

УДК 577.35;612.17;615.31

М. А. Мохорт, Ю. М. Кутувий

ВПЛИВ ПОХІДНИХ ІМІДАЗО[1,2-А]АЗЕПІНІЮ НА ФУНКЦІОНУВАННЯ ІЗОЛЬОВАНОГО СЕРЦЯ ІНТАКТНИХ ЩУРІВ І ПІД ЧАС ІШЕМІЇ

На ізольованому серці щура було досліджено кардіопротекторні ефекти похідних імідазо[1,2-а]азепінію з метою встановлення їх здатності прекодиціювати ішемічні ушкодження міокарда. Досліджені сполуки дозозалежно збільшували скоротливу активність сердець. Тим же часом швидкість коронарного кровообігу знижувалася. Дія сполук спостерігалася за низьких концентрацій — $5 \cdot 10^{-7}$, $1 \cdot 10^{-6}$, $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, що вказує на їх високу біологічну активність.

Ключові слова: прекодиціювання міокарда, ізольоване серце, ішемія, похідні імідазо[1,2-а]азепінію.

UDC 577.35;612.17;615.31

M. A. Mokhort, Yu. M. Kutovyi

EFFECT OF IMIDAZO[1,2-A]AZEPINIUM DERIVATIVES ON INTACT AND UNDER ISCHEMIA ISOLATED RAT HEART ACTIVITY

Cardioprotective effect of imidazo[1,2-a]azepinium derivatives on isolated rat heart has studied to assess their ability for myocardium preconditioning. Experimental compounds increased contractile activity of hearts in dose-dependent manner. At the same time, coronary flow decreased. Compounds exert effects in concentrations of $5 \cdot 10^{-7}$, $1 \cdot 10^{-6}$, $1 \cdot 10^{-5}$ mol/l which reveal their high biological activity.

Key words: myocardium preconditioning, isolated heart, ischemia, imidazo[1,2-a]azepinium derivatives.

УДК 541.63:615.1.015.54

І. М. Радаєва¹, канд. біол. наук,

І. А. Кравченко^{1,2}, д-р біол. наук,

В. Є. Кузьмін², д-р хім. наук,

Л. М. Огніченко², канд. хім. наук,

В. І. Павловський², канд. хім. наук,

К. О. Семенішина², канд. хім. наук

КІЛЬКІСНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКУ «СТРУКТУРА–ПРОТИСУДОМНА АКТИВНІСТЬ» НОВИХ 3-ЗАМІЩЕНИХ ПОХІДНИХ 1,4-БЕНЗДІАЗЕПІНУ

¹ Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,

² Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського НАН України, Одеса

Вступ

Один із можливих варіантів розробки нових лікарських препаратів — хімічна модифікація біологічно активних сполук, яка сприяє створенню проліків з очікуваними властивостями. Проліки — це фармакологічно неактивна сполука, що в організмі в результаті хімічних і (або) біохімічних змін перетворюється у справжню лікарську сполуку [1]. Також актуальністю набуває питання створення пролонгованих лікарських форм, здатних забезпечити тривалу дію лікарського засобу з одночасним зниженням його добової дози. Препарати цього типу забезпечують підтримку в крові постійної концентрації діючої речовини без пікових коливань.

Основними властивостями даних лікарських форм є можливість зменшення частоти прийому і курсової дози, усунення подразнювальної дії лікарських речовин на шлунково-кишковий тракт [2]. Це дуже важливо при лікуванні неврологічних і психічних захворювань, коли йдеться про тривалий прийом препарату хворими [1].

За останні роки широкого розвитку набули дослідження кількісних співвідношень «структура–активність/властивість» (QSAR/QSPR) органічних сполук. Експериментальні дослідження потребують значних фінансових і тимчасових витрат, крім того, експериментальне визначення різних фізико-хімічних властивостей і різних видів біологічної активності речовин

часто пов'язане зі значними труднощами, що виникають, наприклад, при отриманні достатньої кількості речовини, її очищенні, можливій нестійкості, токсичності тощо. Саме тому застосування теоретичних методів розрахунку властивостей речовин за їх структурою, минаючи експеримент, — актуальне науково-практичне завдання і сьогодні є невід'ємною частиною робіт із розробки нової речовини з комплексом заданих властивостей. Використання комп'ютерних технологій уможливорює на базі виявлених закономірностей проведення не тільки попереднього відсіву (скрінінгу), але і молекулярного дизайну органічних сполук, які мають комплекс корисних властивостей.

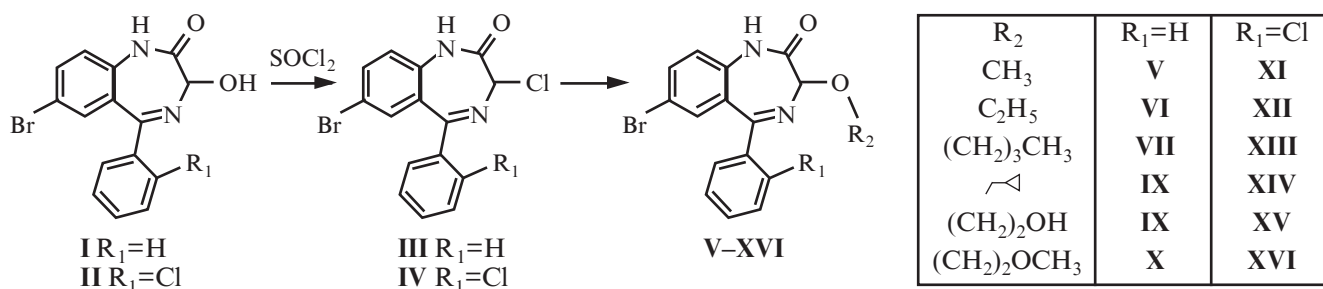


Рис. 1. Схема синтезу етерів 1,4-бенздіазепін-2-ону

У зв'язку з викладеним вище актуальне значення мають дослідження на основі методів QSAR, під час яких нами були вивчені вклади різних структурних факторів і молекулярних фрагментів у протисудомну властивість нових похідних 1,4-бенздіазепіну.

Матеріали та методи дослідження

У відділі медичної хімії Фізико-хімічного інституту ім. О. В. Богатського НАН України були синтезовані 3-заміщені похідні 1,4-бенздіазепіну (рис. 1, 2).

У дослідженнях використовували безпородних мишей-самців масою 18–22 г, яких утримували на стандартному раціоні при 12-годинному світловому режимі.

Протисудомний ефект оцінювали за антагонізмом з коразолом, що викликає клонікотонічні судоми (КТС) і тонічну екстензію (ТЕ) в експериментальних тварин, при його внутрішньовенній інфузії (1 % розчин, швидкість — 0,01 см³/с).

Групам тварин (5–6 особин) перорально вводили розчини естерів 3-гідроксифеназепаму. Через певні проміжки часу (1 і 24 год) оцінювали протисудомну активність похідних 1,4-бенздіазепіну за збільшенням мінімальних ефективних доз коразолу порівняно з контрольною групою мишей.

Одержані дані оброблені статистично за допомогою програми MS Excel.

Були побудовані QSAR-моделі з використанням симплексного підходу та аналізу впливу різних структурних факторів

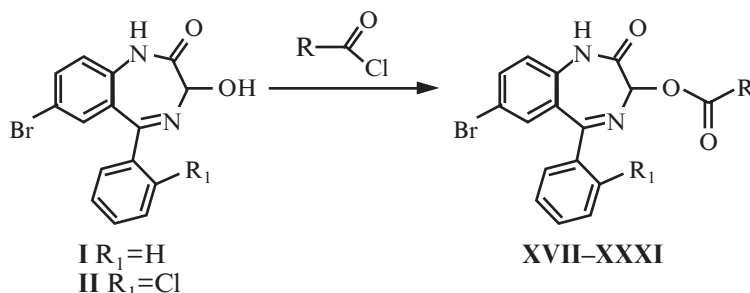
на прояв КТС і ТЕ. Об'єктом дослідження стала вибірка з 47 різних похідних 1,4-бенздіазепіну (рис. 3).

Для розрахунку структурних дескрипторів використовували симплексне представлення молекулярної структури (СПМС). Основою для опису в методі СПМС є симплексні чотириатомні фрагменти фіксованого складу та структури [3]. Для побудови моделей були використані 2D-симплекси, атоми у яких були диференційовані за типом, частковим зарядом, ліпофільні-

стю, поляризованістю, здатністю виступати донором/акцептором водневого зв'язку, характеристиками Ван-дер-Ваальсових взаємодій [4–6]. Для встановлення зв'язку «структура–активність» застосовано метод проєкцій на латентні структури (PLS — Projection of Latent Structures) [7].

Результати дослідження та їх обговорення

Усі сполуки були введені експериментальним тваринам одноразово перорально в моль-



R	CH ₂ -CH ₃	(CH ₂) ₄ -CH ₃	(CH ₂) ₅ -CH ₃	(CH ₂) ₆ -CH ₃	(CH ₂) ₁₀ -CH ₃	(CH ₂) ₁₂ -CH ₃	(CH ₂) ₁₄ -CH ₃	(CH ₂) ₁₆ -CH ₃
R ₁ =Cl	XVII	XVIII	XIX	XX	XXI	XXII	XXIII	XXIV
R ₁ =H		XXV	XXVI	XXVII	XXVIII	XXIX	XXX	XXXI

Рис. 2. Схема синтезу естерів 1,4-бенздіазепін-2-ону

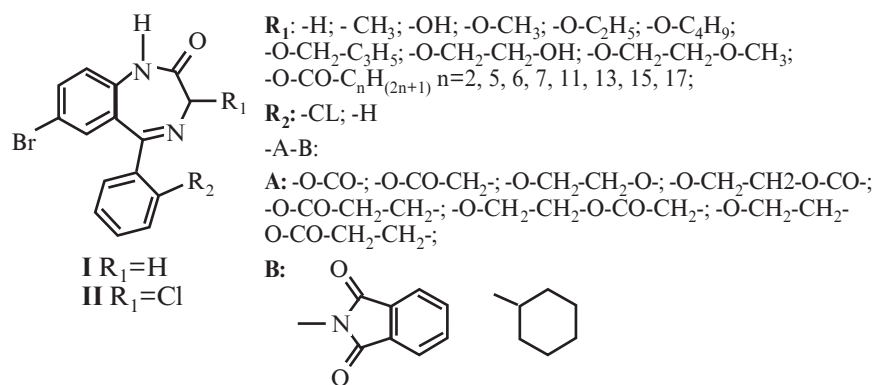


Рис. 3. Похідні 1,4-бенздіазепіну

ному перерахунку на 1 мг/кг на батьківську сполуку.

Контрольним тваринам вводили відповідні об'єми твінової емульсії. Через (1 і 24 год оцінювали протисудомну активність 3-заміщених похідних 1,4-бенздіазепіну щодо збільшення мінімальних ефективних доз (МЕД) коразолу (ДКТС і ДТЕ) порівняно з контрольною групою мишей (ДКТСк і ДТЕк відповідно).

Порівняльний аналіз протисудомної активності синтезованих нових етерів 1,4-бенздіазепіну, які характеризуються відсутністю атома хлору в фенільному фрагменті молекули, показав, що через 1 год після перорального введення все нові похідні виявилися більш активними порівняно з вихідною молекулою (I). Збільшення часу спостереження до 24 год показало, що для цих сполук зберігається високий рівень проти-

судомної активності, а для сполук VIII і IX необхідно відзначити навіть деяке збільшення активності (рис. 4). Через 24 год після перорального введення найбільш виражену протисудомну дію мали похідні VI, VIII, IX (див. рис. 4), що свідчить про те, що ці сполуки з часом піддаються гідролізу з вивільненням активної речовини. Зовсім інша картина спостерігається при вивченні протисудомних властивостей етерів 1,4-бенздіазепіну, які характеризуються наявністю атома хлору в фенільному фрагменті молекули (II). Введення замісника в третє положення гетероцикла призводить до значного зниження протисудомної активності всіх отриманих похідних порівняно з батьківською сполукою II через 1 год після перорального введення, а через 24 год спостерігається повна відсутність фармакологічної активності для

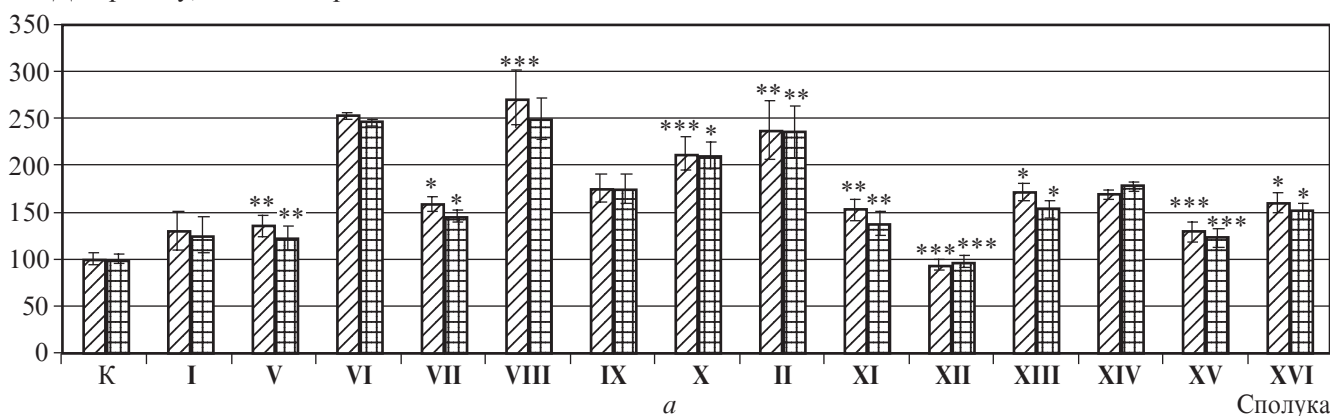
сполук XI–XVI при повному збереженні активності вихідної сполуки II.

Порівняльне вивчення фармакологічної активності естерів 1,4-бенздіазепіну, які характеризуються наявністю атома хлору в фенільному фрагменті молекули, показало, що через 1 год після перорального введення протисудомна активність отриманих сполук була нижчою, ніж активність вихідної сполуки II та феназепаму (рис. 5), що, найімовірніше, пов'язано зі збільшенням ліпофільності молекул і недостатністю часу для гідролізу естерного зв'язку та вивільнення активної молекули II.

Через 24 год після перорального введення практично всі естери показали збільшення фармакологічної активності порівняно з коротким часом впливу.

Збереження фармакологічної активності отриманих сполук при зниженні активності

МЕД коразолу, % від контролю



МЕД коразолу, % від контролю

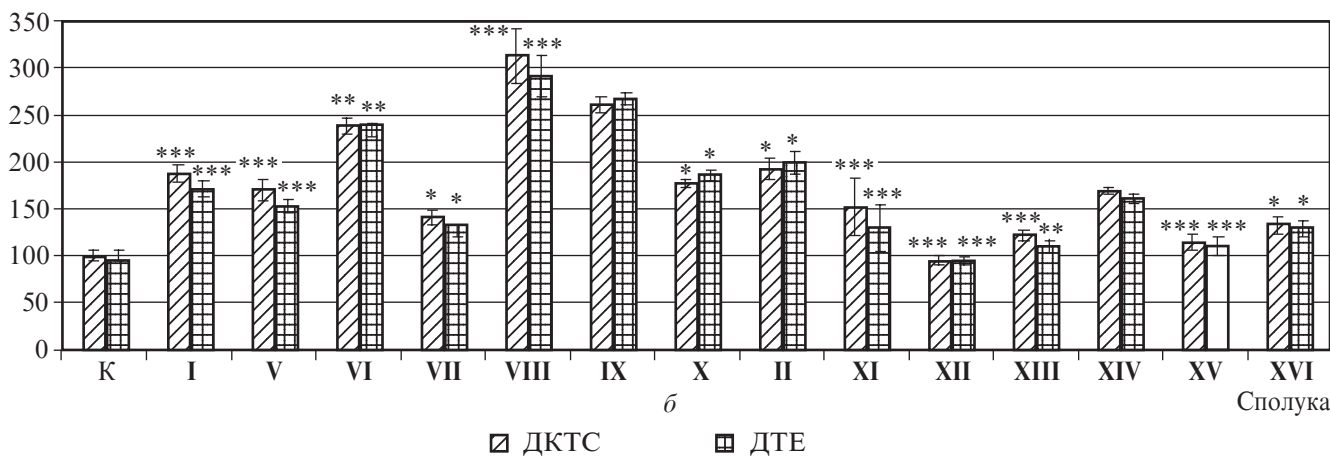


Рис. 4. Протисудомний ефект естерів (V–XVI) за антагонізмом з коразолом через 1 год (а) і 24 год (б) після перорального введення: * — $p \leq 0,05$; ** — $p \leq 0,01$; *** — $p \leq 0,001$

батьківської сполуки свідчить про їх пролонговану дію внаслідок низької швидкості гідролізу естерів.

Деяка інша картина спостерігається при вивченні протисудомної активності естерів 7-бром-5-феніл-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бенздіазепін-2-ону. Було показано, що введення замісників у третє положення гетерокільця (сполуки **I** і **XXV–XXXI**) призводить до незначного зниження активності досліджуваних сполук порівняно з БД-3 за короткий проміжок часу (1 год) після перорального введення.

Однак через 24 год після перорального введення протисудомна активність БД-3 практично зникла, тим часом як для сполук (**I**, **XXV–XXXI**) відзначено значне підвищення активності, особливо для сполуки **I**, яка містить ОН-групу в третьому положенні, та її збереження для сполуки **XXV–XXXI** (рис. 6).

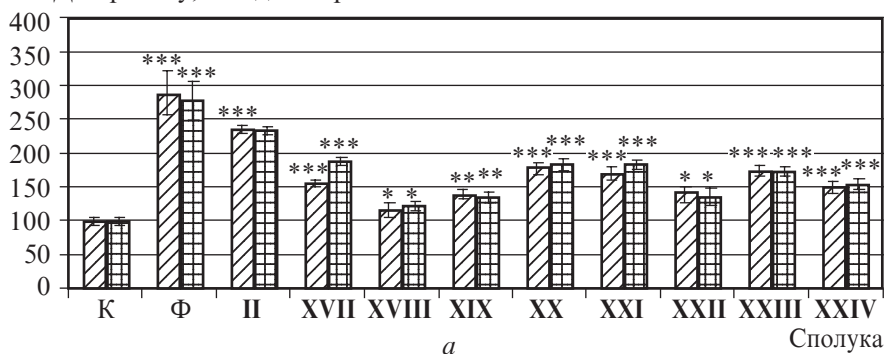
З метою подальшого вивчення впливу атома хлору в фенільному фрагменті на протисудомну активність були синтезовані естери, що містять у третьому положенні фталімідний або циклогексильний фрагменти з різною довжиною ланцюга.

Було показано, що введення фталімідного фрагменту в третє положення сполуки (**II**) приводить до збільшення протисудомної активності порівняно з батьківською сполукою. Подовження бічного ланцюга з одночасним введенням атома хлору в фенільний фрагмент молекули призводить до зниження протисудомної активності отриманих сполук.

Для сполук, що містять циклогексильний фрагмент, також було показано, що введення атома хлору в фенільний фрагмент гетерокільця призводить до зменшення фармакологічної активності отриманих сполук, їх активність не перевищує активності вихідної сполуки, а через 24 год значно знижується.

Були побудовані 2D PLS моделі з статистичними характе-

МЕД коразолу, % від контролю



МЕД коразолу, % від контролю

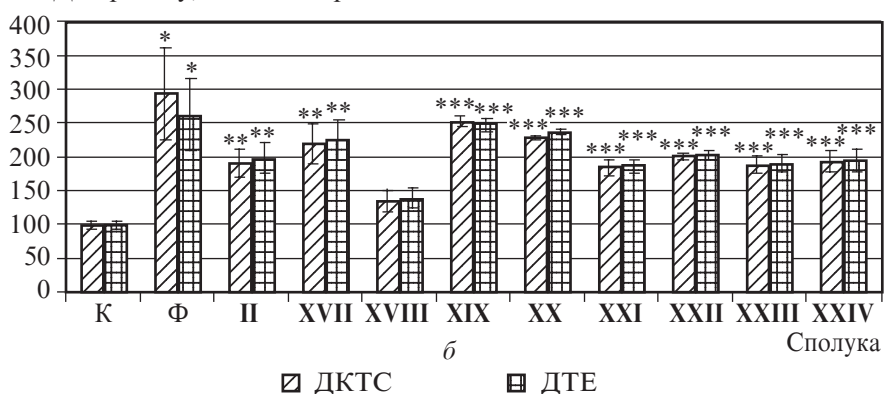
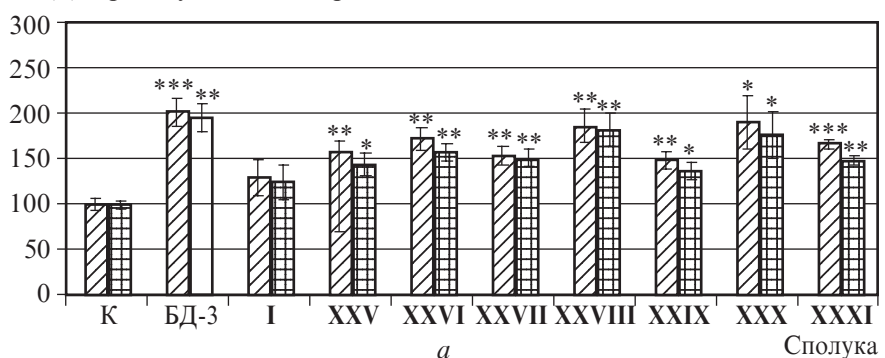


Рис. 5. Визначення протисудомної активності естерів 7-бром-5-(2'-хлор)феніл-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бенздіазепін-2-ону дозою 1 мг/кг через 1 год (а) і через 24 год (б) після перорального введення: * — $p \leq 0,05$; ** — $p \leq 0,01$; *** — $p \leq 0,001$

МЕД коразолу, % від контролю



МЕД коразолу, % від контролю

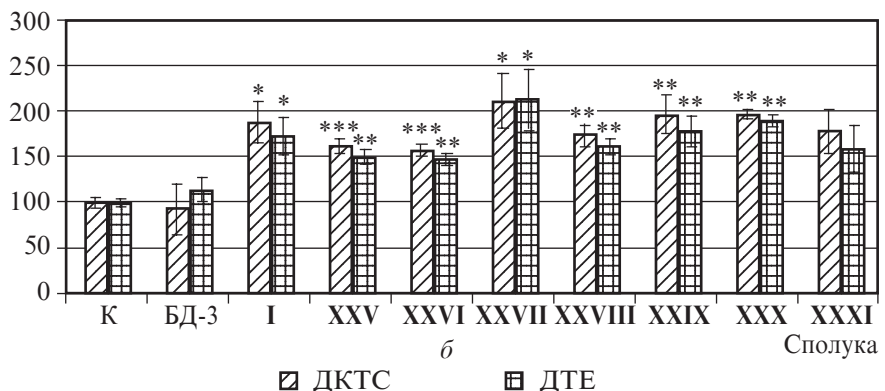


Рис. 6. Визначення протисудомної активності естерів 7-бром-5-(2'-хлор)феніл-1,2-дигідро-3*H*-1,4-бенздіазепін-2-она в дозі 1 мг/кг через 1 год (а) і через 24 год (б) після перорального введення: * — $p \leq 0,05$; ** — $p \leq 0,01$; *** — $p \leq 0,001$

ристиками: $R_2=0,71-0,73$; $Q_2=0,64-0,68$, де R_2 — коефіцієнт детермінації для навчальної вибірки, Q_2 — коефіцієнт детермінації в умовах ковзного контролю.

За даними щодо ДКТС було показано, що найбільший вплив на прояв даної активності спричинюють електростатичний фактор (приблизно 50 і 60 % відповідно після 1 і 24 год) і топологія молекул (31 %). Ліпофільність відіграє меншу роль (11 і 8 % відповідно після 1 і 24 год). На початковому етапі (1 год після введення препарату) також відіграє роль наявність водневого зв'язку (9 %; рис. 7).

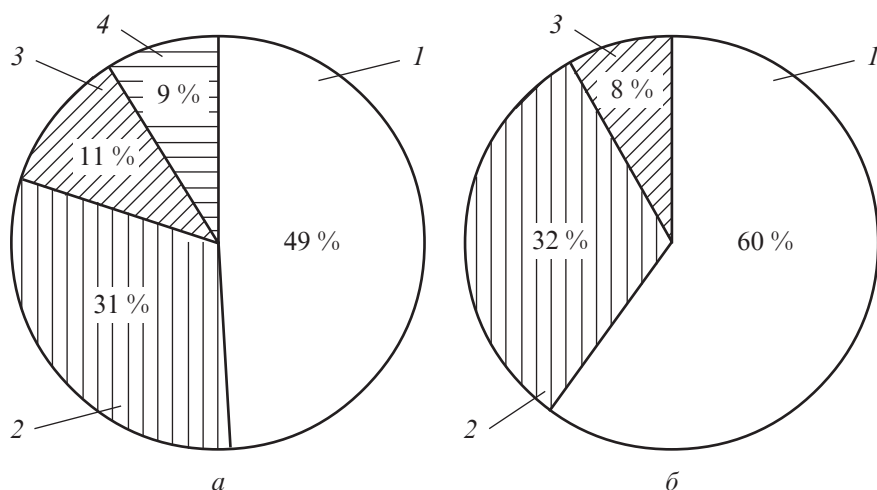


Рис. 7. Вплив фізико-хімічних факторів на прояви клоніко-тонічних судом через 1 год (а) та через 24 год (б) після перорального введення сполук: 1 — електростатичний фактор; 2 — топологія молекул; 3 — ліпофільність; 4 — водневий зв'язок

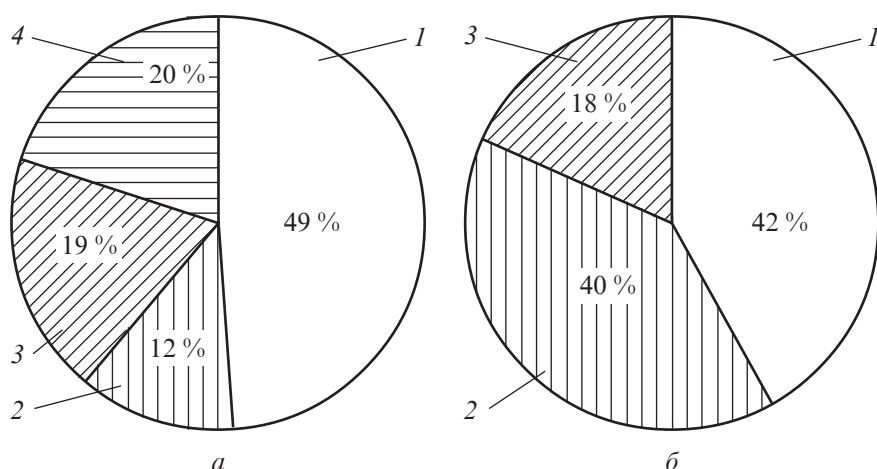


Рис. 8. Вплив фізико-хімічних факторів на прояви тонічної екстензії через 1 год (а) та через 24 год (б) після перорального введення сполук: 1 — електростатичний фактор; 2 — топологія молекул; 3 — ліпофільність; 4 — Ван-дер-Ваальсові взаємодії

За даними щодо ДТЕ також були побудовані 2D PLS моделі з такими статистичними характеристиками: $R_2=0,64-0,67$; $Q_2=0,52-0,60$. Найбільший вплив на прояв даної активності спричинює електростатичний фактор (приблизно 49 і 42 %, відповідно після 1 і 24 год). Вплив топології з часом збільшується з 12 до 40 %. Вплив ліпофільності у двох випадках майже не змінюється (19 і 18 %). На початковому етапі (1 год після введення препарату) також відіграють роль Ван-дер-Ваальсові взаємодії (20 %; рис. 8).

У рамках симплексного підходу можна визначити вклади

різних молекулярних фрагментів у досліджувану активність [8]. У результаті такого аналізу були виділені деякі фрагменти молекул, що сприяють або перешкоджають прояву активності. Аналізувався вплив замісників R_1 і R_2 . У результаті аналізу чотирьох побудованих моделей було виявлено, що наявність як замісника R_2 хлору знижує активність. Знижує активність також наявність як замісника R_1 метильної, гідроксильної груп, а також груп $-O-C_nH_{2n+1}$, $-O-CO-C_nH_{2n+1}$. Наявність фрагмента циклогексану сприяє на початковому етапі прояву активності в обох випадках (1 год після введення препарату), а потім перешкоджає йому (24 год після введення). Введення фталімідного фрагмента сприяє прояву активності в усіх випадках.

Висновки

Таким чином, проведене кількісне дослідження взаємозв'язку «структура–протисудомна активність» нових 3-заміщених похідних 1,4-бенздіазепіну показало, що 2D PLS моделі, на основі яких було проаналізовано вплив структурних факторів і молекулярних фрагментів на досліджувані властивості, можуть використовуватися для спрямованого синтезу нових похідних 1,4-бенздіазепіну із заданими властивостями.

ЛІТЕРАТУРА

1. Головенко Н. Я. Биохимическая фармакология пролекарств : монография / Н. Я. Головенко, И. А. Кравченко. — Одесса : Экология, 2007. — 360 с.
2. Промышленная технология лекарств : учебник в 2-х т. Т. 2. — X. : МТК-Книга ; Изд-во НФАУ, 2013. — 716 с.
3. Virtual screening and molecular design based on hierarchical QSAR technology / V. E. Kuz'min, A. G. Artemenko, E. N. Muratov [et al.] // In Recent Advances in QSAR Studies, Eds. T. Puzyn, J. Leszczynski, M. Cronin, Springer, London. — 2010. — P. 127–176.
4. Jolly W. L. Estimation of atomic charges by an electronegativity equalization procedure calibration with core bin-

ding energies / W. L. Jolly, W. B. Perry / J. Am. Chem. Soc. — 1973. — N 95. — P. 5442–5450.

5. Wang R. A new atom-additive method for calculating partition coefficients / R. Wang, Y. Fu, L. Lai // J. Chem. Inf. Comput. Sci. — 1997. — N 37. — P. 615–621.

6. Иоффе Б. В. Рефрактометрические методы химии / Б. В. Иоффе. — Ленинград: Химия, 1983. — 350 с.

7. A PLS Kernel Algorithm for Data Sets with Many Variables and Fewer objects. Part 1: Theory and Algorithm / S. Ronnar, F. Lindgren, P. Geladi,

S. Wold // J. Chemometrics. — 1994. — N 8. — P. 111–125.

8. PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances / A. Lagunin, A. Stepanchikova, D. Filimonov, V. Poroikov // Bioinformatics. — 2000. — N 16 (8). — P. 747–748.

УДК 541.63:615.1.015.54

І. М. Радаєва, І. А. Кравченко, В. Є. Кузьмін, Л. М. Огніченко, В. І. Павловський, К. О. Семенішина

КІЛЬКІСНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКУ «СТРУКТУРА–ПРОТИСУДОМНА АКТИВНІСТЬ» НОВИХ 3-ЗАМІЩЕНИХ ПОХІДНИХ 1,4-БЕНЗДІАЗЕПІНУ

Робота присвячена вивченню взаємозв'язку «структура–протисудомна активність» нових 3-заміщених похідних 1,4-бенздіазепіну. Протисудомний ефект оцінювали методом визначення мінімальних ефективних доз коразолу. Було використано метод симплексного представлення молекулярної структури. Показано, що 2D PLS моделі, на основі яких проаналізовано вплив структурних факторів і молекулярних фрагментів на досліджувані властивості, можуть використовуватися для спрямованого синтезу нових похідних 1,4-бенздіазепіну із заданими властивостями.

Ключові слова: 1,4-бенздіазепін-2-он, протисудомна активність, QSAR/QSPR, симплексний метод.

UDC 541.63:615.1.015.54

I. M. Radayeva, I. A. Kravchenko, V. Ye. Kuz'min, L. M. Ognichenko, V. I. Pavlovsky, K. O. Semenishina

QUANTITATIVE STUDY OF RELATIONSHIP “STRUCTURE–ANTICONVULSANT ACTIVITY” OF NEW 3-SUBSTITUTED DERIVATIVES OF 1,4-BENZODIAZEPINE

This work is devoted to the study of relationship “structure — anticonvulsant activity” of new 3-substituted derivatives of 1,4-benzodiazepine. Anticonvulsant effect was evaluated by determining the minimum effective dose of corazol. Method of simplex conception of molecular structure has been used. It is shown that 2D PLS model on which we analyzed the influence of structural factors and molecular fragments in the studied properties can be used for direct synthesis of new derivatives of 1,4-benzodiazepine with desired properties.

Key words: 1,4-benzodiazepin-2-on, anticonvulsant activity, QSAR/QSPR, simplex method.

УДК 616.36-004:599.323.4:547.495.9:547.814.5:591.81

Н. А. Рикало, *д-р мед. наук, доц.*,
Л. О. Яровенко

ДОСЛІДЖЕННЯ ФАЗ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ ЯДЕР ГЕПАТОЦИТІВ У ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП ПРИ ХРОНІЧНОМУ АЛКОГОЛЬНОМУ УШКОДЖЕННІ ПЕЧІНКИ ТА МЕДИКАМЕНТОЗНІЙ КОРЕКЦІЇ КВЕРЦЕТИНОМ І L-АРГІНІНОМ L-ГЛУТАМАТОМ

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

Дослідження репаративної регенерації печінки при різних токсичних впливах на організм є надзвичайно важливим, оскільки патологія печінки посідає одне з провідних місць у структурі захворюваності та відзначається тенденція до її зростання. Це пов'язано з поширенням інфікованості населення вірусами гепатитів, збільшенням частоти токсичних уражень печінки, особливо алкогольної, токсичної, медикаментозної, радіаційної етіології [1; 2].

Відомо, що етанол може призвести до значних структурних

і функціональних змін печінкових клітин, однак нормальний та репаративний ріст печінки як варіант регенерації відіграє важливу роль у процесах відновлення маси та функції ураженого органа [1]. Експериментальні дослідження, проведені Рикало Н. А. (2011) на щурах із хронічним токсичним тетрахлорметановим гепатитом, дали змогу встановити позитивний фармакологічний ефект великої кількості препаратів із гепатопротекторними властивостями на процеси регенерації печінки [3]. Однак вікові особли-

вості фаз клітинного циклу та вплив препаратів на регенеративні процеси при експериментальному хронічному алкогольному ураженні печінки (ХАУП) раніше не вивчалися. З'ясування молекулярних механізмів, які зумовлюють дані процеси, залишається актуальною проблемою сучасної медицини. Регенеруюча печінка гризунів вважається класичною моделлю для вивчення загальних закономірностей і тканинспецифічних особливостей репаративних процесів. Регенерація має такі складові: реакція на ушко-