

ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ МОНОМЕРОВ

УДК 547.239

DOI: 10.35211/1990-5297-2024-5-288-32-36

В. С. Дьяченко¹, Б. П. Гладких¹, Д. В. Данилов¹, Е. С. Ильина^{1,2}, Г. М. Бутов^{1,2}

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА 1,1'-(ГЕКСАН-1,6-ДИИЛ)БИС[3-(3-ГИДРОКСИМЕТИЛ)-5,7-*R,R'*-МЕТИЛАДАМАНТАН-1-ИЛ]МОЧЕВИН КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ РАСТВОРИМОЙ ЭПОКСИДГИДРОЛАЗЫ sEH*

¹Волгоградский государственный технический университет

²Волжский политехнический институт (филиал) ВолгГТУ

E-mail: v.s.dyachenko@mail.ru

Реакцией 1,6-гексаметилдиизоцианата с (3-амино-5,7-*R,R'*-1-адамантил)метанолом получены симметричные 1,1'-(гексан-1,6-диил)бис[3-(3-гидроксиметил)-5,7-*R,R'*-метиладамантан-1-ил]мочевины с выходом 74–93 %. Реакция протекает региоселективно по аминогруппе субстрата. Проведена молекулярная стыковка ингибиторов с растворимой эпоксидгидролазой sEH и установлены отличия в механизме связывания ингибитора от присутствия гидроксиметильной группы и количества метильных групп в адамантильном заместителе.

Ключевые слова: мочевины, растворимая эпоксидгидролаза (sEH), аминоксиды, докинг.

Введение

Растворимая эпоксидгидролаза (sEH) представляет собой фермент, гидролизующий эпосиды до соответствующих вицинальных диолов [1, 2]. sEH млекопитающих, в основном, экспрессируется в цитозоле [3], и его экспрессия различается у разных видов животных, например, у крыс sEH ниже, чем у мышей [4]. Кроме того, sEH индуцируется альфа-клеткой, активируемой пролифератором пероксисом (PPARα) [3, 5]. Воспалительные состояния также являются результатом повышенной экспрессии sEH [6]. Ингибирование sEH человека с помощью мишень-ориентированных ингибиторов оказывает положительное влияние на лечение гипертонии и заболеваний почек [7–10], воспалительных и болевых состояний [11–13], а также других социально значимых заболеваний.

Можно сделать вывод, что ингибирование sEH естественным образом дает эффект, который проявляется в уменьшении воспалительных состояний, но, в свою очередь, «открывает» новые пути, ведущие к усилению ангиогенеза.

Введение функциональных групп, способных образовывать дополнительные водородные связи в активном центре sEH, в структуру адамантана может явиться многообещающей стратегией в подавлении фермента, участвующего в воспалении.

Кроме того, ранее было показано, что симметричные диадамантилдимочевины, общей формулы: Ad₁–NHC(O)NH–(CH₂)_n–NHC(O)NH–Ad₁, где Ad₁– адамантил-1, при *n* = 4–8 проявляют наивысшую ингибирующую активность [14]. Вероятными метаболитами таких ингибиторов могут быть продукты гидроксирования узловых положений адамантана или присутствующих метильных групп, которые в дальнейшем могут участвовать в ингибировании. В этой связи синтез диадамантилдимочевин с гидроксильными группами в липофильном адамантильном заместителе представляет несомненный научный и практический интерес.

Экспериментальная часть

Исходные триэтиламин (BioUltra ≥99,5 %, CAS 121-44-8), гексаметилен диизоцианат (99 %, CAS 822-06-0) производства фирмы «Sigma-Aldrich».

(3-Амино-1-адамантан)метанол гидрохлорид, (3-амино-5-метил-1-адамантан)метанол гидрохлорид и (3-амино-5,7-диметил-1-адамантан)метанол гидрохлорид получали по известным методикам.

Диэтиловый эфир, этанол очищали общеизвестными методами.

Строение полученных соединений подтверждали с помощью ЯМР ^1H и ^{13}C спектроскопии, а состав с помощью элементного анализа. ЯМР ^1H и ^{13}C выполнен на Bruker Avance 600 (Bruker Corporation, США) в растворителе $\text{DMSO}-d_6$; химические сдвиги ^1H приведены относительно SiMe_4 . Элементный анализ выполнен на приборе «Perkin-Elmer Series II 2400» (Perkin-Elmer, США). Температуры плавления определены на приборе OptiMelt MPA100 (Stanford Research Systems, США). Коэффициент липофильности cLogP рассчитывали по программе Molinspiration (www.molinspiration.com).

Молекулярный докинг. sEH (С-концевой домен)

Молекулярный докинг соединений осуществляли в 3D-модели комплекса sEH-t-AUCB (PDB: 5AM3) (вещества, используемые для рентгеноструктурного анализа белков и молекулы t-AUCB, предварительно были удалены из модели). Соединения и белок предварительно готовили с использованием программы Maestro Schrödinger 11.1. Молекулярный докинг проводили в той же программе по протоколу Extra Precision (координаты центра: $x = 14,9 \text{ \AA}$, $y = 10,57 \text{ \AA}$, $z = 15,59 \text{ \AA}$, полнота: = 20, энергетический диапазон: = 4). Были выбраны лиганд-белковые комплексы с лучшими скоринговыми функциями.

1,1'-(Гексан-1,6-диил)бис(3-(3-гидроксиметил)адамантан-1-ил)мочевина (1a).

К 200 мг (0,9 ммоль) гидрохлорида (3-амино-1-адамантан)метанола **1** в 10 мл диэтилового эфира прибавляли 77 мг (0,46 ммоль) гексаметилендиизоцианата **4** и 0,4 мл триэтиламина. Реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре в течение 12 ч. После добавляли 5 мл 1н HCl и перемешивали смесь в течение 1 ч. Выпавший белый осадок отфильтровывали и промывали водой. Продукт очищали перекристаллизацией из этанола. Выход 0,257 г (93 %), белое твердое вещество, т. пл. 175–176 °С. Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м. д.: 1,17–1,22 м (4Н, $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2$), 1,24–1,28 м (4Н, $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$), 1,29–1,99 м (28Н, Ad), 2,81–2,89 м (4Н, $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$

$\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$), 2,92 с (4Н, $2\text{CH}_2-\text{OH}$), 2,95 с (2Н, -OH), 5,40 с (2Н, $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$), 5,57 с (2Н, $2\text{NH}-\text{Ad}$). Спектр ЯМР ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м. д.: 26,61 (с, 2С, 2CH_2), 29,31 (с, 6С, Ad), 30,44 (с, 2С, 2CH_2), 36,33 (с, 6С, Ad), 38,56 (с, 6С, Ad), 39,13 (с, 2С, $2\text{CH}_2-\text{NH}$), 50,46 (с, 2С, Ad), 71,66 (с, 2С, $2\text{CH}_2-\text{OH}$), 157,52 (с, 2С, $2\text{C}=\text{O}$). Найдено, %: С 67,90; Н 9,52; N 10,55. $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_4$. Вычислено, %: С 67,89; Н 9,50; N 10,56; М 530,68.

1,1'-(Гексан-1,6-диил)бис(3-(3-гидроксиметил)-5-метиладамантан-1-ил)мочевина (1b). Получена аналогично соединению **1a** из 200 мг гидрохлорида (3-амино-5-метил-1-адамантан)метанола **2** и 72 мг гексаметилендиизоцианата **4**. Выход 201 мг (74 %), белое твердое вещество, т. пл. 151–152 °С. Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м. д.: 0,77 (6Н, - CH_3), 1,06–1,12 м (4Н, $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2$), 1,16–1,24 м (4Н, $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$), 1,27–2,06 м (28Н, Ad), 2,81–2,95 м (4Н, $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$), 3,56 с (4Н, $2\text{CH}_2-\text{OH}$), 5,43 с (2Н, -OH), 7,01 с (2Н, $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$), 8,20 с (2Н, $2\text{NH}-\text{Ad}$). Спектр ЯМР ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м. д.: 26,60 (с, 2С, 2CH_2), 29,68 (с, 6С, Ad), 30,43 (с, 2С, 2CH_2), 31,97 (с, 2С, 2CH_3), 37,52 (с, 6С, Ad), 37,90 (с, 6С, Ad), 39,13 (с, 2С, $2\text{CH}_2-\text{NH}$), 51,29 (с, 2С, Ad), 71,41 (с, 2С, $2\text{CH}_2-\text{OH}$), 157,57 (с, 2С, $2\text{C}=\text{O}$). Найдено, %: С 68,80; Н 9,75; N 10,05. $\text{C}_{32}\text{H}_{54}\text{N}_4\text{O}_4$. Вычислено, %: С 68,78; Н 9,74; N 10,03. М 558,41.

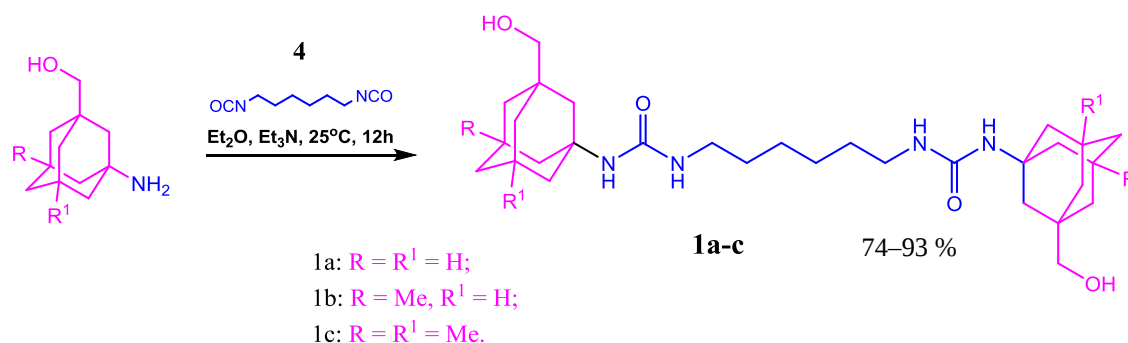
1,1'-(Гексан-1,6-диил)бис(3-(3-гидроксиметил)-5,7-диметиладамантан-1-ил)мочевина (1c). Получена аналогично соединению **1a** из 200 мг гидрохлорида (3-амино-5,7-диметил-1-адамантан)метанола **3** и 68 мг гексаметилендиизоцианата **4**. Выход 225 мг (84 %), белое твердое вещество, т. пл. 149–150 °С. Спектр ЯМР ^1H ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м. д.: 0,78 (12Н, - CH_3), 0,90–0,98 м (4Н, $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2$), 1,00–1,06 м (4Н, $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$), 1,09–1,48 м (28Н, Ad), 2,81–2,95 м (4Н, $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$), 3,04 с (4Н, $2\text{CH}_2-\text{OH}$), 5,50 с (2Н, -OH), 7,01 с (2Н, $\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}$), 8,19 с (2Н, $2\text{NH}-\text{Ad}$). Спектр ЯМР ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$), δ , м. д.: 26,59 (с, 2С, 2CH_2), 30,39 (с, 6С, Ad), 30,43 (с, 2С, 2CH_2), 32,50 (с, 4С, 4CH_3), 38,20 (с, 6С, Ad), 38,91 (с, 6С, Ad), 39,12 (с, 2С, $2\text{CH}_2-\text{NH}$), 52,08 (с, 2С, Ad), 71,17 (с, 2С, $2\text{CH}_2-\text{OH}$), 157,60 (с, 2С, $2\text{C}=\text{O}$). Найдено, %: С 69,60; Н 9,95; N 9,57. $\text{C}_{34}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_4$. Вычислено, %: С 69,59; Н 9,96; N 9,55. М 586,45.

Обсуждение результатов

(3-Амино-5,7-*R,R'*-1-адамантил)метанола **1–3** были вовлечены в реакцию с гексаметилендиизоцианатом **4** для получения целевых 1,1'-(гексан-1,6-диил)бис[3-(3-гидроксиметил)-5,7-*R,R'*-метиладамантан-1-ил]мочевин **1a–c** (схема 1). Выбор диизоцианата **4** обусловлен тем, что на его основе были получены 1,3-дизаме-

щенные димочевины с высокой ингибирующей активностью в отношении sEH (0,4 нМ) [14].

Синтез димочевин **1a–c** осуществляли в среде безводного диэтилового эфира в течение 12 ч, при комнатной температуре, в присутствии триэтиламина. (3-Амино-5,7-*R,R'*-1-адамантил)метанола **1–3** использовались в реакции в виде гидрохлоридов.



Выходы полученных димочевин составили от 74 % до 93 %. Структуру полученных соединений подтверждали методом ЯМР ^1H , ^{13}C -

спектроскопии, элементарным анализом.

Свойства синтезированных димочевин **1a–c** представлены в таблице.

Коэффициенты липофильности, температуры плавления, водорастворимость и выходы димочевин **1a–c**

№	Mr	cLogP*	$t_{\text{пл.}}, ^\circ\text{C}$	Водорастворимость мкмоль·л $^{-1}$ **	Выход, %
1a	530,68	4,36	175–176	300±10	93
1b	558,41	4,48	151–152	500±15	74
1c	586,45	4,60	149–150	150±10	84

* Рассчитан с помощью программы Molinspiration (<http://www.molinspiration.com>) © Molinspiration Cheminformatics.

**Растворимость в воде измеряли в натрий-фосфатном буфере (pH 7,4, 0,1 М), содержащем 1 % ДМСО, с помощью турбидиметрического анализа.

Несмотря на повышенную молекулярную массу, расчетная липофильность cLogP димочевин **1a–c** соответствует правилу Липински, что связано с наличием гидроксильных групп. Она закономерно увеличивается при введении метильных групп в адамантительный заместитель.

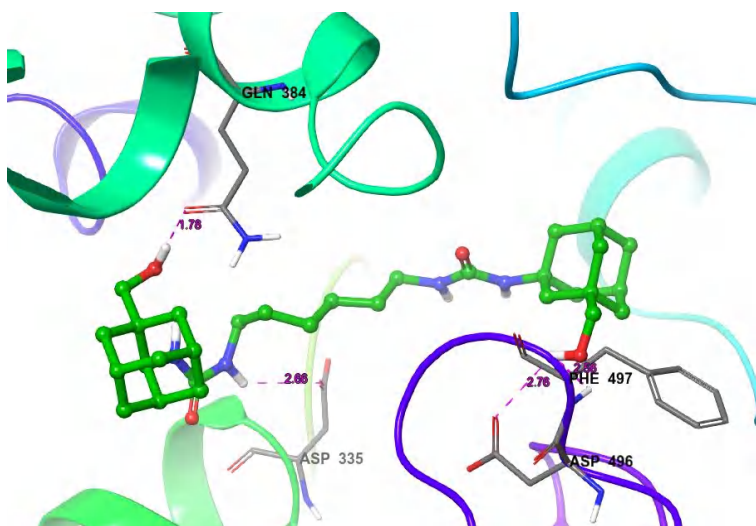
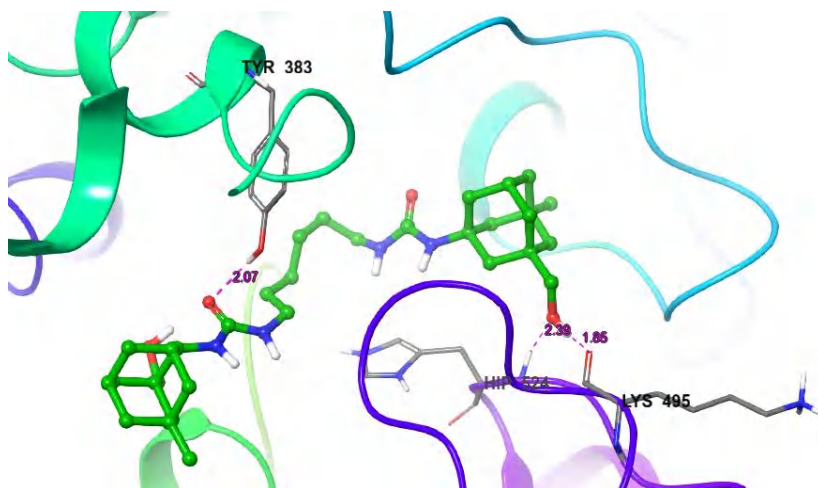
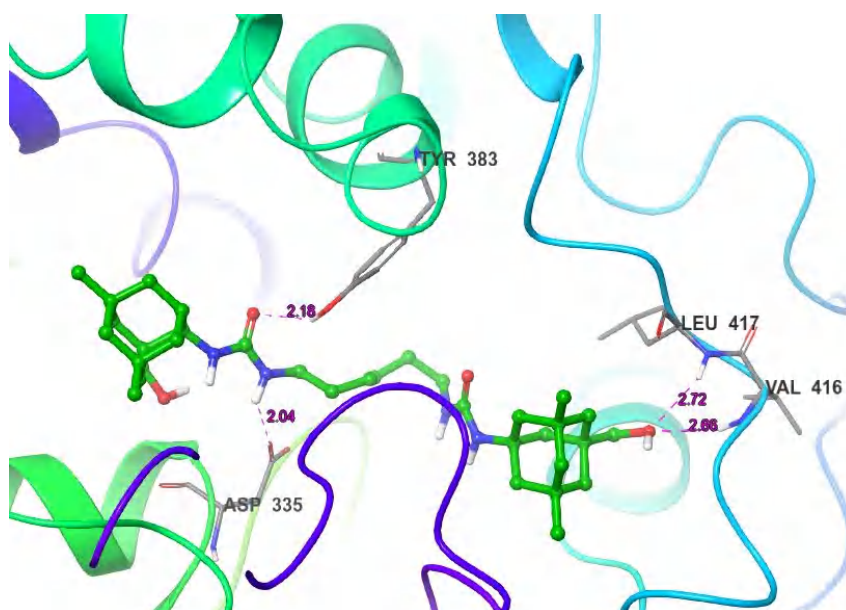
Температуры плавления димочевин **1a** существенно ниже, чем у его аналога, содержащего этильную группу в адамантительном заместителе (1,1'-(гексан-1,6-диил)бис(3-(3-этил-адамантан-1-ил)мочевина, Тпл. 247–249 °С [14]), несмотря на наличие гидроксиметильной группы, склонной к образованию водородных связей. С введением метильных групп в адамантительный заместитель Тпл. димочевин **1b** и **1c** снижаются на 23–27 °С.

Водорастворимость димочевин **1a–c** существенно увеличивается, что обусловлено наличием гидроксильной группы.

Молекулярный докинг осуществляли с помощью комплексов димочевин **1a–c** с sEH (PDB: ID: 5AM3).

Две гидроксиметильные группы в адамантительном заместителе образуют дополнительные водородные связи в активном центре sEH. Первая образует достаточно сильную водородную связь с аминокислотным остатком Gln384 (1,78 Å), вторая – две водородные связи с Asp496 и Phe497 (2,78 Å и 2,56 Å соответственно). Свободная энергия связывания методом MM/GBSA составляет – 60,59 ккал/моль.

В димочевине **1b** лишь одна гидроксиметильная группа образует две водородные связи с аминокислотными остатками Lys495 и His524 (1,85 Å и 2,39 Å соответственно), что отличает ее связывание от димочевин **1a**. Свободная энергия связывания методом MM/GBSA составляет – 61,87 ккал/моль.

Рис. 1. Докинг димочевины **1a** с sEHРис. 2. Докинг димочевины **1b** с sEHРис. 3. Докинг димочевины **1c** с sEH

Для димочевины **1с** одна из гидроксиметильных групп образует две водородные связи с аминокислотными остатками Val416 и Leu417 (2,66 Å и 2,72 Å соответственно). Свободная энергия связывания методом ММ/GBSA составляет – 67,79 ккал/моль.

Таким образом, введение гидроксиметильных групп в адамантильный заместитель способствует появлению дополнительного связывания в полости фермента, что приведет к изменению активности ингибирования. Дополнительное введение метильных групп, несмотря на возрастание стерических затруднений у гидроксиметильного фрагмента, не оказывает существенного влияния на связывание ингибитора в полости, что, по-видимому, связано с большой конформационной подвижностью гексаметиленового мостика, обеспечивающего возможность связывания замещенного адамантильного заместителя с различными аминокислотными остатками фермента sEH.

Заключение

Реакцией 1,6-гексаметилдиизоцианата с (3-амино-5,7-*R,R'*-1-адамантил)метанолом получены симметричные 1,1'-(гексан-1,6-диил)бис[3-(3-гидроксиметил)-5,7-*R,R'*-метиладамантан-1-ил]мочевины с выходом 74–93 %. Установлено, что реакция протекает региоселективно по аминогруппе субстрата. Найдено, что введение гидроксиметильной группы снижает температуру плавления, липофильность cLogP димочевины, и способствует повышению водорастворимости. Методом молекулярного докинга показана возможность дополнительного связывания гидроксиметильной группы в активном центре растворимой эпоксидгидролазы sEH.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. El-Sherbeni, A. A.; El-Kadi, A. O. The role of epoxide hydrolases in health and disease. *Arch. Toxicol.* 2014, 88, 2013–2032.
2. Saini, P.; Sareen, D. An overview on the enhancement of enantioselectivity and stability of microbial epoxide hydrolases. *Mol. Biotechnol.* 2017, 59, 98–116.
3. Newman, J. W.; Morisseau, C.; Hammock, B. D. Epoxide hydrolases: their roles and interactions with lipid metabolism. *Prog. Lipid Res.* 2005, 44, 1–51.
4. Gill, S. S.; Hammock, B. D. Distribution and properties of a mammalian soluble epoxide hydrolase. *Biochem. Pharmacol.* 1980, 29, 389–395.
5. Liu, Y.; Zhang, Y.; Schmelzer, K.; Lee, T. S.; Fang, X.; Zhu, Y.; Spector, A. A.; Gill, S.; Morisseau, C.; Hammock, B. D.; Shyy, J. Y. The antiinflammatory effect of laminar flow: the role of PPARgamma, epoxyeicosatrienoic acids, and soluble epoxide hydrolase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2005, 102, 16747–16752.
6. Sjodin, M. O. D.; Checa, A.; Yang, M.; Dahlen, S. E.; Wheelock, A. M.; Eklund, A.; Grunewald, J.; Wheelock, C. E. Soluble epoxide hydrolase derived lipid mediators are elevated in bronchoalveolar lavage fluid from patients with sarcoidosis: a cross-sectional study. *Respir. Res.* 2018, 19, 236.
7. Spector, A. A.; Fang, X.; Snyder, G. D.; Weintraub, N. L. Epoxyeicosatrienoic acids (EETs): Metabolism and biochemical function // *Prog. Lipid Res.* 2004, V. 43, № 1, p. 55–90.
8. Fleming, I.; Rueben, A.; Popp, R.; Fisslthaler, B.; Schrod, S.; Sander, A.; Haendeler, J.; Falck, J. R.; Morisseau, C.; Hammock, B. D.; Busse, R. Epoxyeicosatrienoic acids regulate Trp channel-dependent Ca²⁺ signaling and hyperpolarization in endothelial cells // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007, V. 27, № 12, p. 2612–2618.
9. Imig, J. D. Eicosanoids and renal damage in cardiometabolic syndrome // *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 2008, V. 4, № 2, p. 165–174.
10. Yu, Z.; Xu, F.; Huse, L. M.; Morisseau, C.; Draper, A. J.; Newman, J. W.; Parker, C.; Graham, L.; Engler, M. M.; Hammock, B. D.; Zeldin, D. C.; Kroetz, D. L. Soluble epoxide hydrolase regulates hydrolysis of vasoactive epoxyeicosatrienoic acids // *Circ. Res.* 2000, V. 87, № 11, p. 992–998.
11. Spiecker, M.; Liao, J. K. Vascular protective effects of cytochrome p450 epoxygenase-derived eicosanoids // *Arch. Biochem. Biophys.* 2005, V. 433, № 2, p. 413–420.
12. Imig, J. D.; Zhao, X.; Capdevila, J. H.; Morisseau, C.; Hammock, B. D. Soluble epoxide hydrolase inhibition lowers arterial blood pressure in angiotensin II hypertension // *Hypertension.* 2002, V. 39, № 2 (Pt. 2), p. 690–694.
13. Imig, J. D.; Zhao, X.; Zaharis, C. Z.; Olearczyk, J. J.; Pollock, D. M.; Newman, J. W.; Kim, I. H.; Watanabe, T.; Hammock, B. D. An orally active epoxide hydrolase inhibitor lowers blood pressure and provides renal protection in salt-sensitive hypertension // *Hypertension.* 2005, V. 46, № 4, p. 975–981.
14. Burnistrov, V.; Morisseau, C.; Harris, T. R.; Butov, G.; Hammock, B. D. Effects of adamantane alterations on soluble epoxide hydrolase inhibition potency, physical properties and metabolic stability // *Bioorg. Chem.* 2018, V. 76, p. 510–527.

V. S. Dyachenko¹, B. P. Gladkikh¹, D. V. Danilov¹, E. S. Ilyina^{1,2}, G. M. Butov^{1,2}

SYNTHESIS AND PROPERTIES OF 1,1'-(HEXANE-1,6-DIYL)BIS[3-(3-HYDROXYMETHYL)-5,7-*R,R'*-METHYLADAMANTAN-1-YL]UREA AS POTENTIAL INHIBITORS OF SOLUBLE EPOXIDE HYDROLASE sEH

¹Volgograd State Technical University

²Volzhsky Polytechnic Institute (branch) Volgograd State Technical University

Abstract: Reaction of 1,6-hexamethyldiisocyanate with (3-amino-5,7-*R,R'*-1-adamantyl)With methanol, symmetrical 1,1'-(hexane-1,6-diyl)bis[3-(3-hydroxymethyl)-5,7-*R,R'*-methyladamantan-1-yl]urea was obtained with a yield of 74–93 %. The reaction proceeds regioselectively along the amino group of the substrate. The molecular coupling of inhibitors with soluble epoxy hydrolase sEH was carried out and differences in the mechanism of inhibitor binding from the presence of a hydroxymethyl group and the number of methyl groups in the adamantyl substituent were established.

Keywords: urea, soluble epoxide hydrolase (sEH), aminoadamantanes, docking.