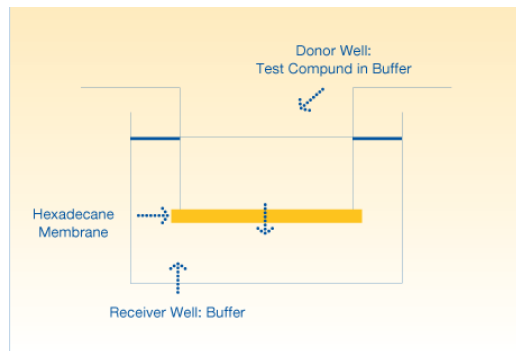
Расчетные величины $\log P/\text{clogP}$ для фторированных производных значительно выше, чем соответствующих нефторированных аналогов.



Величины $\log P/\text{clogP}$ рассчитаны с помощью компьютерной программы для расчета липофильности с использованием ChemDraw (из пакета ChemBioDraw Ultra 13.0.2.302)

Способность фторированных салицилатов проходить через биологические мембраны

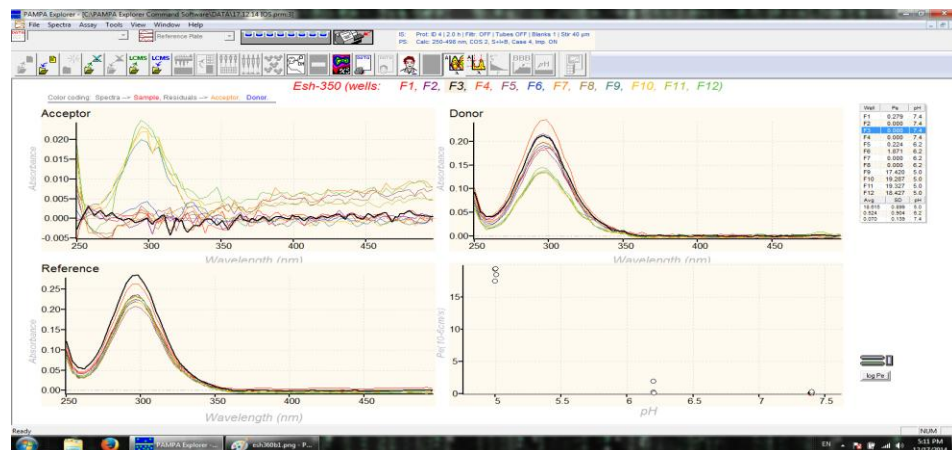
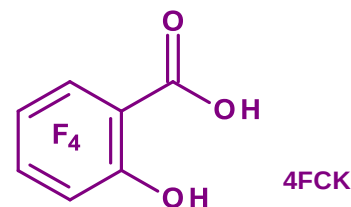
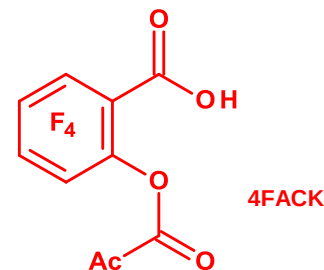
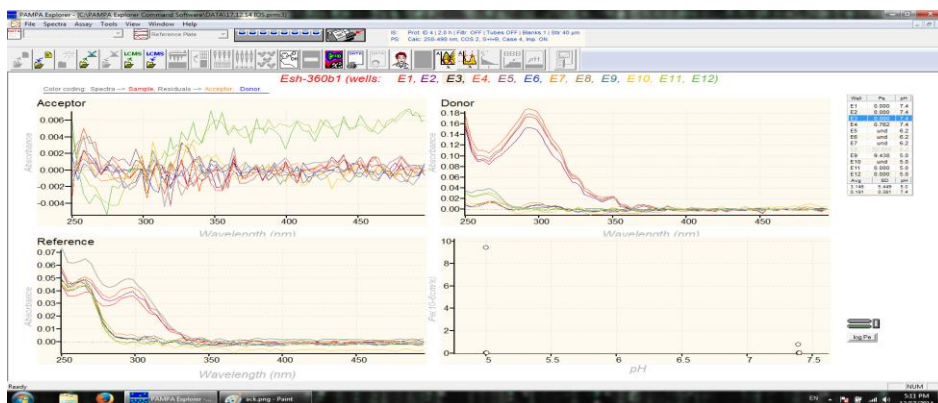
- Оценка способности проходить через модельные мембраны путем пассивной диффузии по градиенту концентраций при различных pH (метод PAMPA (Parallel Artificial Membrane Assay)).
- Тетрафторсалициловая кислота (4FCK) и ее натриевая соль (4FCKNa) эффективно проходят через мембрану при pH 5, причем величина проницаемости в 2-3 раза выше, чем для АСК, следовательно, фторированные производные впитаются в соответствующей среде GIT более эффективно, чем АСК.



Особенности поведения полифторированных аспиринов при эксперименте РАМРА

22

- Рассчитанные $\log P/\text{clog} P$ для три- и тетрафторАСК не коррелируют с данными величин проницаемости, полученными в эксперименте РАМРА.
- Тетра- и трифторацетилсалициловые кислоты (4FACK и 3FACK) в условиях эксперимента гидролизуются до полифторсалициловых кислот (4FCK и 3FCK)



Противовоспалительная активность

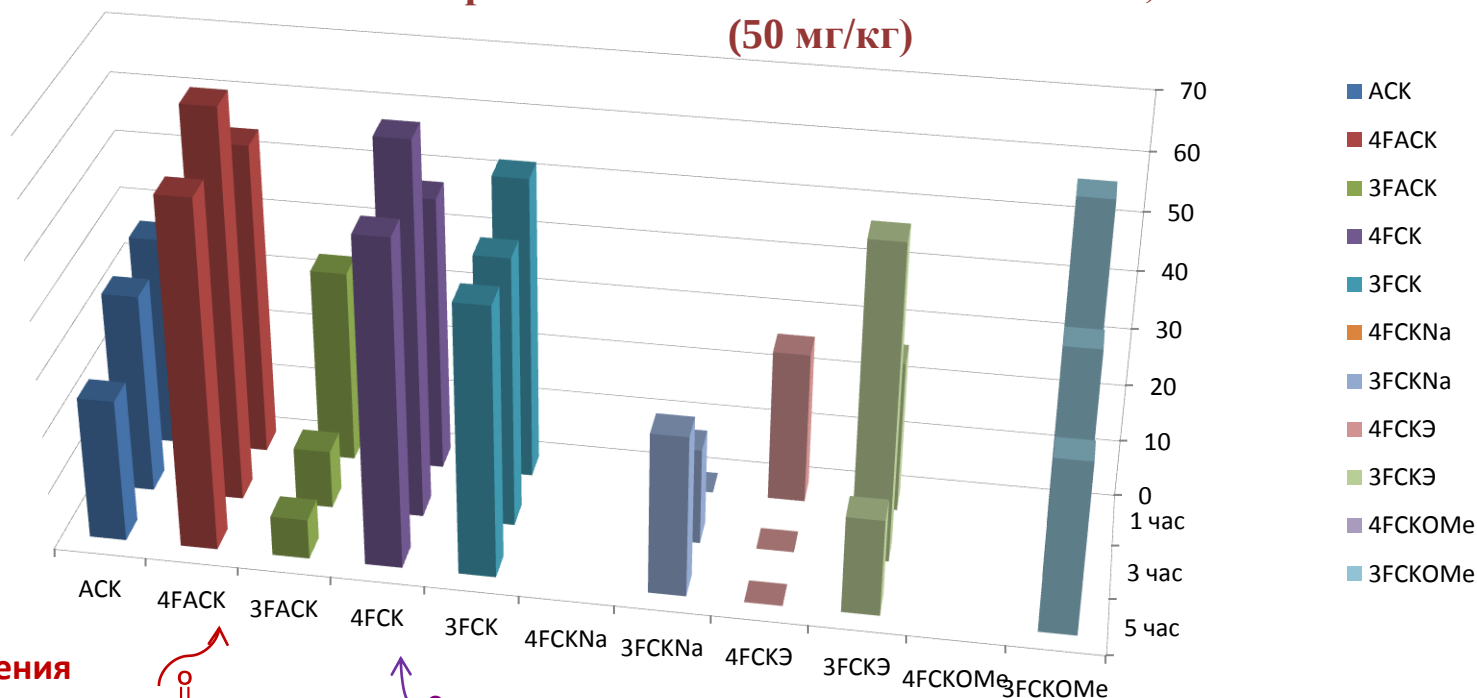
Оценка на модели острого экссудативного воспаления in vivo (крысы)
путем субплантарного введения каррагинина, вызывающего отек лапки
крысы



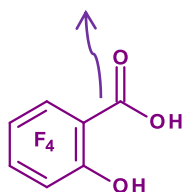
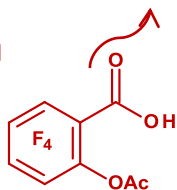
Противовоспалительная активность

- на 1 час после введения препарата противовоспалительный ответ зависит от структуры соединений;
- на 3 ч эксперимента наблюдалось значительное действие большинства соединений;
- на 5 ч результаты зависят от структуры соединений, но слабее, чем на 3 час.

Противовоспалительная активность, %
(50 мг/кг)



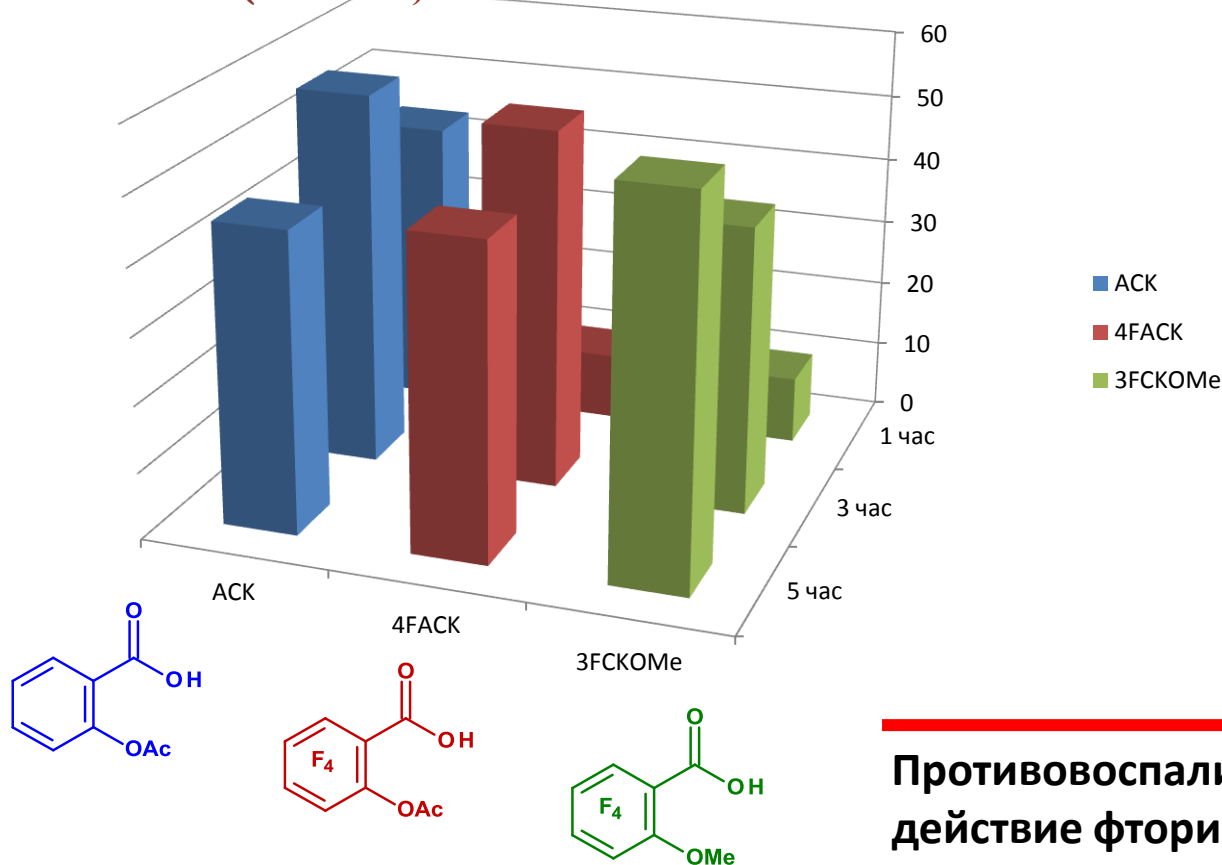
Соединения
-лидеры:



Тетрафторсалициловая кислота (4FCK) и её ацетильное производное (4FACK) обладают выраженным противовоспалительным действием, сопоставимым с действием аспирина и других НПВП

Противовоспалительная активность

противовоспалительная активность, %
(25 мг/кг)



Противовоспалительное действие фторированных салицилатов и аспирина в дозе 25 мг/кг сопоставимы

Анальгетическая активность



тестируемые соединения, 25 мг/кг
аспирин, 25 мг/кг
2% крахмальная слизь
внутрибрюшинно



Крысы CD и Wistar
самки 250-300 г

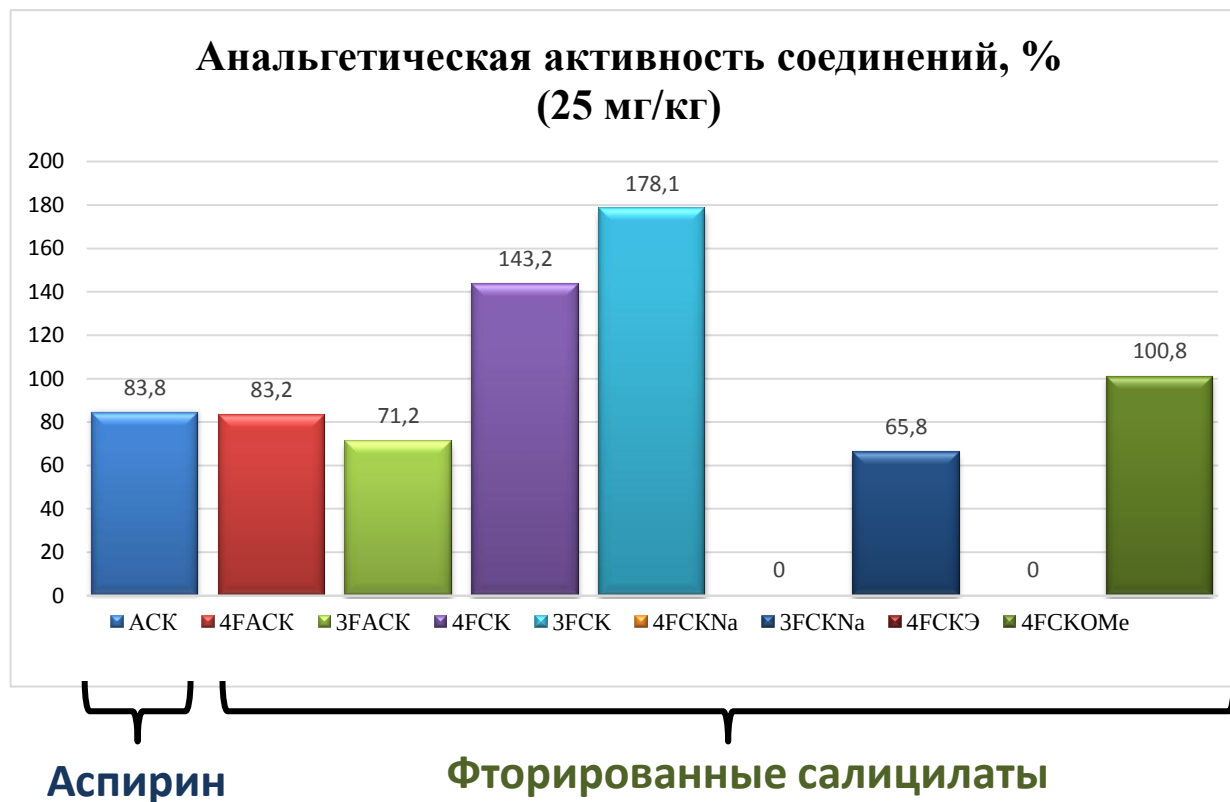


50 °C

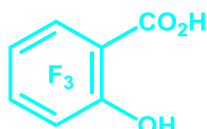
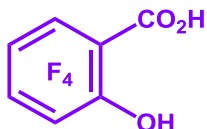


Установка «горячая
пластинка» Hot Plate
Advanced (602000-
HP-AD)

Анальгетическая активность

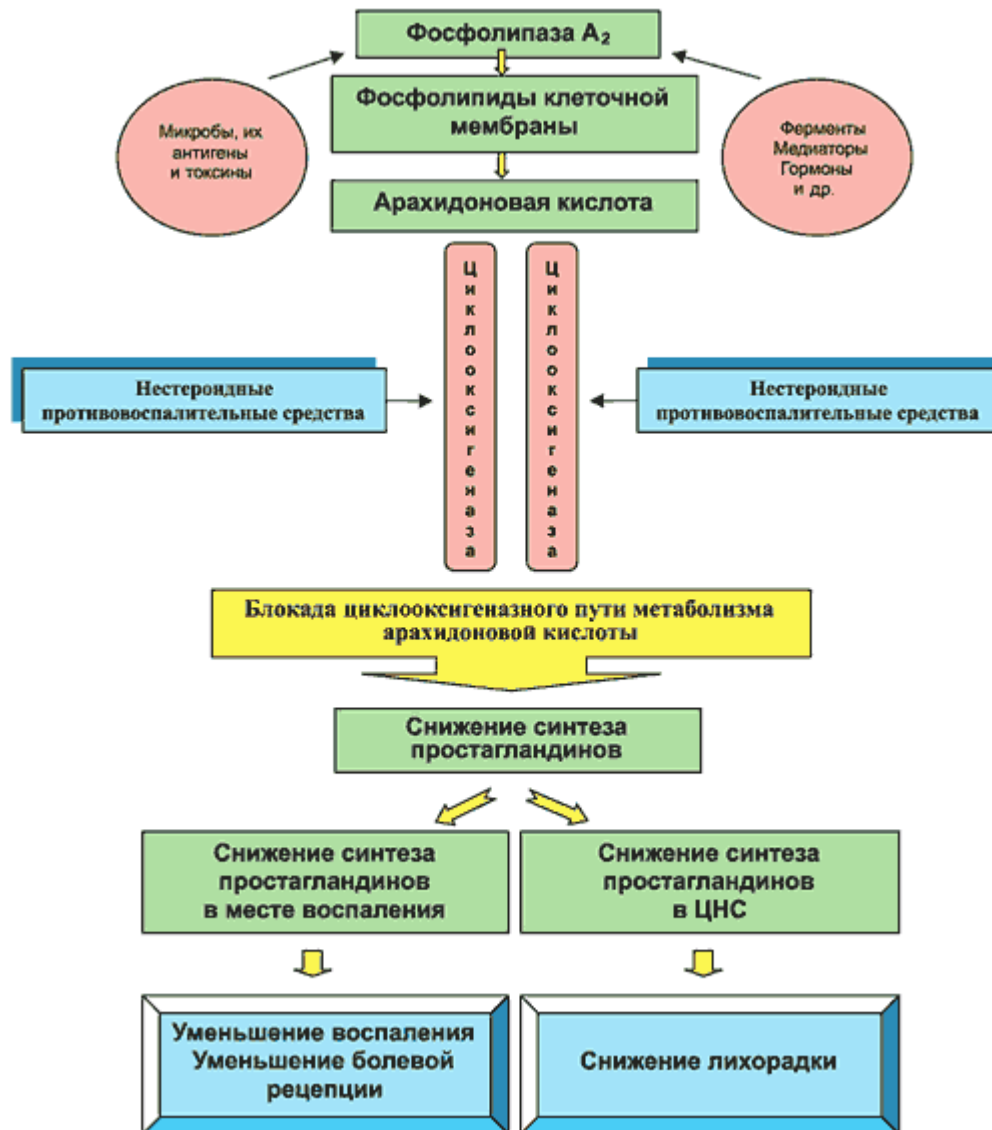


**Соединения
-лидеры:**



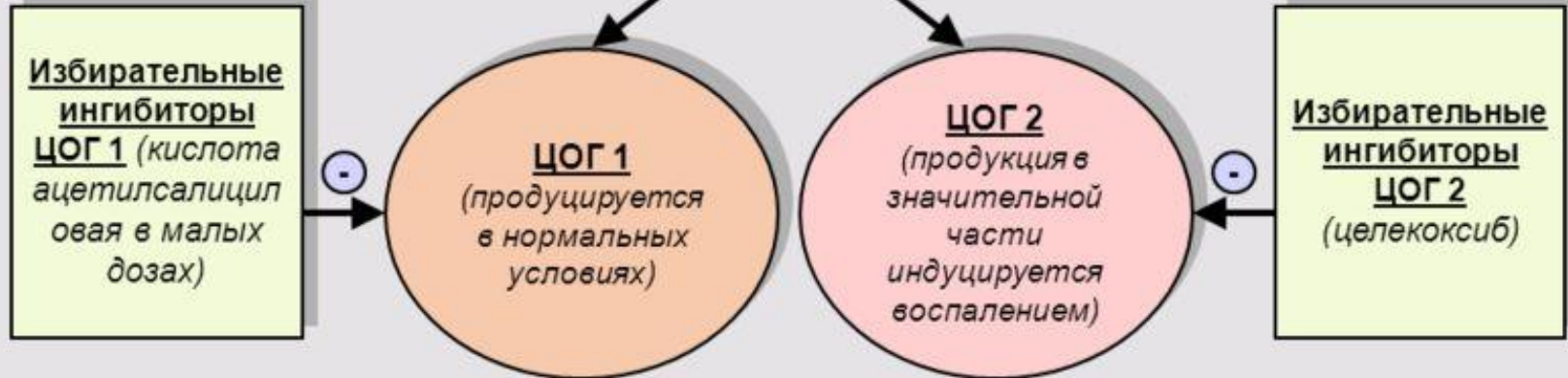
**Фторированные салициловые кислоты
отличает высокая анальгетическая
активность**





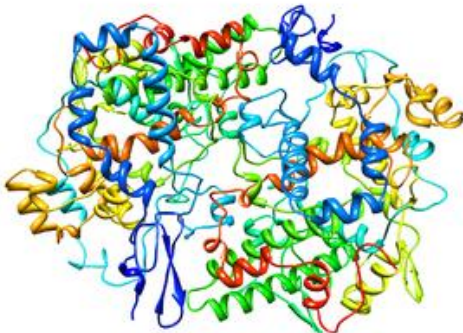
Подтипы ЦОГ

Неизбирательные ингибиторы ЦОГ (кислота ацетилсалициловая, индометацин, пироксикам, диклофенак-натрий, ибупрофен)



Агрегация тромбоцитов,
тонус сосудов, функция
почек, гастропротекторное
действие

Воспаление, боль,
лихорадка

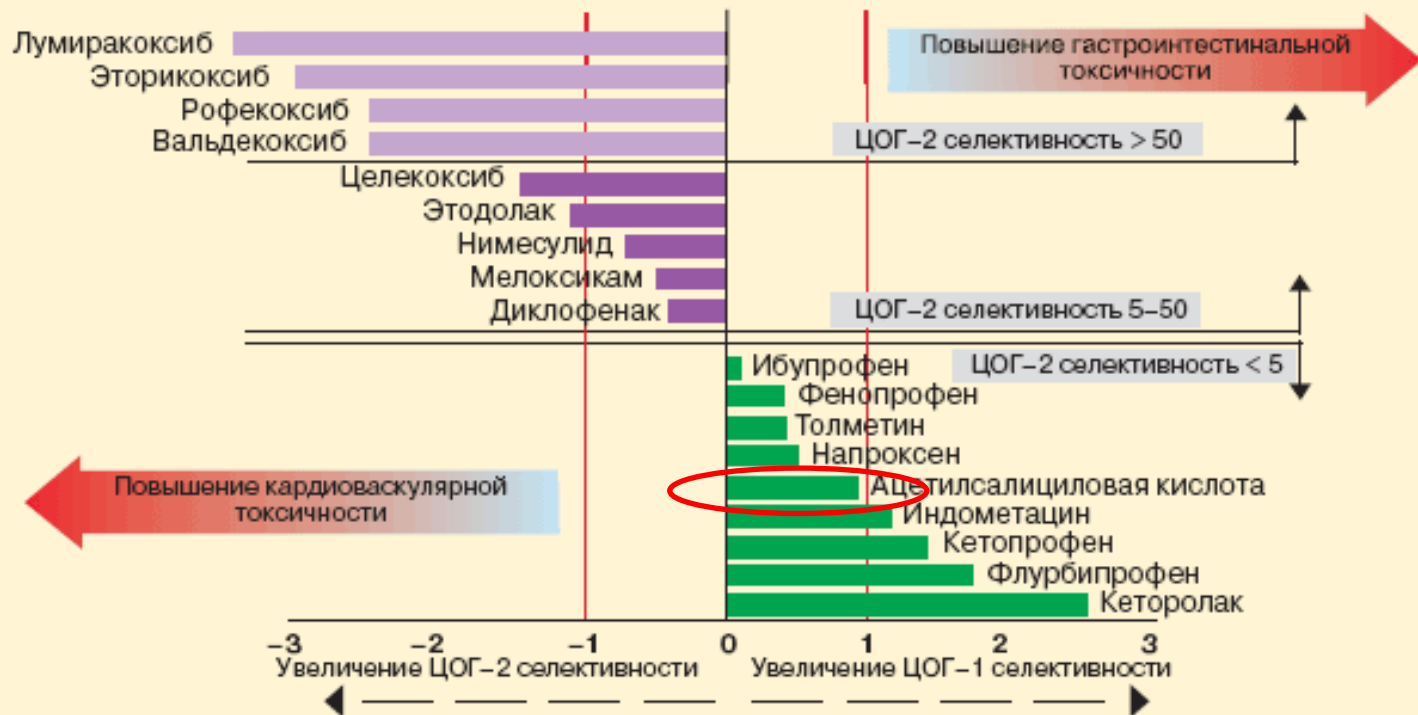


ЦОГ-1



ЦОГ-2

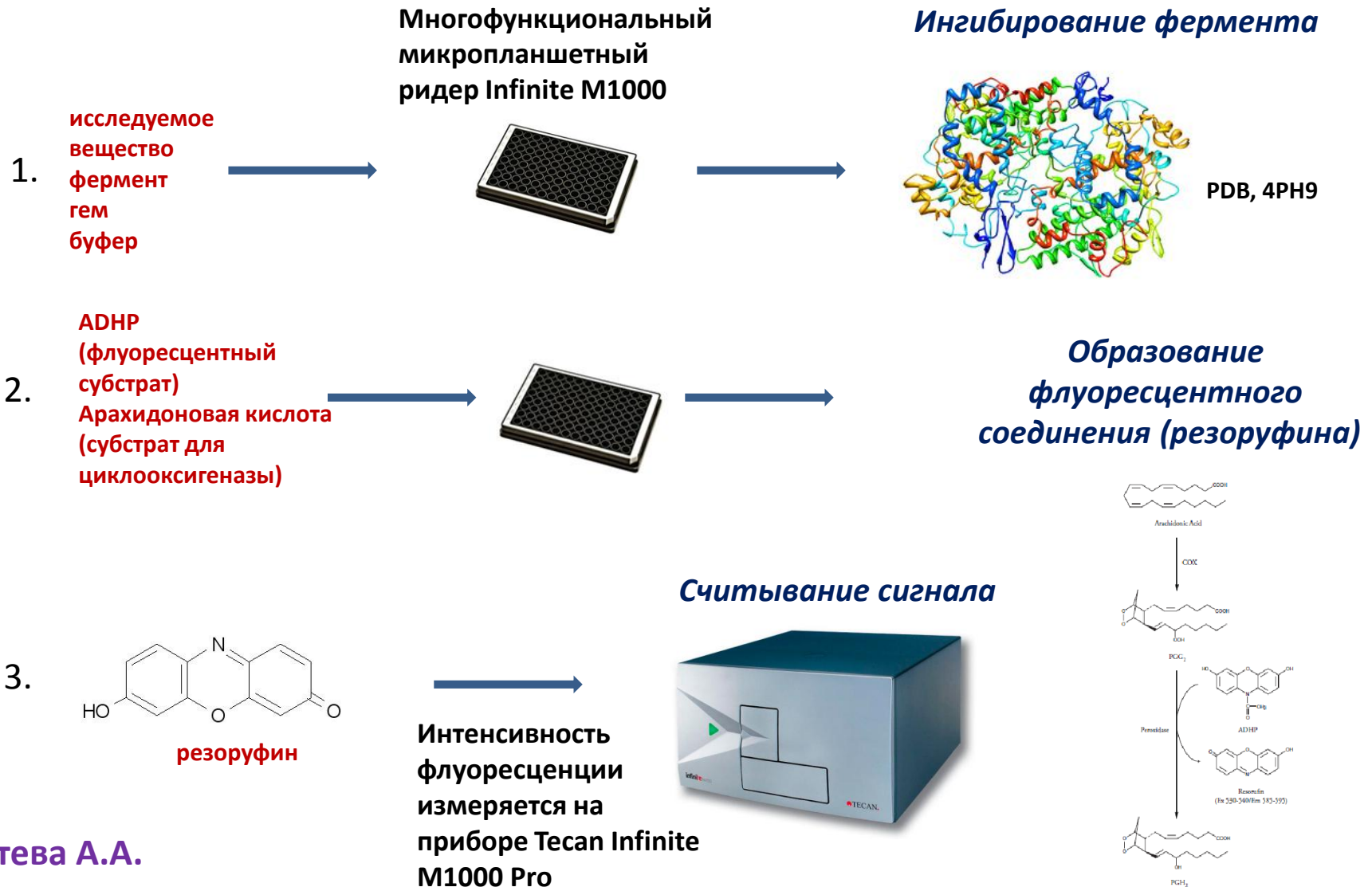
Селективность



Распределение препаратов по степени селективности в отношении ЦОГ-1 и ЦОГ-2 ($\log_{10} IC_{50} COX-2/COX-1$)

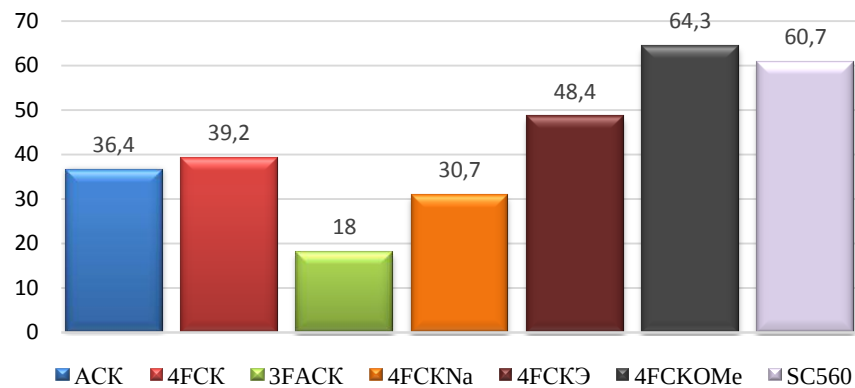
Рис. 1. Распределение НПВП по степени селективности в отношении ЦОГ-1 и ЦОГ-2 (Wamer et al. FASEB J. 2004, 18: 790–804 [27])

Ингибирование ЦОГ-1: схема эксперимента

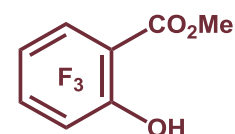
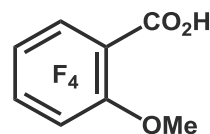


Способность полифторированных салицилатов ингибировать ЦОГ-1

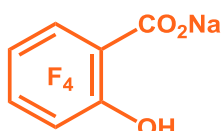
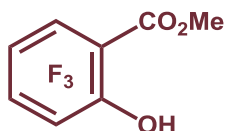
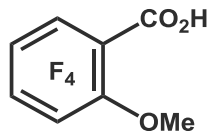
Ингибирование ЦОГ-1 (200mM), %



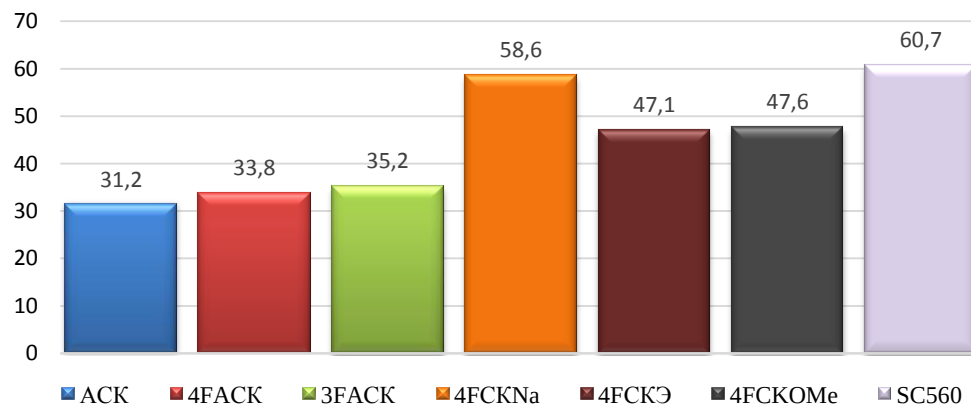
Соединения
-лидеры:



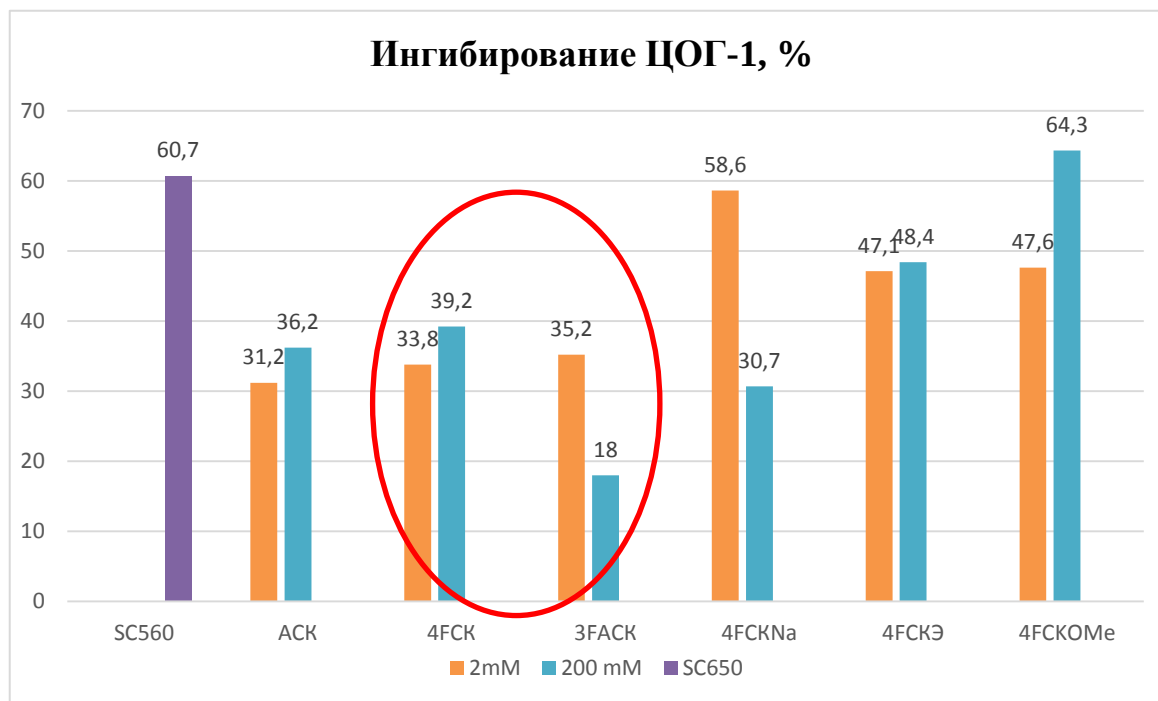
Соединения-лидеры:



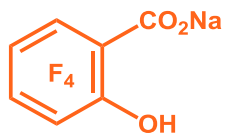
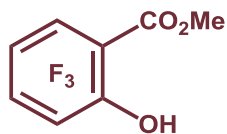
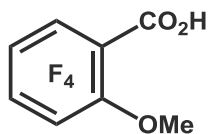
Ингибирование ЦОГ-1 (2mM), %



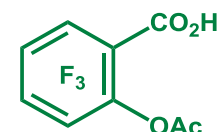
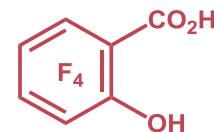
Ингибиторная активность полифторированных салицилатов по отношению к ЦОГ-1 в различных концентрациях



Соединения – ингибиторы ЦОГ-1:

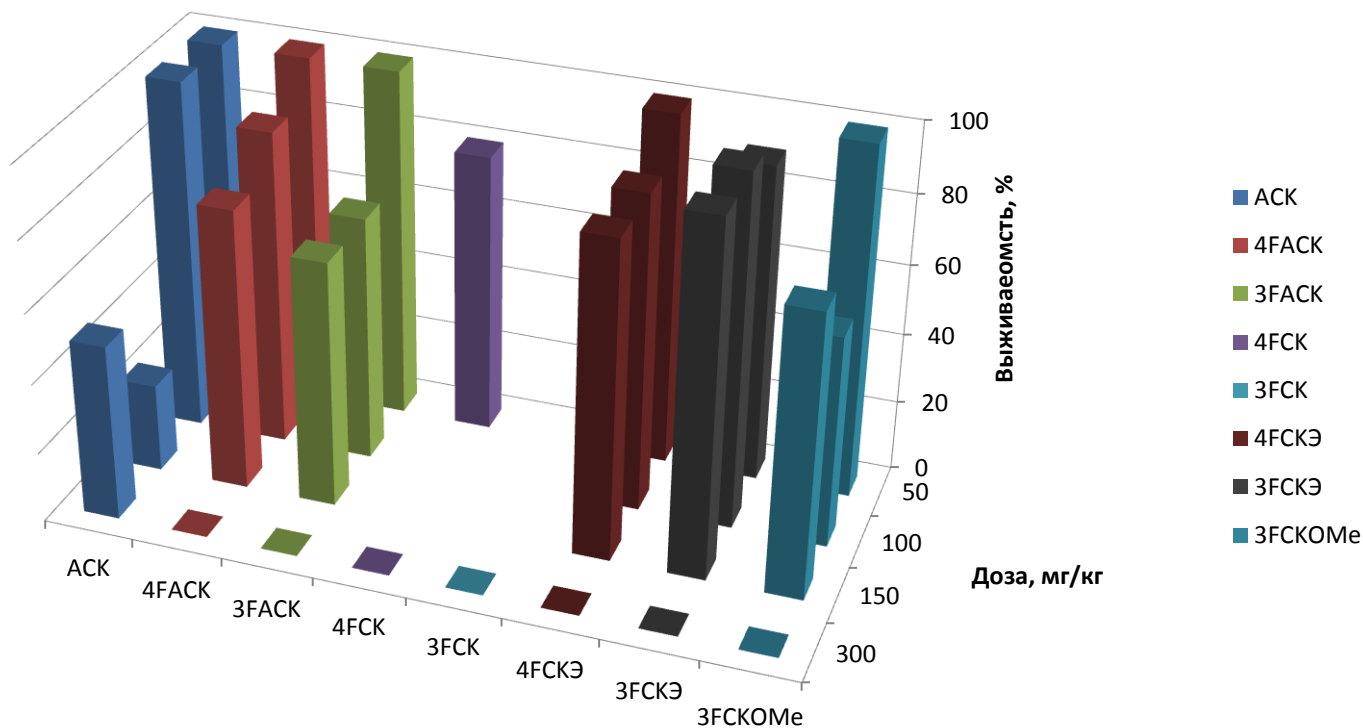


Соединения-лидеры в опытах in vivo:



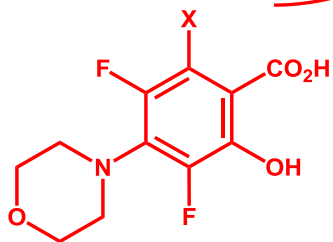
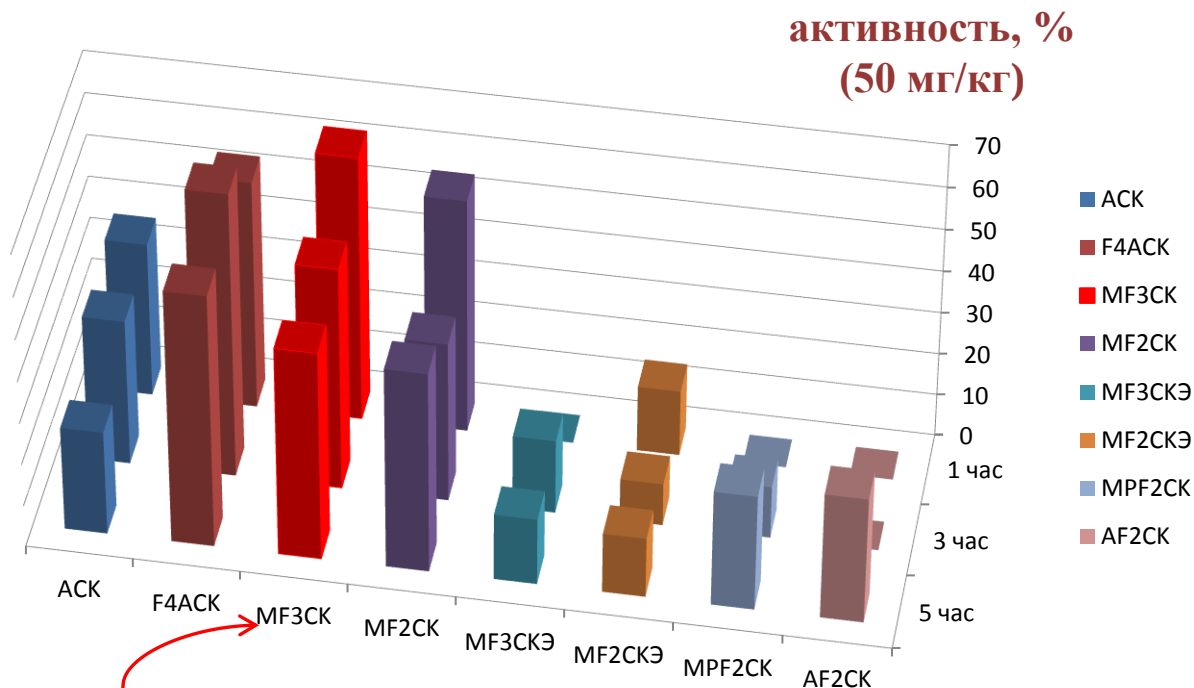
Острая токсичность полифторированных салицилатов

Токсичность соединений



В дозах до 200 мг/кг острая токсичность полифторсалицилатов сопоставима с токсичностью нефторированных салицилатов

Противовоспалительная активность аминопроизводных полифторсалицилатов

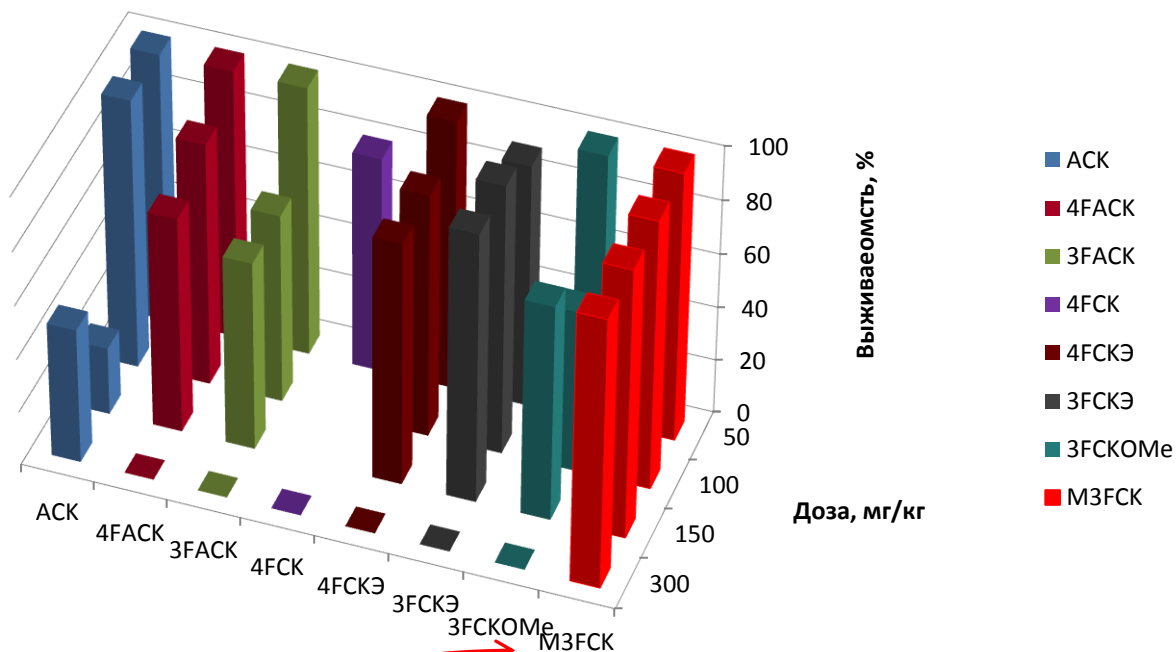


4-Морфолинзамещенные полифторсалицилаты сочетают высокое противовоспалительное действие с низкой токсичностью.

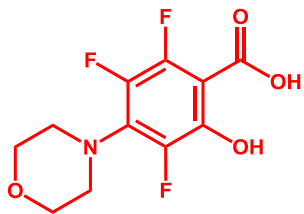


Острая токсичность полифторированных салицилатов

Токсичность соединений



Для 4-морфолинотрифторсалициловой кислоты
выживаемость мышей в дозе 300 мкг/кг 100%



Заключение

- 1. Полифторированные салициловые кислоты – доступные реагенты для химических модификаций и биологических исследований**
- 2. Полифторсалицилаты обладают большей способностью к проникновению через биологические мембраны**
- 3. Противовоспалительная активность полифторсалицилатов на уровне АСК (аспирина)**
- 4. Анальгезирующий эффект полифторсалициловых кислот сильнее, чем у АСК, сравнимый с действием диклофенака**
- 5. Острая токсичность полифторсалицилатов может быть понижена в результате замещения атома фтора на фармакофорный остаток**



Спасибо за внимание!

Будьте здоровы!

Проблематика дальнейших исследований



- Фторированные салициловые кислоты оказались более активными, чем соответствующие соли и ацетильные производные
- Наиболее высокое анальгезирующее действие показали три- и тетрафторсалициловые кислоты (4FCK и 3FCK). Однако ингибирование COX-1 максимально для простых и сложных метиловых эфиров полифторсалициловых кислот (4FCKЭ и 3FCKOMe). Следовательно, ингибирование COX-1 полностью не отвечает за анальгезирующее действие 4FCK и 3FCK, существует дополнительная мишень, возможно COX-2
- 4FCKЭ и 4FCKNa не активно *in vivo*, но проявляют ингибирующую активность по отношению к COX-1 *in vitro* выше таковой у АСК, возможно, из-за другого механизма ингибирования фермента (не ацетилирование)