



ИНГИБИТОРНЫЕ СВОЙСТВА АЗОТСОДЕРЖАЩИХ МОНОТЕРПЕНОИДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АДАМАНТАНА В ОТНОШЕНИИ ТИРОЗИЛ-ДНК-ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ 1¹

© 2015 г. А. Л. Захаренко*, К. Ю. Пономарев**, Е. В. Суслов**,
Д. В. Корчагина**, К. П. Волчо**, ***, И. А. Васильева*,
Н. Ф. Салахутдинов**, ***, О. И. Лаврик*, ***, #

*ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения РАН, 630090, Новосибирск, пр. академика Лаврентьева, 8

**ФГБУН Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова
Сибирского отделения РАН, 630090, Новосибирск, пр. академика Лаврентьева, 9

***Новосибирский государственный университет, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 2

Поступила в редакцию 30.03.2015 г. Принята к печати 29.06.2015 г.

Обнаружено, что соединения, сочетающие диазаадамантовый и монотерпеноидный фрагменты, могут являться ингибиторами очищенного рекомбинантного фермента репарации ДНК тирозил-ДНК-фосфодиэстеразы 1 человека (Tdp1). Показано, что некоторые из этих соединений являются эффективными ингибиторами нового структурного типа фермента Tdp1, обнаружена тенденция к увеличению эффективности ингибирования при удлинении алифатической цепочки и повышении гибкости заместителя.

Ключевые слова: диазаадамантан, монотерпен, тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1, ингибитор репарации ДНК.

DOI: 10.7868/S0132342315060196

ВВЕДЕНИЕ

Тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1 (Tdp1) является перспективной мишенью для лечения онкологических и нейродегенеративных заболеваний [1]. Tdp1 относится к классу фосфодиэстераз – ферментов, расщепляющих фосфодиэфирные связи [2]. Природный мутант этого фермента SCAN1 вызывает тяжелое нейродегенеративное заболевание – синдром спиноцереbellарной атаксии и нейропатии [3].

Tdp1 играет важную роль в удалении повреждений ДНК, создаваемых топоизомеразой 1 (Top1), ее ингибитором камптотечином и антираковыми препаратами [4]. Невозможность восстановить целостность ДНК в ходе акта катализа, осуществляемого Top1, приводит к образованию ковалентного аддукта Top1-ДНК с токсичным для клетки одноцепочечным разрывом ДНК. Tdp1 расщепляет 3'-диэфирную связь между остатком тирозина и 3'-концом ДНК, а также удаляет другие повреждения с 3'-конца ДНК (см. [5], включая ссылки, и [6]). Таким образом, ингибирование Tdp1

может увеличить терапевтический эффект ингибиторов Top1 [7, 8]. Предполагается, что именно Tdp1 ответственна за лекарственную устойчивость некоторых видов рака [9, 10]. Таким образом, сочетание препаратов, воздействующих на Top1 и Tdp1, может существенно повысить эффективность химиотерапии.

На сегодняшний день в литературе имеются ограниченные сведения об ингибиторах Tdp1. В качестве таковых названы: общие для семейства фосфолипаз ортованадаты и вольфраматы, проявляющие ингибиторное действие в миллимолярном интервале концентраций [11, 12]; миметики природного субстрата фосфотирозина – “микромолярные” ингибиторы Tdp1 [13]; универсальные ингибиторы Top1/Tdp1 – производные инденоизохинолина, обладающие мощным цитотоксическим эффектом [14], а также ряд ингибиторов различной химической природы, работающих в концентрациях в диапазоне от 0.2 до 5 мкМ [15–18].

Одним из важнейших направлений медицинской химии в настоящее время является создание новых лекарственных средств, в том числе противопухолевых, основанных на синтетических трансформациях природных биологически активных метаболитов, обладающих низкой токсичностью. Достаточно упомянуть, что половина

¹ Статья публикуется по материалам сообщения, представленного на VII Российском симпозиуме “Белки и пептиды”; Новосибирск, 12–17 июля 2015 г.

Автор для связи (e-mail: lavrik@niboch.nsc.ru).

лекарств, внедренных в медицинскую практику в период 1981–2010 годов, базируется на природных соединениях [19]. Производные адамантана находят широкое применение в медицинской химии и клинической практике [20, 21]. Введение адамантового фрагмента в биологически активные молекулы нередко приводит к уменьшению токсичности и значительному улучшению терапевтического эффекта. Существенный интерес представляют азотистые аналоги адамантана – диазаадамантаны с расположением атомов азота в узлах молекулы [22–24]. Особенности строения диазаадамантанов приводят к комплексу специфических свойств – как физических, так и химических, например, более высокой растворимости в воде по сравнению с адамантанами, содержащими исключительно углерод и водород. В то же время, примеры изучения биологической активности диазаадамантанов и их производных пока весьма немногочисленны и отрывочны [19, 20, 25].

В представленной работе нами осуществлен синтез ряда соединений, сочетающих диазаада-

мантовый и монотерпеноидный фрагменты, и впервые изучена возможность их использования в качестве ингибиторов Tdp1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из наиболее эффективных методов, приводящих к получению азаадамантанов, содержащих два атома азота в узловых положениях, является конденсация различных кетонов с гексаметилентетрамином (**I**) (схема) [21], в частности, хорошие выходы в этой реакции достигаются с использованием в качестве кетонной компоненты диэтилкетона (**II**). Содержащаяся в диазаадамантаноне (**III**) аминальная метиленовая группа может быть замещена на другой заместитель раскрытием диазаадамантанового цикла под действием уксусного ангидрида с образованием соответствующего биспидинона (**IV**) [26] и последующим его взаимодействием с карбонильными соединениями, например, альдегидами [27].

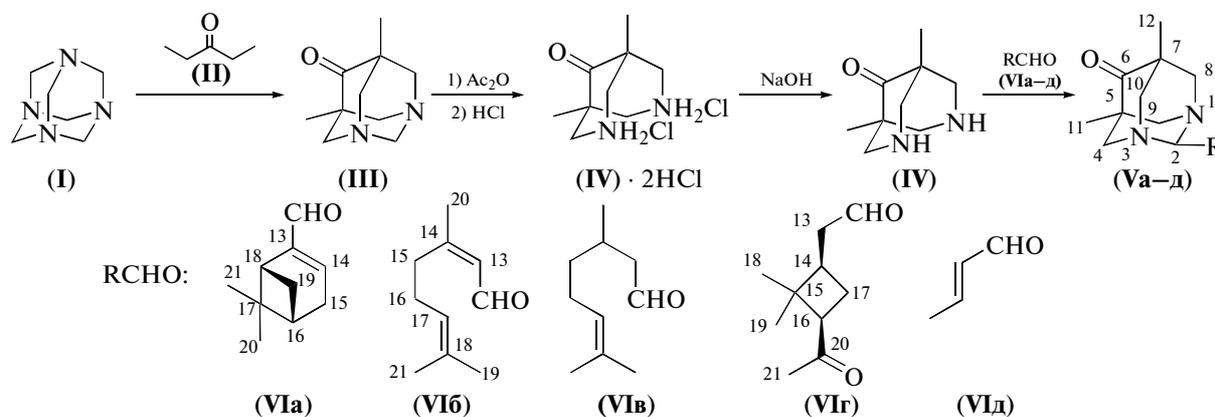


Схема. Синтез соединений (Va–д).

Соединение (**IV**) синтезировали по методике [26] (схема), в качестве альдегидной компоненты использовали монотерпеноиды (–)-миртеналь (**VIa**), цитраль (**VIб**) (смесь *E/Z*-изомеров в соотношении 1 : 1), цитронеллаль (**VIв**), а также 2-((1*R*,3*R*)-3-ацетил-2,2-диметилциклобутил)ацетальдегид (**VIr**), синтезированный озонлизом (–)- α -пинена по методике [28], и, для сопоставления, кротоновый альдегид (**VIд**), не являющийся монотерпеноидом. Полная конверсия исходных реагентов, по данным ГЖХ, в случае ациклических альдегидов (**VIб**), (**VIв**), (**VIд**) и моноциклического альдегида (**VIr**) наблюдалась через 10–30 мин, в случае бициклического альдегида (**VIa**) – через 2 ч. Выходы целевых продуктов составили от 48 до 75%.

Было показано ранее, что Tdp1 способна удалять с 3'-конца олигонуклеотида различные аддукты природного и искусственного происхождения, такие как аналоги апуринового/апириими-

нового сайта, нуклеозиды, аналоги нуклеозидов, фосфогликоляты, фосфотирозин, фосфогистидин (см. обзор [4] и ссылки в нем). В работе [29] была продемонстрирована способность этого фермента отщеплять с 3'-конца ДНК объемные заместители, что в дальнейшем позволило сконструировать биосенсоры для определения активности Tdp1, несущие флуорофор на 5'-конце олигонуклеотида и гаситель флуоресценции на 3'-конце. Поскольку эти группировки расположены в пределах ферстеровского радиуса, флуоресценция флуорофора погашена. При инкубации такой ДНК с ферментом гаситель удаляется с 3'-конца активностью Tdp1, что приводит к разгоранию флуоресценции. Это позволяет следить за активностью фермента.

Ранее нами был сконструирован олигонуклеотид-биосенсор для определения активности Tdp1 в режиме реального времени [18]. В качестве суб-

страта Tdp1 был выбран 16-мерный олигонуклеотид, несущий на 5'-конце донор флуоресценции 5(6)-карбоксихлорофлуоресцеин (FAM), а на 3'-конце — гаситель флуоресценции BHQ1 (Black Hole Quencher-1). Этот подход был использован в данном исследовании для определения активности Tdp1-ингибиторных характеристик синтезированных соединений.

Наиболее эффективными ингибиторами в отношении Tdp1 оказались соединения (**Vb**) и (**Vб**), содержащие остаток цитронеллала или цитраля, соответственно, в положении 2 (значения IC_{50} составили 14.8 ± 1.6 и 16.7 ± 0.6 мкМ, соответственно). При этом соединение (**Vд**), содержащее более короткий и более жесткий остаток кротонного альдегида, не оказывало влияния на активность фермента в концентрации 100 мкМ. Соединение (**Vr**), получаемое из моноциклического альдегида — производного α -пинена, оказало существенно меньшее влияние на активность фермента по сравнению с ациклическими производными (**Vb**) и (**Vб**) (значение IC_{50} для (**Vr**) 67.8 ± 4.6 мкМ). Вероятно, это связано с наличием более жесткого четырехчленного цикла в заместителе соединения (**Vr**) по сравнению с ациклическими производными. Соединение (**Va**) с более объемным бициклическим остатком миртенала не влияло на активность фермента в концентрации 100 мкМ. Таким образом, для проявления ингибиторной активности данных соединений требуется протяженный и гибкий ациклический заместитель в положении 2.

На основании приведенных исследований можно сделать следующие выводы: введение подвижного алифатического заместителя во второе положение диазаадамантанового остова (соединения (**Vб**, **в**)) обеспечивает подавление ими активности фермента в микромолярном диапазоне концентраций, причем наличие двойной связи у аминальной группы не оказывает влияния на ингибиторные свойства; короткий трехзвенный заместитель (**Vд**) или объемный заместитель (**Va**) приводят к ухудшению ингибиторных свойств соединений.

Полученные данные позволяют предложить новый класс соединений — потенциальных сенситизаторов опухолевых клеток к действию противораковых препаратов — ингибиторов Top1. Проведенный анализ ингибиторной активности соединений, подвергнутых направленной модификации, указывает пути оптимальной трансформации их структуры для синтеза более эффективных ингибиторов на основе диазаадамантана.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Химический синтез и характеристика соединений

В работе использовали гексаметилентетрамин, пентан-3-он, кротонный альдегид (Sigma-Aldrich, США); (–)- α -пинен ($[\alpha]_D^{25} = -44$), цитраль (смесь *E/Z*-изомеров в соотношении 1 : 1), цитронеллаль (Alfa Aesar, Великобритания); (–)-миртеналь

($[\alpha]_D^{25} = -14$, SAFC, США); $CDCl_3$ (Acros Organics, Бельгия). Растворители перед использованием сушили и перегоняли.

Спектры ЯМР 1H (δ , м.д.; *J*, Гц) и ^{13}C (δ , м.д.) регистрировали на спектрометре Bruker DRX-500 (Германия) (1H : 500.13 МГц, ^{13}C : 125.76 МГц). В качестве внутреннего стандарта использовали сигналы хлороформа (δ_H 7.24, δ_C 76.90 м.д.). Строение полученных соединений установлено на основе анализа спектров ЯМР 1H и ^{13}C (JMOD) с привлечением спектров двойного резонанса $^1H-^1H$, двумерных спектров гомоядерной $^1H-^1H$ корреляции (COSY) и двумерных спектров гетероядерной $^{13}C-^1H$ корреляции на прямых (COSY, $^1J_{C,H}$ 160 Гц) и дальних константах спин-спиновой взаимодействия (COLOC, $^2,^3J_{C,H}$ 10 Гц). Нумерация атомов в соединениях дана для отнесения сигналов в спектрах ЯМР и не совпадает с нумерацией атомов в номенклатурном названии. Масс-спектры высокого разрешения записывали на спектрометре DFS Thermo Scientific (США) в режиме полного сканирования в диапазоне *m/z* 0–500, ионизация электронным ударом 70 эВ при прямом вводе образца. Продукты реакций разделяли с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (60–200 м, Macherey-Nagel, Германия), элюент гексан — EtOAc, 100 : 0 → 0 : 100, MeOH. Анализ фракций и наблюдения за ходом превращений осуществляли методом ГЖХ на приборе Agilent 7820A (США), кварцевая колонка HP-5 (сополимер дифенил — диметоксисилоксан, 5 : 95) длиной 30 м, внутренний диаметр 0.25 мм, толщина стационарной фазы 0.25 мкм, детектор пламенно-ионизационный, газ-носитель He (скорость потока 2 мл/мин). Углы оптического вращения измеряли на поляриметре polAaG 3005 (Великобритания) для растворов веществ в MeOH. Удельное вращение выражено в град мл/г дм, концентрация раствора г/100 мл.

Альдегид (**Vr**) синтезирован по методике [28]. Биспидинон (**IV**) получен по методике, описанной в работе [26]. Синтез целевых соединений (**V**) осуществляли по методике [30].

Получение диазаадамантанов (Va–д). К 0.36–0.4 ммоль альдегида (**Va**)–(**Vд**) добавляли эквивалентное количество 1,5-диметилбиспидин-9-она (**IV**), растворенного в 2 мл метанола. Смесь перемешивали при комнатной температуре до полного расходования реагентов. Растворитель отгоняли. Остаток хроматографировали на колонке (1 × 18 см) с 3 г силикагеля.

2-[(1S,5R)-6,6-Диметилбицикло[3.1.1]гепт-2-ен-2-ил]-5,7-диметил-1,3-диазаадамантан-6-он (Va). Время реакции 2 ч. Выход 54%. $[\alpha]_D^{27} = -22$ (*c* 0.4). Масс-спектр: *m/z* 300.2196 [M^+]. Рассчитана *M* 300.2196 ($C_{19}H_{28}N_2O$). 1H -ЯМР: 0.79 (*s*, 3H) и 0.89 (*s*, 3H) ($C_{11}H_3$ и $C_{12}H_3$), 0.88 (*s*, 3H, $C_{21}H_3$), 1.14 (*d*, 1H, 2J 8.0, $H_{19}anti$), 1.28 (*s*, 3H, $C_{20}H_3$),

Ингибиторная активность производных диазаадамантана в отношении Tdp1

Шифр соединения	Значение IC ₅₀ , мкМ	Структурная формула
(Va)	>100 мкМ	
(Vб)	16.7 ± 0.6	
(Vв)	14.8 ± 1.6	
(Vг)	67.8 ± 4.6	
(Vд)	>100	

2.09–2.14 (м, 1H, H16), 2.30 (дддд, 1H, ²J18.0, J_{15,14} = J_{15,16} = J_{15,2} = 3.0, H15), 2.37 (дддд, 1H, ²J = 18.0, J_{15',14} = J_{15',16} = J_{15',2} = 3.0, H15'), 2.42–2.47 (м, 2H, H18, H19_{sin}), 2.68–2.75 (м, 2H, NCH₂), 3.08–3.16 (м, 2H, NCH₂), 3.26–3.33 (м, 3H, NCH₂), 3.45 (дд, 1H, ²J 13.2, ⁴J 3.3, NCH₂), 4.35 (м, 1H, все J ≤ 3.5, H2), 5.72 (м, 1H, все J ≤ 3.5, H14). ¹³C-ЯМР: 79.33 (д, C2), 59.95, 60.51, 67.60, 67.40 (т, C4, C8, C9, C10), 45.61, 45.89 (с, C5, C7), 212.31 (с, C6), 15.82, 16.31 (к, C11, C12), 144.28 (с, C13), 120.97 (д, C14), 31.38 (т, C15), 40.86 (д, C16),

37.60 (с, C17), 41.58 (д, C18), 31.83 (т, C19), 26.14 (к, C20), 21.02 (к, C21).

2-(2,6-Диметилгепта-1,5-диен-1-ил)-5,7-диметил-1,3-диазаадамантан-6-он (Vб). Время реакции 30 мин. Выход 48% в виде смеси *E*- и *Z*-изомеров в соотношении 1 : 1. Масс-спектр: *m/z* 302.2351 [*M*⁺]. Рассчитана *M* 302.2353 (C₁₉H₃₀N₂O). *E*-изомер. ¹H-ЯМР: 0.84 (с, 3H) и 0.87 (с, 3H) (C11H₃, C12H₃), 1.58 (уш. с, 3H, C21H₃), 1.65 (м, 3H, все J ≤ 2.5, C19H₃), 1.77 (м, 3H, все J ≤ 2.5, C20H₃), 2.02–2.08 (м, 2H, H16), 2.11–2.16 (м, 2H, H15), 2.72–2.76 (м, 2H, NCH₂), 3.05–3.09 (м, 2H, NCH₂), 3.28–3.33

(м, 2Н, NCH₂), 3.45–3.51 (м, 2Н, NCH₂) –4.61 (уш. д, 1Н, $J_{2,13}=5.5$, Н2), 5.11 (ткк, 1Н, $J_{17,16} 7.2$, $J_{17,19}=J_{17,21}=1.5$, Н17), 5.48 (дм, 1Н, $J_{13,2}=5.5$, Н13). ¹³С-ЯМР: 75.34 (д, С2), 59.74, 59.77, 67.13, 67.19 (т, С4, С8, С9, С10), 45.17, 45.97 (с, С5, С7), 212.07 (с, С6), 15.89, 16.28 (к, С11, С12), 121.35 (д, С13), 141.95 (с, С14), 32.50 (т, С15), 26.11 (т, С16), 124.07 (д, С17), 131.62 (с, С18), 25.56 (к, С19), 23.39 (к, С20), 17.40 (к, С²¹). *Z*-изомер. ¹Н-ЯМР: 0.84 (с, 3Н) и 0.88 (с, 3Н) (С11Н₃, С12Н₃), 1.59 (уш. с, 3Н, С21Н₃), 1.66 (м, 3Н, все $J \leq 2.5$, С19Н₃), 1.72 (уш. с, 3Н, С20Н₃), 2.04–2.09 (м, 2Н, Н15), 2.10–2.14 (м, 2Н, Н16), 2.73–2.77 (м, 2Н, NCH₂), 3.07–3.11 (м, 2Н, NCH₂), 3.31–3.36 (м, 2Н, NCH₂), 3.45–3.51 (м, 2Н, NCH₂), 4.61 (уш. д, 1Н, $J_{2,13} 5.5$, Н2), 5.08 (ткк, 1Н, $J_{17,16} 7.0$, $J_{17,19}=J_{17,21}=1.4$, Н17), 5.48 (дм, 1Н, $J_{13,2} 5.5$, Н13). ¹³С-ЯМР: 75.55 (д, С2), 59.74, 59.77, 67.13, 67.19 (т, С4, С8, С9, С10), 45.21, 45.93 (с, С5, С7), 212.03 (с, С6), 15.89, 16.31 (к, С11, С12), 120.68 (д, С13), 141.60 (с, С14), 39.68 (т, С15), 26.27 (т, С16), 124.88 (д, С17), 131.55 (с, С18), 25.60 (к, С19), 16.81 (к, С20), 17.59 (к, С21).

2-(2,6-Диметилгепт-5-ен-1-ил)-5,7-диметил-1,3-диазаадамтан-6-он (Vv). Время реакции 10 мин. Выход 54%. Масс-спектр: m/z 304.2511 [M^+]. Рассчитана M 304.2509 (С₁₉Н₃₂Н₂О). ¹Н-ЯМР: 0.84 (с, 3Н) и 0.87 (с, 3Н, С11Н₃, С12Н₃), 0.94 (д, 3Н, $J_{20,14} 6.6$, С20Н₃), 1.21 (ддд, 1Н, 2J 13.5, $J_{15,16} 9.8$, $J_{15,14} 7.6$, $J_{15,16} 6.0$, Н15), 1.38 (ддд, 1Н, 2J 13.5, $J_{15',16'} 9.8$, $J_{15',14} = J_{15',16} = 5.8$, Н15'), 1.49 (ддд, 1Н, $^2J = 13.7$, $J_{13,14} 8.6$, $J_{13,2} 5.9$, Н13), 1.59 (уш. с, 3Н, С21Н₃), 1.53–1.63 (м, 1Н, Н14), 1.66 (м, 3Н, все $J \leq 2.5$, С19Н₃), 1.92 (ддд, 1Н, 2J 13.7, $J_{13',2} 8.1$, $J_{13',14} 5.2$, Н13'), 1.90–2.08 (м, 2Н, Н16), 2.73 (дд, 1Н, 2J 13.7, 4J 3.0, NCH₂), 2.74 (дд, 1Н, 2J 13.7, 4J 3.0, NCH₂), 3.07–3.12 (м, 2Н, NCH₂), 3.27 (дд, 1Н, 2J 13.0, 4J 3.3, NCH₂), 3.29 (дд, 1Н, 2J 13.0, 4J 3.3, NCH₂), 3.39 (дд, 1Н, 2J 13.7, 4J 3.3, NCH₂), 3.44 (дд, 1Н, 2J 13.7, 4J 3.3, NCH₂), 3.93 (дд, 1Н, $J_{2,13} 8.1$, $J_{2,13} 5.9$, Н2), 5.09 (ткк, 1Н, $J_{17,16} 7.0$, $J_{17,19}=J_{17,21}=1.5$, Н17). ¹³С-ЯМР: 76.14 (д, С2), 58.74, 59.00, 67.93, 67.96 (т, С4, С8, С9, С10), 45.63, 45.86 (с, С5, С7), 211.81 (с, С6), 15.78, 16.36 (к, С11, С12), 37.28 (т, С13), 29.71 (д, С14), 37.13 (т, С15), 25.33 (т, С16), 124.63 (д, С17), 131.09 (с, С18), 25.59 (к, С19), 19.41 (к, С20), 17.57 (к, С21).

2-(((1R,3R)-3-Ацетил-2,2-диметилциклобутил)метил)-5,7-диметил-1,3-диазаадамтан-6-он (Vg). Время реакции 10 мин. Выход 75%. $[\alpha]_D^{25.5} = -27$ (с 1.6). Масс-спектр: m/z 318.2307 [M^+]. Рассчитана M 318.2302 (С₁₉Н₃₂Н₂О₂). ¹Н-ЯМР: 0.80 (с, 3Н) и 0.82 (с, 3Н) (С11Н₃, С12Н₃), 0.83 (с, 3Н, С18Н₃), 1.24 (с, 3Н, С19Н₃), 1.63 (ддд, 1Н, 2J 13.8, $J_{13,14} 9.2$, $J_{13,2} 6.5$, Н13), 1.79–1.94 (м, 3Н, Н13', 2Н17), 1.97 (с, 3Н, С₂₁Н₃), 1.98–2.07 (м, 1Н, Н14), 2.69 (уш. д, 2Н, 2J 13.7, NCH₂), 3.02 (дд, 1Н, 2J 13.1, 4J 3.2, NCH₂),

3.03 (дд, 1Н, 2J 13.1, 4J 3.2, NCH₂), 3.19 (дд, 1Н, 2J 13.1, 4J 3.2, NCH₂), 3.21 (дд, 1Н, 2J 13.1, 4J 3.2, NCH₂), 3.33 (дм, 1Н, 2J 13.7, остальные $J < 4.0$, NCH₂), 3.36 (дм, 1Н, 2J 13.7, остальные $J < 4.0$, NCH₂), 2.76 (дд, 1Н, $J_{16,17} 10.3$, $J_{16,17} 7.4$, Н16), 3.74 (дд, 1Н, $J_{2,13} 7.7$, $J_{2,13} 6.5$, Н2). ¹³С-ЯМР: 76.26 (д, С2), 58.40, 58.67, 67.60, 67.61 (т, С4, С8, С9, С10), 45.48, 45.70 (с, С5, С7), 211.44 (с, С6), 15.62, 16.20 (к, С11, С12), 30.27 (т, С13), 38.63 (д, С14), 42.96 (с, С15), 54.08 (д, С16), 22.98 (т, С17), 17.14 (к, С18), 30.07 (к, С19), 207.51 (с, С20), 29.88 (к, С21).

5,7-Диметил-2-((Е)-проп-1-ен-1-ил)-1,3-диазаадамтан-6-он (Vd). Время реакции 15 мин. Выход 62%. Масс-спектр: m/z 220.1569 [M^+]. Рассчитана M 220.1570 (С₁₃Н₂₀Н₂О). ¹Н-ЯМР: 0.82 (с, 3Н) и 0.89 (с, 3Н) (С₁₁Н₃, С₁₂Н₃), 1.78 (ддд, 3Н, $J_{15,14} = 6.6$, $J_{15,2} = 2.1$, $J_{15,13} = 1.7$, Н15), 2.73 (дм, 2Н, 2J 13.4, NCH₂), 3.11 (дм, 2Н, 2J 13.2, NCH₂), 3.33 (дм, 2Н, 2J 13.2, NCH₂), 3.47 (дм, 2Н, 2J 13.4, NCH₂), 4.53 (м, 1Н, все $J \leq 3.5$, Н2), 5.55 (ддк, 1Н, $J_{13,14} = 15.7$, $J_{13,2} = 3.4$, $J_{13,15} = 1.7$, Н13), 5.87 (дкд, 1Н, $J_{14,13} 15.7$, $J_{14,15} 6.6$, $J_{14,2} 2.1$, Н14). ¹³С-ЯМР: 77.48 (д, С2), 59.44, 67.20 (т, С4, С8, С9, С10), 45.49, 46.05 (с, С5, С7), 211.97 (с, С6), 15.84, 16.26 (к, С11, С12), 128.36 (д, С13), 129.76 (д, С14), 17.90 (к, С15).

Ингибиторные свойства полученных соединений. Рекомбинантная тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1 человека (КФ 3.1.4.) была экспрессирована в системе *Escherichia coli* (плазмида pET 16B-Tdp1 предоставлена доктором Кальдекотт К.У., Университет Сассекса, Великобритания (Dr. K.W. Caldecott, University of Sussex, United Kingdom) и выделена как описано в работах [9, 31].

Активность фермента определяли, используя метод флуоресцентной детекции активности Tdp1, описанный нами в работе [18]. Реакционные смеси объемом 200 мкл содержали буфер (50 мМ Трис-НСl, рН 8.0; 50 мМ NaCl; 7 мМ меркаптоэтанол), 50 нМ олигонуклеотид-биосенсор (структура приведена ниже), а также ингибиторы в различных концентрациях. Реакцию запускали добавлением Tdp1 до конечной концентрации 1.3 нМ. Измерения проводили в линейном диапазоне зависимости скорости реакции от времени (до 8 мин), аликвоты отбирали из реакционных смесей через каждые 55 с. Влияние исследуемых соединений на активность фермента оценивали, используя величину IC₅₀ (концентрация ингибитора, при которой активность фермента снижена наполовину). Обсчет значений IC₅₀ проводили с помощью программы MARS Data Analysis 2.0 (BMG LABTECH). В качестве сенсора использован олигонуклеотид 5'-(5,6 FАМ-ААС GTC AGG GTC TTC С-ВНQ1)-3', синтезированный в Лаборатории медицинской химии ИХБФМ СО РАН.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках Соглашения о предоставлении субсидии № 14.604.21.0018 от 17 июня 2014 г., идентификатор RFMEFI60414X0018.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Corte sLedesma F., El Khamisy S.F., Zuma M.C., Osborn K., Caldecott K.W. // *Nature* 2009. V. 461. P. 674–678.
2. Interthal H., Pouliott J.J., Champoux J.J. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001. V. 98. P. 12009–12014.
3. Rass U., Ahel I., West S.C. // *Cell* 2007. V. 130. P. 991–1004.
4. Comeaux E.Q., Van Waardenburg R.C. // *Drug Metab. Rev.* 2014. V. 46. P. 494–507.
5. Ben Hassine S., Arcangioli B. // *EMBO J.* 2009. V. 28. P. 632–640.
6. Povirk L.F. // *ISRN Mol. Biol.* 2012. 1.
7. Pommier Y., Leo E., Zhang H., Marchand C. // *Chem. Biol.* 2010. V. 17. P. 421–433.
8. Pommier Y. // *Nat. Rev. Cancer* 2006. V. 6. P. 789–802.
9. Dexheimer T.S., Antony S., Marchand C., Pommier Y. // *Anticancer Agents Med. Chem.* 2008. V. 8. P. 381–389.
10. Beretta G.L., Cossa G., Gatti L., Zunino F., Perego P. // *Curr. Med. Chem.* 2010. V. 17. P. 1500–1508.
11. Davies D.R., Interthal H., Champoux J.J., Hol W.G.J. // *J. Mol. Biol.* 2003. V. 324. P. 917–932.
12. Davies D.R., Interthal H., Champoux J.J., Hol W.G.J. // *Structure* 2002. V. 10. P. 237–248.
13. Dexheimer T.S., Gediya L.K., Stephen A.G., Weidlich I., Antony S., Marchand C., Interthal H., Nicklaus M., Fisher R.J., Njar V.C., Pommier Y. // *J. Med. Chem.* 2009. V. 52. P. 7122–7131.
14. Nguyen T.X., Morrell A., Conda-Sheridan M., Marchand C., Agama K., Bermingam A., Stephen A.G., Chergui A., Naumova A., Fisher R., O'Keefe B.R., Pommier Y., Cushman M. // *J. Med. Chem.* 2012. V. 55. P. 4457–4478.
15. Antony S., Marchand C., Stephen A. G., Thibaut L., Agama K.K., Fisher R.J., Pommier Y. // *Nucleic Acids Res.* 2007. V. 35. P. 4474–4484.
16. Conda-Sheridan M., Reddy P.V.N., Morrell A., Cobb B.T., Marchand C., Agama K., Chergui A., Renaud A., Stephen A.G., Bindu L.K., Pommier Y., Cushman M. // *J. Med. Chem.* 2013. V. 56. P. 182–200.
17. Sirivolu V.R., Vernekar S.K., Marchand C., Naumova A., Chergui A., Renaud A., Stephen A.G., Chen F., Sham Y.Y., Pommier Y., Wang Z. // *J. Med. Chem.* 2012. V. 55. P. 8671–8684.
18. Zakharenko A.L., Khomenko T.M., Zhukova S.V., Koval O.A., Zakharova O.D., Anarbaev R.O., Lebedeva N.A., Korchagina D.V., Komarova N.I., Vasiliev V.G., Reynisson J., Volcho K.P., Salakhutdinov N.F., Lavrik O.I. // *Bioorg. Med. Chem.* 2015, V. 23. P. 2044–2052.
19. Cragg G.M. // *J. Nat. Prod.* 2012. V. 75. P. 311–335.
20. Wanka L., Iqbal K., Schreiner P.R. // *Chem. Rev.* 2013. V. 113. P. 3516–3604.
21. Teplov G.V., Suslov E.V., Zarubaev V.V., Shtro A.A., Karpinskaya L.A., Rogachev A.D., Korchagina D.V., Volcho K.P., Salakhutdinov N.F., Kiselev O.I. // *Lett. Drug. Des. Discov.* 2013. V. 10. P. 477–485.
22. Parchinsky V., Shumsky A., Krasavin M. // *Tetrahedron Lett.* 2011. V. 52. P. 7161–7163.
23. Kuznetsov A.I., Zefirov N.S. // *Russ. Chem. Rev.* 1989. V. 58. P. 1033–1047.
24. Jimenez-Cruz F., Rios-Olivares H., Gutierrez J.L.G. // *Structural analysis of cyclic systems.* / Eds Iriepa I., Trivandrum, India: Research Signpost, 2005. P. 101–125.
25. Arutyunyan G.L., Chachoyan A.A., Agadzhanyan T.E., Garibdzhanyan B.T. // *Pharm. Chem. J.* 1996. V. 30. P. 739–741.
26. Minasyan G.G., Agadzhanyan K.E., Admyan G.G. // *Chem. Heterocycl. Comp.* 1994. V. 30. P. 94–98.
27. Harutyunyan G.L., Gevorkyan K.A., Manukyan M.A. // *Chem. Heterocycl. Comp.* 2007. V. 43. P. 1315–1319.
28. Barton D.H.R., Fontana G. // *Synth. Commun.* 1996. V. 26. P. 1953–1968.
29. Jensen P.W., Falconi M., Kristoffersen E.L., Simonsen A.T., Cifuentes J.B., Marcussen L.B., Frohlich R., Vagner J., Harmsen C., Juul S., Ho Y.P., Withers M.A., Lups-ki J.R., Koch J., Desideri A., Knudsen B.R., Stougaard M. // *Biosens. Bioelectron.* 2013. V. 15. P. 230–237.
30. Ponomarev K., Suslov E., Pavlova A., Ardashov O., Korchagina D., Nefedov A., Tolstikova T., Volcho K., Salakhutdinov N. // *Med. Chem. Res. in press*, 2015. MCRE-D-15-00255.
31. Lebedeva N.A., Rechkunova N.I., Lavrik O.I. // *FEBS Lett.* 2011. V. 585. P. 683–686.

Inhibitory Properties of Nitrogen-Containing Adamantane Derivatives with Monoterpenoid Fragments Against Tyrosyl-DNA Phosphodiesterase I

A. L. Zakharenko*, K. U. Ponomarev**, E. V. Suslov**, D. V. Korchagina**, K. P. Volcho**, ***, I. A. Vasil'eva*, N. F. Salakhutdinov**, ***, O. I. Lavrik**, ***, #

#E-mail: lavrik@niboch.nsc.ru

*Institute of Chemical Biology and Medicinal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Lavrentjeva ave, 8, Novosibirsk, 630090 Russia

**Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Lavrentjeva ave, 9, Novosibirsk, 630090 Russia

*** Novosibirsk State University, ul. Pirogova, 2, Novosibirsk, 630090 Russia

It was found that compounds combining diazaadamantane and monoterpenoid fragments are potent inhibitors of new structural type of human recombinant DNA repair enzyme Tyrosyl-DNA phosphodiesterase I (Tdp1). It was demonstrated that the inhibition efficiency depended on the length and flexibility of the aliphatic chain of the substituent.

Keywords: diazaadamantane, monoterpene, tyrosyl-DNA phosphodiesterase I, DNA repair inhibitor