



УДК 547.792.1:615.225.2

НИТРОАЗОЛОПИРИМИДИНЫ: ВЛИЯНИЕ НА АДЕНОЗИНОВЫЙ РЕЦЕПТОР A1 И ВНУТРИГЛАЗНОЕ ДАВЛЕНИЕ У КРЫС

© 2022 г. К. В. Саватеев^{*, #}, В. Л. Русинов^{*}, С. К. Котовская^{*}, А. А. Спасов^{***}, Л. В. Науменко^{**}, А. С. Таран^{***}, А. А. Бригадирова^{**}, Д. С. Яковлев^{***}, К. Т. Султанова^{***}, Н. М. Щербакова^{**}

^{*}ФГАОУ ВО “Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина”, Россия, 620002 Екатеринбург, ул. Мира, 19

^{**}ФГБОУ ВО “Волгоградский государственный медицинский университет” Минздрава России, Россия, 400131 Волгоград, пл. Павших Борцов, 1

^{***}ГБУ “Волгоградский медицинский научный центр”, Россия, 400131 Волгоград, пл. Павших Борцов, 1

Поступила в редакцию 04.10.2021 г.

После доработки 31.10.2021 г.

Принята к публикации 11.11.2021 г.

На основании роли аденозинового рецептора A1 в модуляции внутриглазного давления, повышение которого – важный фактор развития глаукомы, и структурного анализа среди известных ингибиторов данного рецептора были отобраны и синтезированы шесть соединений ряда 5(7)-алкиламино-6-нитроазолопиримидинов и 8-алкилазоло[5,1-*b*]пуринов. Показано, что данные гетероциклы проявляют слабое сродство к аденозиновому рецептору A1 на модели аденозинзависимого изменения хронотропного эффекта *in vitro* с использованием изолированных предсердий белых мышей. С другой стороны, тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидины и триазоло[5,1-*b*]пурин продемонстрировали гипотензивное действие в экспериментах *in vivo* на крысах: при использовании соединения-лидера (5-метил-8-(гидроксиэтил)триазоло[5,1-*b*]пурин, 0.2%-ный раствор) офтальмотонус снижался на 34% через 3 ч, нежелательный резорбтивный эффект не наблюдался. Кроме того, с помощью МТТ-теста на линии клеток гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 было показано, что гетероциклы, оказывающие влияние на ВГД, демонстрируют 1–2 порядка меньшую цитотоксичность, чем препарат сравнения доксорубин.

Ключевые слова: азолопиримидины, азолопурины, аденозиновые рецепторы, аденозин, внутриглазное давление, глаукома

DOI: 10.31857/S0132342322040182

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время глаукома – одна из ведущих причин необратимой слепоты в мире. Количество больных глаукомой даже по самым оптимистичным прогнозам будет непрерывно расти [1], что коррелирует с тенденцией по увеличению числа инвалидов по зрению вследствие глаукомы [2].

Несмотря на определенные успехи в изучении патогенеза и разработке схем лечения данного заболевания, снижение внутриглазного давления (ВГД) остается первоочередной задачей при терапии глаукомы [3].

В местной медикаментозной терапии глаукомы используются препараты с различным меха-

низмом действия: как снижающим продукцию ВГД (β -адреноблокаторы, ингибиторы карбоангидразы II, α -адреномиметики), так и улучшающим ее отток (аналоги простагландинов, м-холинномиметики, α -адреномиметики). В последнее время в литературе обсуждается появление новых классов препаратов, снижающих ВГД путем воздействия на определенные биологические мишени. К ним относятся препараты, снижающие офтальмотонус путем повышения трабекулярного оттока – ингибиторы Rho-киназы [4], соединения, обладающие сродством к III подтипу мелатониновых рецепторов, способные снижать ВГД концентрационно-зависимым образом [5], доноры оксида азота и препараты, воздействующие на глобулярные белки, содержащиеся в клетках трабекулярной сети и шлеммова канала, а также антагонисты рецепторов аденозина.

Сокращения: A1 AP – аденозиновый рецептор A1; ВГД – внутриглазное давление; ЧСС – частота сердечных сокращений.

[#] Автор для связи: (эл. почта: i-krafttt@yandex.ru).

Было показано, что аденозиновый рецептор A_1 (A_1 AR) экспрессируется в переднем сегменте человеческого глаза и представляет собой привлекательную мишень для контроля за ВГД [6]. Новые исследования в этой области установили, что данный рецептор активно представлен в дренажной системе глаза, в частности в протоках с водянистой влагой, и играет значительную роль в модуляции ВГД [7, 8].

Так, избыток аденозина – эндогенного агониста A_1 -рецептора – в передней камере глаза приводит к развитию глазной гипертензии [9]. Соответственно, поиск новых ингибиторов данного подтипа аденозиновых рецепторов – перспективное направление для снижения ВГД.

Цель данной работы – синтез гетероциклов азолазинового ряда и исследование их влияния на аденозиновый рецептор A_1 и внутриглазное давление у крыс для установления возможной взаимосвязи между ингибирующей активностью и гипотензивным действием.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Синтез гетероциклов азолазинового ряда. Ранее нами было показано, что нитросодержащие азолазины – это близкие структурные аналоги известных антагонистов аденозинового рецептора A_{2a} [10]. При этом известно, что сайты связывания A_{2a} - и A_1 -рецепторов близки по структуре, что, с одной стороны, диктует необходимость поиска селективных эффекторов, с другой стороны, можно заключить, что эффекторы A_{2a} -рецептора будут иметь сродство и к сайту связывания аденозинового рецептора A_1 . Для исследования антагонистического эффекта были синтезированы алкиламин-содержащие нитроазолопиримидины (III–V) по разработанному нами ранее методу последовательного хлордезоксигенирования с помощью смеси хлористого фосфорила и пиридина и нуклеофильного замещения атома галогена на алкиламина (схема 1) [11–13]. Подобная стратегия была использована и при синтезе 5-алкиламино-6-нитро-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-8-онов, содержащих фрагменты *n*-хлорфенилэтиламина (VIII) и тирамина (IX) (схема 2).

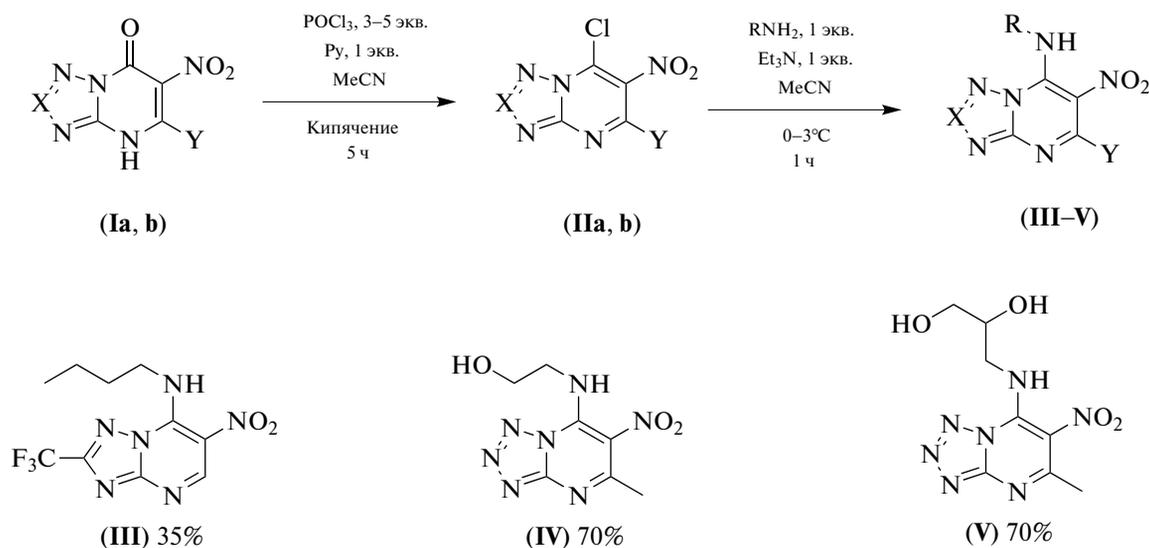


Схема 1. Двухстадийный синтез 6-нитро-7-алкиламиноазоло[1,5-*a*]пиримидинов (III–V).

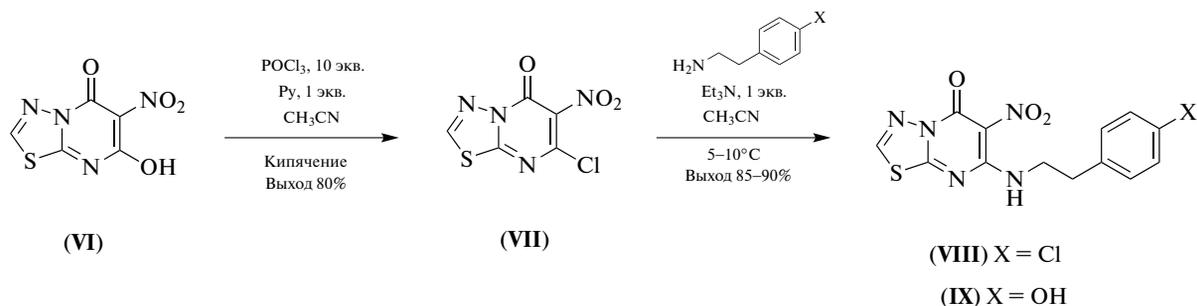


Схема 2. Синтез 5-алкиламино-6-нитро-1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидин-7-онов (VIII) и (IX).

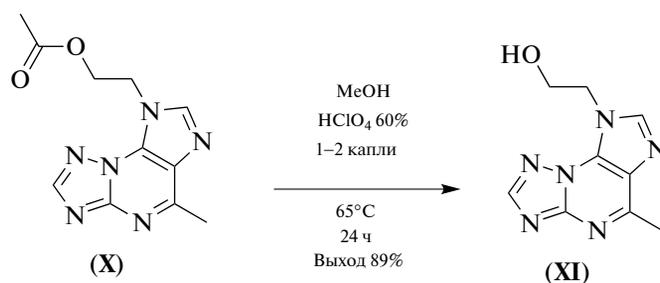


Схема 3. Снятие ацильной защиты с гидроксильной группы гетероцикла (X) с получением 5-метил-8-(2-гидроксиэтил)-1,2,3-триазоло[5,1-*b*]пурина (XI).

Кроме того, был получен 5-метил-8-(2-гидроксиэтил)триазоло[5,1-*b*]пурин (XI), который представляет собой структурный аналог трициклических ингибиторов аденозиновых рецепторов. С этой целью было выполнено снятие ацильной защиты с гидроксигруппы полученного ранее триазоло[5,1-*b*]пурина (X) с помощью каталитического количества хлорной кислоты при кипячении в метаноле (схема 3).

Фармакологические свойства синтезированных гетероциклов. Антагонистическая активность по отношению к аденозиновому рецептору A₁ *in vitro*.

Исследование антагонистического действия синтезированных азолоазинов (III–V), (VIII), (IX) и (XI) в концентрации 10 мкМ в отношении аденозинового рецептора A₁ проведено на модели аденозинзависимого изменения хронотропного эффекта *in vitro* с использованием изолированных предсердий белых мышей. Было обнаружено, что наибольшую антагонистическую активность проявляют гетероциклы 6-нитроазолопиримидинового ряда (III–V), в то время как соответствующие триазаолопиримидины (VIII), (IX) и триазолопурин (XI) фактически не оказывали статистически значимого действия на A₁ AP. Однако все исследуемые соединения уступали по данному показателю препарату сравнения кофеину (табл. 1). Тем не менее полученные результаты позволяют рассматривать триазоло[1,5-*a*]пиримидиновый скаффолд как перспективную основу для поиска структур с более высоким средством к данной биологической мишени.

Офтальмогипотензивные свойства соединений *in vitro*. Влияние соединений на уровень ВГД изучали на беспородных интактных крысах методом тонометрии. Показано, что все исследуемые соединения обладают офтальмогипотензивными свойствами. Так, при изучении действия гетероцикла (VIII) выявлено повышение офтальмотонуса на 10% в течение 60 мин, после чего происходило незначительное снижение ВГД до исходных значений (рис. 1а) как в тестовом, так и в контрольном глазах, что выступает показателем нежелательного резорбтивного эффекта. Однако к третьему часу ВГД тестового глаза снижалось на 20%, а в контрольном глазу не изменялось.

Исследования соединения (IX) продемонстрировали, что в течение 60 мин после его закапывания в тестовый глаз ВГД практически не изменялось. Однако ко второму часу исследования наблюдалось снижение ВГД на 13% и к третьему часу – на 18% (рис. 1б). В контрольном глазу динамика ВГД находилась в пределах нормы, что свидетельствует об отсутствии системного действия изучаемого соединения.

Закапывание в тестовый глаз азоло[5,1-*b*]пурина (XI) приводило к снижению офтальмотонуса на 26% уже к первому часу исследования, на 30% через 2 ч и достигала максимального эффекта (34%) через 3 ч (рис. 1в). В контрольном глазу ВГД изменялось в диапазоне 1–2 мм рт. ст., что свидетельствует об отсутствии системного действия изучаемого соединения (XI).

При этом оказалось, что наиболее активные в отношении A₁ AP гетероциклы (III–V) не приводят к снижению ВГД в исследуемых концентрациях. По всей видимости, влияние соединений (VIII), (IX) и (XI) на ВГД не связано с ингибиро-

Таблица 1. A₁-антагонистическая активность синтезированных гетероциклов

Соединение или препарат	Подавление отрицательного хронотропного эффекта аденозина, Δ%
(III)	36.9 ± 5.4
(IV)	32.5 ± 3.8
(V)	45.9 ± 3.7
(VIII)	0.5 ± 0.5*
(IX)	2.5 ± 2.5*
(XI)	2.5 ± 1.1*
Кофеин	60.5 ± 3.7

Примечание. Концентрация исследуемых соединений и кофеина составляла 10 мкМ. Данные представлены в виде среднего арифметического значения ± стандартная ошибка среднего арифметического значения. * *p* < 0.05 по сравнению с показателями, полученными для кофеина (критерий Краскела–Уоллиса с постестом Данна для множественных сравнений).

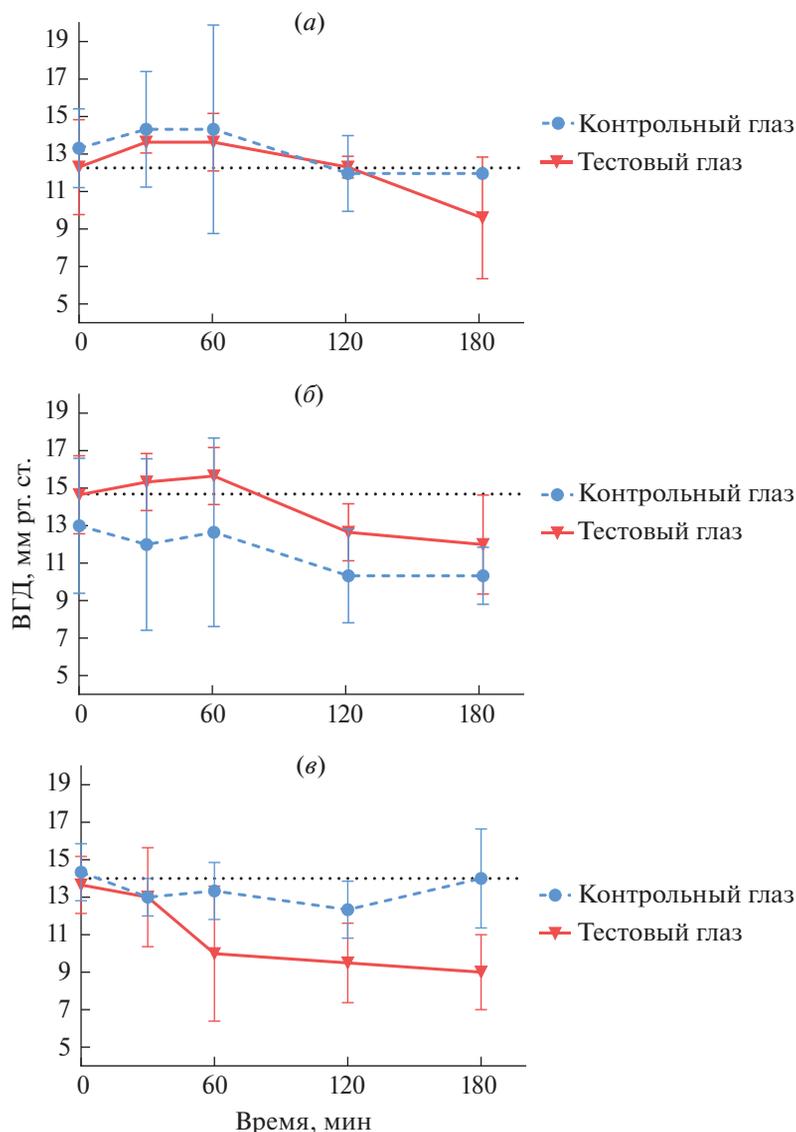


Рис. 1. Влияние соединений (VIII) (а), (IX) (б) и (XI) (в) на внутриглазное давление интактных крыс.

ванием A_1 AP, а задействует другой механизм биологического действия.

Цитотоксичность соединений. На заключительном этапе с целью предварительной оценки токсикологических характеристик наиболее активных соединений (VIII), (IX) и (XI) была изучена их цитотоксичность в МТТ-тесте на линии клеток человека HepG2. Для 6-нитротриадиазоло[3,2-*a*]пиримидинов (VIII) и (IX) цитотоксичность LC_{50} составила 0.073 и 0.072 мМ соответственно, что в 30–40 раз меньше, чем у препарата сравнения доксорубицина. Наименьшее цитотоксическое действие выявлено для триазоло[5,1-*b*]пурина (XI), уровень LC_{50} для которого превышает 1 мМ и находится за пределами максимальных исследованных концентраций (табл. 2), превосходя по безопасности доксорубицин более чем в 500 раз.

Было показано, что с точки зрения средств к A_1 AP наиболее выгоден 1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидиновый (III) и тетразоло[1,5-*a*]пиримидиновый скаффолд (IV,V), тогда как 1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидины (VIII), (IX) и 1,2,4-триазо-

Таблица 2. Цитотоксичность соединений (VIII), (IX) и (XI) в сравнении с доксорубицином на клетках гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 (МТТ-тест)

Соединение или препарат	LC_{50} , мМ
(VIII)	0.073
(IX)	0.072
(XI)	>1
Доксорубицин	0.002

ло[5,1-*b*]пурин (XI) не проявили статистически значимого ингибирующего эффекта в отношении этого рецептора. С другой стороны, полученные 6-нитроазоло[1,5-*a*]пиримидины уступали в средстве к A₁ AP препарату сравнения кофеину, что свидетельствует о необходимости дальнейшей структурной модификации для создания более мощных ингибиторов.

Обратная закономерность наблюдалась при исследовании офтальмогипотензивных свойств полученных гетероциклов: азоло[1,5-*a*]пиримидины (III–V) не оказывали влияния на ВГД крыс, в то время как тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидины (VIII), (IX) и триазоло[5,1-*b*]пурин (XI) продемонстрировали гипотензивное действие. При этом соединение-лидер, 5-метил-8-(гидроксиэтил)триазоло[5,1-*b*]пурин (XI), снижало офтальмотонус на 34% через 3 ч, не проявляя нежелательного резорбтивного эффекта. Кроме того, было показано, что гетероциклы, оказывающие влияние на ВГД, демонстрируют значительно меньшую цитотоксичность, чем препарат сравнения доксорубинин.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез гетероциклов азолоазинового ряда.

Спектры ¹H- и ¹³C-ЯМР полученных соединений регистрировали на спектрометре Avance II (400 и 100 МГц соответственно; Bruker, Германия) при температуре 25°C, внутренний стандарт TMS, растворитель DMSO-*d*₆ и CDCl₃. Элементный анализ выполняли на анализаторе 2400 CHN (PerkinElmer, США). Контроль за ходом реакций осуществляли при помощи ТСХ на пластинках Silufol UV-254 (Imid LTD, РФ, Краснодар). Температуру плавления измеряли на приборе Stuart SMP3. Гетероциклы (III) [14], (IV) и (V) [12], (VIII) и (IX) [13] и (X) [11] были синтезированы по ранее разработанным методикам.

Синтез 5-метил-8-(2-гидроксиэтил)триазоло[5,1-*b*]пурина (XI). К раствору 2.18 г (0.01 моль) 5-метил-8-(2-ацетоксиэтил)триазоло[5,1-*b*]пурина в 40 мл MeOH добавляли 0.5 мл 60%-ной HClO₄, полученную смесь кипятили в течение 24 ч. Реакционную массу упаривали в вакууме при 35°C, остаток перекристаллизовывали из *изо*-бутанола.

Белый порошок. R_f (EtOAc) 0.4, Т. пл. 214–216°C. Выход 89%. Найдено, %: С 49.44; Н 4.50; N 38.80. Брутто-формула: C₉H₁₀N₆O. Вычислено, %: С 49.54; Н 4.62; N 38.51. Спектр ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆), δ (м.д.): 2.84 (3H, с, CH₃), 3.87 (2H, т, J 4.0, OCH₂), 4.69 (2H, т, J 4.0, NCH₂), 8.40 (1H, с, C7H), 8.84 (1H, с, C2H). Спектр ¹³C-ЯМР (100 МГц, CDCl₃), δ (м.д.): 20.2 (CH₃), 49.0 (NCH₂), 59.8 (OCH₂), 127.5 (C5a), 134.3 (C8a), 142.6 (C7), 151.2 (C3a), 152.3 (C2), 159.4 (C5).

Фармакологические исследования полученных соединений. Антагонистическая активность соединений по отношению к аденозиновому рецептору A₁. Исследование антагонистической активности соединений (III–V), (VIII), (IX) и (XI) по отношению к A₁ AP проводили на изолированных предсердиях 20 белых мышей обоих полов возрастом 4 месяца (питомник “Рапполово”, Ленинградская область) на модели аденозинзависимого изменения хронотропного эффекта *in vitro* в модификации Бригадировой с соавт. [15] с использованием буферного раствора Кребса–Хенселейта (состав, mM): NaCl – 118.0; KCl – 4.7; KH₂PO₄ – 1.18; MgSO₄ – 1.2; CaCl₂ – 2.5; NaHCO₃ – 25.0; глюкоза – 5.55; pH 7.4) при постоянной оксигенации (95% O₂ – 5% CO₂) и термостатировании при 37°C. Исследуемые вещества в концентрации 10 мкМ вносили в ванночку с изолированными предсердиями, после чего добавляли аденозин (10 мкМ; Sigma-Aldrich, США). Активность соединений оценивали по степени подавления индуцированного аденозином снижения хронотропизма изолированных предсердий, работающих в собственном ритме (без стимуляции), в сравнении с контрольным эффектом аденозина (в Δ%). Сокращения предсердий регистрировали с использованием изометрического датчика TSD125C при изометрической нагрузке в 1 г в 4-канальной установке поддержания жизнедеятельности изолированных тканей DA100C (Biopac Systems, Inc., США) и программного обеспечения AcqKnowledge 4.0 (Biopac Systems, Inc., США). Количество сокращений изолированных предсердий измеряли за 30-секундный интервал с последующим расчетом частоты сердечных сокращений (ЧСС). В качестве препарата сравнения использовали неселективный антагонист аденозиновых рецепторов A_{1/2a} – кофеин (10 мкМ; Sigma-Aldrich, США).

Величину подавления хронотропизма предсердий (Δ%) рассчитывали по формуле:

$$\Delta\% = 100 - (\Delta\text{ЧСС}_{\text{контр}}/\Delta\text{ЧСС}_{\text{опыт}} \times 100),$$

где ΔЧСС_{контр} – разница между исходной ЧСС и ЧСС, рассчитанной после введения аденозина в контрольном измерении; ΔЧСС_{опыт} – разница между исходной ЧСС и ЧСС, рассчитанной после введения аденозина на фоне экспозиции исследуемых соединений в опытно измерении.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием непараметрического критерия Краскела–Уоллиса с пометостом Данна для множественных сравнений в программе GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software, США).

Офтальмогипотензивные свойства соединений *in vitro*. Изучение влияния соединений на уровень ВГД проводили на 48 взрослых беспородных интактных крысах обоих полов возрастом 2 месяца (питомник “Рапполово”, Ленинградская об-

ласть) методом тонометрии с использованием прибора TonoVet (Финляндия) [16]. Исследования соединений производили по методике Marcus et al. [17]. Производные азолопиримидинов (III–V), (VIII), (IX) и (XI) закапывали в правый (тестовый) глаз лабораторного животного в концентрации 0.2% однократно в объеме 50 мкл, а в левый глаз – деионизированную воду в том же объеме. В качестве препаратов сравнения использовали 0.5%-ные глазные капли тимолол (Тимолол-СОЛОфарм; Гротекс, Россия) и 0.1%-ные глазные капли бримонидин (Сантисбрим; Сентисс Фарма Пвт. Лтд., Индия) с доказанным ВГД-снижающим действием, применяемые в клинической практике. Препараты сравнения также закапывали в правый (тестовый глаз) лабораторных животных в объеме 50 мкл, в левый глаз – деионизированную воду в том же количестве. Левый глаз, в свою очередь, служил для оценки возможного системного воздействия исследуемых соединений. Измерение ВГД проводили в пяти временных точках (0, 30, 60, 120, 180 мин), где 0 мин – исходное значение. Наличие ВГД-снижающей активности оценивали по максимальному уменьшению ВГД от исходных значений.

Цитотоксичность соединений. Оценку цитотоксичности наиболее активных соединений (VIII), (IX) и (XI) проводили с помощью МТТ-теста [18] в модификации на клетках линии HepG2 (гепатоцеллюлярной карциномы человека) (ATCC® HB-8065™). Культивирование клеток проводили в полной ростовой среде F-12 (Gibco, США) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Gibco, США), 1% пенициллина-стрептомицина (Gibco, США), 1% незаменимых аминокислот (NEAA) (Sigma-Aldrich, США), 2 мМ пирувата натрия (Sigma-Aldrich, США) в CO₂-инкубаторе Galaxy 170R (New Brunswick, Германия) при температуре 37°C в атмосфере 5% CO₂. Соединения и наиболее широко используемый цитостатик сравнения доксорубин (Sigma-Aldrich, США) исследовали в диапазоне концентраций от 0.1–1.0 мМ с инкубацией в течение 48 ч. Жизнеспособность клеток, коррелирующую со способностью митохондриальных дегидрогеназ превращать МТТ-реагент (бромид 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия) в формазан, определяли по данным оптической плотности при 555 нм (референсная длина волны 650 нм) с использованием планшетного ридера CLARIOstar (BMG LABTECH, США). Обработку данных и расчет LC₅₀ (концентрация, подавляющая жизнедеятельность клеток на 50% относительно интактного контроля) проводили с помощью программного обеспечения MARS Data Analysis Software (BMG LABTECH, США) и GraphPad Prism v.7.0 (GraphPad Software, США).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, были синтезированы шесть соединений ряда азолоазинов. На модели аденозинзависимого изменения хронотропного эффекта *in vitro* с использованием изолированных предсердий белых мышей показано, что с точки зрения сродства к аденозиновому рецептору A₁ наиболее выгоден 1,2,4-триазоло[1,5-*a*]пиримидиновый (III) и тетразоло[1,5-*a*]пиримидиновый (IV), (V) скаффолд, тогда как 1,3,4-тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидины (VIII), (IX) и 1,2,4-триазоло[5,1-*b*]пурин (XI) не проявили статистически значимого ингибирующего эффекта в отношении этого рецептора. С другой стороны, полученные 6-нитроазоло[1,5-*a*]пиримидины уступали препарату сравнения кофеину в сродстве к аденозиновому рецептору A₁, что свидетельствует о необходимости дальнейшей структурной модификации для создания более мощных ингибиторов. Обратная закономерность наблюдалась при исследовании офтальмогипотензивных свойств полученных гетероциклов: азоло[1,5-*a*]пиримидины (III–V) не оказывали влияния на внутриглазное давление крыс, в то время как тиадиазоло[3,2-*a*]пиримидины (VIII), (IX) и триазоло[5,1-*b*]пурин (XI) продемонстрировали гипотензивное действие. При этом при использовании соединения-лидера, 5-метил-8-(гидроксиэтил)триазоло[5,1-*b*]пурина (XI), офтальмотонус снижался на 34% через 3 ч, нежелательный резорбтивный эффект не наблюдался. Кроме того, в МТТ-тесте на линии клеток гепатоцеллюлярной карциномы человека HepG2 было показано, что гетероциклы, оказывающие влияние на ВГД, демонстрируют на 1–2 порядка меньшую цитотоксичность, чем препарат сравнения доксорубин.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (грант № 075-15-2020-777).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все исследования на животных были выполнены в соответствии с Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств (под ред. А.Н. Миронова), часть первая. М.: Гриф и К, 2012.; Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей CETS 123 (Страсбург, 1986); Директивой 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chou S.F., Luo L.J., Lai J.Y. // Sci Rep. 2017. V. 7. P. 42344. <https://doi.org/10.1038/srep42344>
2. Нероев В.В., Киселева О.А., Бессмертный А.М. // Российский офтальмологический журнал. 2013. Т. 6. № 3. С. 4–7.
3. Национальное руководство по глаукоме: для практикующих врачей (3-е изд., испр. и доп.) / Под ред. Егорова Е.А., Астахова Ю.С., Еричева В.П. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 456 с.
4. Rao P.V., Pattabiraman P.P., Koczynski C. // Exp. Eye Res. 2017. V. 158. P. 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2016.08.023>
5. Guglielmi P., Carradori S., Campestre C., Poce G. // Exp. Opin. Therap. Pat. 2019. V. 29. P. 769–780. <https://doi.org/10.1080/13543776.2019.1653279>
6. Kvanta A., Seregard S., Sejersen S., Kull B., Fredholm B.B. // Exp. Eye Res. 1997. V. 165. P. 595–602. <https://doi.org/10.1006/exer.1996.0352>
7. Li A., Leung C.T., Peterson-Yantorno K., Daniel Stamer W., Civan M.M. // Investig. Ophthalmol. Visual Sci. 2011. V. 52. P. 7996–8005. <https://doi.org/10.1167/jovs.11-8170>
8. Avila M.Y., Stone R.A., Civan M.M. // Br. J. Pharmacol. 2001. V. 134. P. 241–245. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0704267>
9. Agarwal R., Agarwal P. // Exp. Opin. Therap. Targ. 2014. V. 18. P. 527–539. <https://doi.org/10.1517/14728222.2014.888416>
10. Savateev K.V., Ulomsky E.N., Butorin I.I., Charushin V.N., Rusinov V.L., Chupakhin O.N. // Russ. Chem. Rev. 2018. V. 87. P. 636–669. <https://doi.org/10.1070/RCR4792>
11. Savateev K.V., Ulomsky E.N., Borisov S.S., Voinkov E.K., Fedotov V.V., Rusinov V.L. // Chem. Heterocycl. Comp. 2014. V. 50. P. 880–887. <https://doi.org/10.1007/s10593-014-1542-z>
12. Savateev K.V., Fedotov V.V., Ulomskiy E.N., Rusinov V.L. // Chem. Heterocycl. Comp. 2018. V. 54. P. 197–204. <https://doi.org/10.1007/s10593-018-2254-6>
13. Savateev K., Fedotov V., Butorin I., Eltsov O., Slepukhin P., Ulomsky E., Rusinov V., Litvinov R., Babkov D., Khokhlacheva E., Radaev P., Vassilie P., Spasov A. // Eur. J. Med. Chem. 2020. V. 185. P. 111808. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111808>
14. Spasov A.A., Babkov D.A., Sysoeva V.A., Litvinov R.A., Shamshina D.D., Ulomsky E.N., Savateev K.V., Fedotov V.V., Slepukhin P.A., Chupakhin O.N., Charushin V.N., Rusinov V.L. // Archiv der Pharmazie. 2017. V. 350. P. 1700226. <https://doi.org/10.1002/ardp.201700226>
15. Бригадирова А.А., Агацарская Я.В., Салихов Д.А., Нагих А.С. // Вестник ВолгГМУ. 2019. Т. 70. С. 55–57. [https://doi.org/10.19163/1994-9480-2019-2\(70\)-55-57](https://doi.org/10.19163/1994-9480-2019-2(70)-55-57)
16. Pease M.E., Hammond J.C., Quigley H.A. // J. Glaucoma. 2006. V. 15. P. 512–519. <https://doi.org/10.1097/01.ijg.0000212276.57853.19>
17. Marcus A.J., Iezhitsa I., Agarwal R., Vassiliev P., Spasov A., Zhukovskaya O., Anisimova V., Mohd Ismail N. // Data Brief. 2018. V. 18. P. 523–554. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.03.019>
18. Яковлев Д.С., Султанова К.Т., Золотова Е.А., Гасайничева А.Г., Спасов А.А. // Волгоград. науч.-мед. журн. 2020. № 1. С. 58–61. <https://doi.org/10.24412/1995-7225-2020-1-58-61>

Nitroazolopyrimidines: Effects on A1 Adenosine Receptor and Intraocular Pressure on Rats

K. V. Savateev*[#], V. L. Rusinov*, S. K. Kotovskaya*, A. A. Spasov***, L. V. Naumenko**, A. S. Taran***, A. A. Brigadirova**, D. S. Yakovlev***, K. T. Sultanova***, and N. M. Shcherbakova**

[#]E-mail: i-krafttt@yandex.ru

*Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Eltsin, ul. Mira 19, Yekaterinburg, 620002 Russia

**Volograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volograd, 400131 Russia

***Volograd Medical Research Center, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volograd, 400131 Russia

A few compounds of the 5(7)-alkylamino-6-nitroazolopyrimidine and 8-alkylazolo[5,1-*b*]purine series were selected based on the structural analysis of A₁ adenosine receptor inhibitors and role of this biological target in the modulation of intraocular pressure which is an important factor in the pathogenesis of glaucoma. In this paper we synthesized six compounds of the 5(7)-alkylamino-6-nitroazolopyrimidine and 8-alkylazolo[5,1-*b*]purine series. It has been shown that these heterocycles possess low affinity towards A₁ adenosine receptor in a model of adenosine-dependent changes in chronotropic effect *in vitro* on isolated atria of white mice. On the other hand, thiadiazolo[3,2-*a*]pyrimidines and triazolo[5,1-*b*]purine have shown hypotensive effect *in vivo* at rats: the leader compound (5-methyl-8-(hydroxyethyl)triazolo[5,1-*b*]purine) (0.2% solution) resulted in a 34% reduction in ophthalmotonus after 3 hours, while no undesirable resorptive effect was observed. In addition, heterocycles that affect IOP have been shown to exhibit 1–2 order less cytotoxicity than reference compound doxorubicin by MTT-test on the human HepG2 cell line.

Keywords: azolopyrimidines, azolopurines, adenosine receptors, adenosine, intraocular pressure, glaucoma