

УДК 577:615.547

ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПИРИМИДИНОВ НА АКТИВНОСТЬ МАО А ПЕЧЕНИ ЧЕЛОВЕКА

А.Н. Фаттахова, Н.А. Нигматзянова, А.В. Лонцова, В.С. Резник

Аннотация

Установлено, что синтетические пиримидины 1,3-бис[4-(N-2'-хлорфенил) пиперазидил-N-бутил]-6-метилурацил и 1[4-(N-фенилпиперазидил-N')-бутил]-3,6-диметилурацил в дозах от 10^{-7} до 10^{-3} М ингибировали МАО А норадреналина в митохондриях печени человека и в дозе 10^{-3} М снижали кровяное давление кроликов. Константы ингибирования составили, соответственно, 55.6 и 40.8 мкМ.

Введение

Моноаминоксидаза А (МАО А) – ключевой фермент обмена нейромедиаторов в организме человека. Нарушения обмена серотонина, норадреналина и дофамина вносят основной вклад в патогенез многих психических заболеваний. МАО А является мишенью лекарственной терапии, поэтому создание новых обратимых селективных ингибиторов фермента является актуальной задачей. Обратимые ингибиторы МАО А оказывают антидепрессивное и гипотензивное действие. С психофармакологической точки зрения, гипотензивное действие является побочным, нередко ограничивающим применение ингибиторов МАО А у больных старше 60 лет [1]. Подавление МАО А, возможно, приводит к стимуляции синтеза N-ацетилсеротонина, эндогенного гипотензивного фактора [1, 2]. Показано, что N-ацетилсеротонин снижал кровяное давление у спонтанных гипертензивных крыс [2]. Кроме того, у мышей, дефицитных по МАО А, наблюдали стойкую гипотензию вследствие повышения содержания вазоактивных аминов [1]. В то же время фентермин, ингибитор МАО серотонина, обладал, напротив, гипертензивным действием [3]. Вопрос о строгой корреляции гипотензивного эффекта и способности ингибировать МАО А синтетических лекарственных препаратов остается открытым.

Синтетические пиримидины проявляют различную биологическую активность и являются потенциальными лекарственными структурами. 2-меркапто-4(3H)-хиназолин и 2-меркаптопиримидин ингибировали ксантиноксидазу человека *in vitro* [4], имидазо[1,2- α]пиримидины влияли на ферментативные функции макрофагов мыши [3]. Установлено, что Pt₂(2-меркаптопиримидин)₄Cl₂ проявлял цитотоксические свойства по отношению к клеткам опухоли [5]. Замещенные пиримидины, обладающие гипотензивными свойствами, могут служить интересной моделью для выявления корреляции ингибиторных и гипотензивных свойств лекарственных препаратов.

Целью исследования было выявление воздействия на МАО А печени человека замещенных пиримидинов, обладающих и не обладающих гипотензивными свойствами.

Методика

Исследуемые вещества синтезированы в ИОФХ им. А.Е. Арбузова РАН как возможные предшественники гипотензивных средств: **(P1)** 1,3-бис[4-(N-2'-хлорфенил)пиперанизил-N-бутил]-6-метилурацил; **(P2)** 1[4-(N-фенилпиперанизил-N')-бутил]-3,6-диметилурацил; **(P3)** динатрий-1,6-димеркапто-4-метилпиримидин; **(P4)** 2-меркапто-4,6-диметилпиримидин; **(P5)** 2-меркапто-4-метил-6-аминопиримидин.

Гипотензивное действие соединений определяли в острых опытах на кроликах под хлоралозо-уретановым наркозом, который вводили внутривенно в дозе 30 мг/кг и 500 мг/кг соответственно. Показателем гипотензии служило снижение кровяного давления в ответ на введение растворов пиримидинов в дозе 1 мМ в краевую вену уха кролика ($n = 3-5$). Объем вводимого раствора не превышал 0.2 мл/кг массы животного. Кровяное давление измеряли с помощью ртутного электроманометра в течение 30 мин. В контрольных вариантах кроликам ($n = 3$) вводили 0.9%-ную NaCl. В качестве препарата сравнения вводили моклобемид (4-хлор-N-(2-морфолиноэтил)-бензамид, ICN Pharmaceuticals) в дозе 10^{-5} М.

Для выделения митохондрий использовали образцы печени двух человек, представленные Банком тканей Судебно-медицинской экспертизы МЗ Республики Татарстан. Митохондриальная фракция получена при помощи стандартной процедуры [1]. Перед опытами митохондрии промывали 0.05 М фосфатным буфером, содержащем 0.25 М сахарозы (рН 7.0), и разрушали методом «замораживания – оттаивания».

Активность МАО А определяли в реакционных смесях объемом 0.2 мл, содержащих 50 мМ фосфатного буфера (рН 7.0), пиримидины или моклобемид в дозах от 10^{-3} М до 10^{-8} М, 50 мкг белка митохондрий, 4.55 мМ 2,4-динитрофенилгидразина (Sigma), 1,36 мМ норадреналина HCl (ICN Pharmaceuticals) [6].

Результаты

Исследуемые пиримидины по степени гипотензивного воздействия на кроликов были разделены на две группы. Меркаптопиримидины (P3, P4 и P5) достоверно не влияли на показатели кровяного давления кроликов. Замещенные пиримидины (P1 и P2) снижали кровяное давление через 2 мин. после введения 1 мМ растворов исследуемых веществ. Гипотензивный эффект сохранялся в течение 20 мин. Вещество сравнения моклобемид оказывало более выраженное гипотензивное действие (рис. 1) так же, как и в опытах со спонтанно гипертензивными крысами [1]. Выбор вещества сравнения был продиктован тем обстоятельством, что моклобемид, являясь селективным, обратимым ингибитором МАО А, в то же время снижал кровяное давление у крыс [7, 8].

Изучение ингибиторных свойств синтетических пиримидинов проводили в опытах *in vitro*. Объектом исследования служила митохондриальная фракция

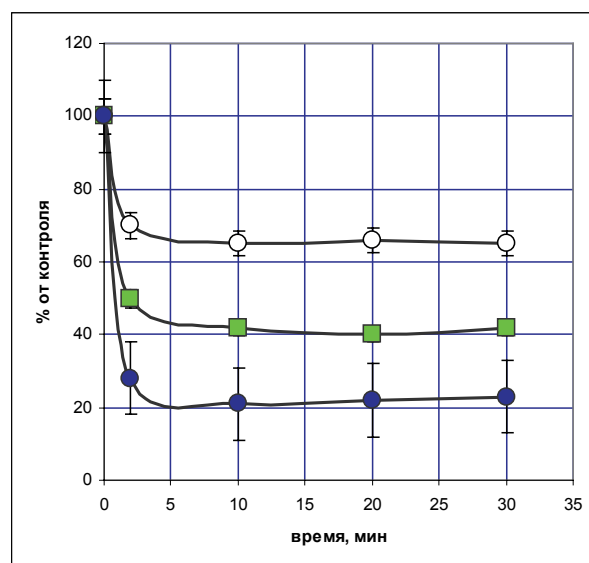


Рис. 1. Снижение кровяного давления кроликов после внутривенного введения 1,3-бис [4-(N-2'-хлорфенил)пиперанизил-N-бутил]-6-метилурацила (**P1**) ($p < 0.05$) и 1[4-(N-фенилпиперанизил-N')-бутил]-3,6-диметилурацила (**P2**) ($p < 0.05$) в дозе 1 мМ. Вещество сравнения моклобемид ($p < 0.10$) вводили в вену уха кроликов в дозе 10^{-5} М. На каждую точку использовали 3 кролика

аутопсийной печени двух мужчин 25 и 30 лет. Активность моклобемид зависимой MAO А норадреналина в митохондриях составила $0.3 + 0.05$ ед/мг белка в мин. (рис. 2 – контроль), и соответствовала данным показателям биопсийной печени человека (неопубликованные данные).

Замещенные пиримидины (P1 и P2) достоверно ($p < 0.05$) снижали скорость окисления норадреналина в митохондриях в дозах от 10^{-7} до 10^{-3} М (рис. 2). Рассчитанные методом обратных величин по Лайнуверу и Бэрку константы ингибирования K_i составили 55.6 и 40.8 мкМ для P1 и P2 соответственно. Значения K_i замещенных пиримидинов сопоставимы с константой ингибирования фентерамина [9], но превышают K_i моклобемид (15 мкМ).

Меркаптопиримидины (P3, P4, P5), не обладающие гипотензивными свойствами (рис. 1), в исследованных дозах достоверно не влияли на скорость окисления норадреналина в митохондриях печени человека (рис.3). Возможно, что корреляция ингибиторного и гипотензивного свойств замещенных пиримидинов (P1 и P2) отражает молекулярный механизм ингибирования MAO А. Показано, что моклобемид связывается обратимо с апоферментом MAO А, предотвращая реакции окислительного дезаминирования биогенных аминов [7]. Некоторые синтетические пиримидины способны образовывать устойчивые комплексы с белками. Так, 2-меркаптопиримидин связывался с антителами сыворотки человека в течение 10 мин. [8]. Возможно, что гипотензивный эффект синтетических пиримидинов (рис.1) является результатом достаточно быстрого повышения концентрации вазоактивных аминов в организме кроликов, как показано также для крыс [8, 9]. Следует отметить, что некоторые ингибиторы

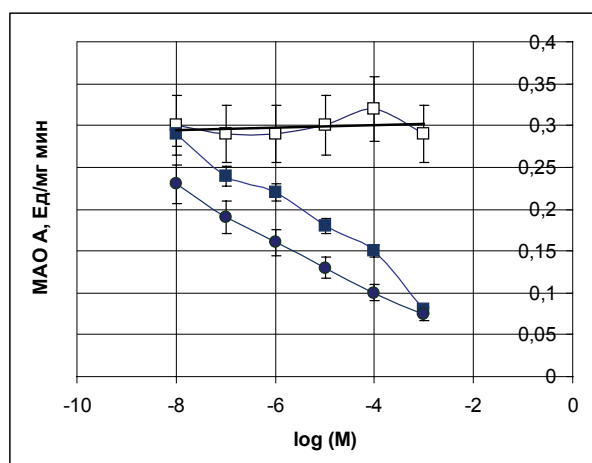


Рис. 2. Влияние ингибиторов 1,3-бис[4-(N-2'-хлорфенил)пиперанизил-N-бутил]-6-метилурацила (**P1**) ($p < 0.05$), 1[4-(N-фенилпиперанизил-N')-бутил]-3,6-диметилурацила (**P2**) ($p < 0.05$) на активность MAO A норадреналина в митохондриях печени человека. Активность MAO A в присутствии моклобемида в дозах от 10^{-8} до 10^{-3} М отсутствовала. Активность MAO A в митохондриях печени без ингибитора составила 0.3 ± 0.05 ед./мг белка в мин. ($p < 0.05$)

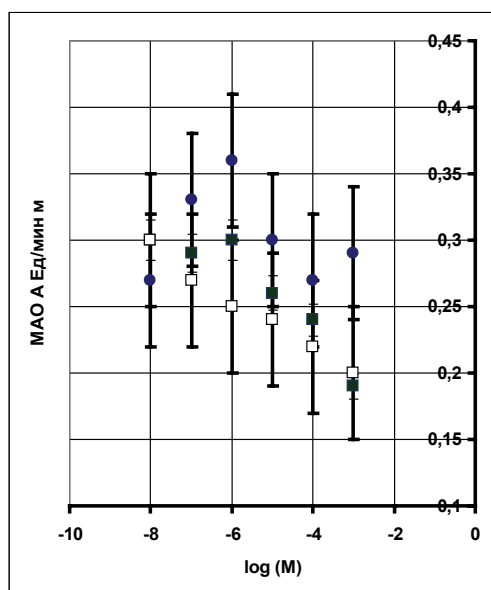


Рис.3. Влияние меркаптопиримидинов на активность моноаминоксидазы А в печени человека: динатрий-1,6-димеркапто-4-метилпиримидина (**P3**), 2-меркапто-4,6-диметилпиримидина (**P4**), 2-меркапто-4-метил-6-аминопиримидина (**P5**)

MAO A, такие, как фентерамин, оказывают напротив гипертензивный эффект [10]. MAO A норадреналина в митохондриях печени человека и в дозе 10^{-3} М снижали кровяное давление кроликов.

Работа выполнена при поддержке Фонда НИОКР Республики Татарстан (проект № 03.3.2-161/ 2003).

Summary

A.N. Fattakhova, N.A. Nigmatzyanova, A.V. Lontsova, V.S. Reznik. Effect of synthetic pyrimidines on the MAO A activity in human liver.

The synthetic pyrimidines 1,3-bis[4-(N-2'-chlorophenyl) piperanosyl-N-butyl]-6-methyluracil and 1[4-(N-phenylpiperanosyl-N')-butyl]-3,6-dimethyluracil in concentrations from 10^{-7} to 10^{-3} M were determined to inhibit noradrenaline MAO A activity in human liver mitochondria and in dose 10^{-3} M to decrease the blood pressure in rabbits. K_i were calculated as 55.6 and 40.8 μ M respectively.

Литература

1. *Oxenkrug G.F.* Antidepressive and antihypertensive effects of MAO-inhibition: role of N-acetylserotonin // *Neurobiology*. – 1999. – No 7. – P. 213–240.
2. *Lin C.Y., Ho A.C., Chiang H.C., Sun J.S., Sheu S.Y.* Reactive oxygen scavenger effect of pyrimidines, benzotriazoles and related compounds // *Anticancer Res.* – 2002. – V. 22. – P. 937–942.
3. *Ulus I.H., Maher T.J., Wurtman R.J.* Characterization of phentermine and related compounds as monoamine oxidase (MAO) inhibitors // *Biochem. Pharmacology*. – 2000. – V. 59. – P. 1611–621.
4. *Scholz G.H., Wippich P., Leistner S., Huse K.* Analysis of the principal component based quantitative phenotypes for alcoholism // *J. Chromatogr. Biomed. Sci Appl.* – 1998. – V. 709. – P. 189–196.
5. *Bonnet U.* Evidence for positive selection and population structure at the human MAO-A gene // *CNS Drug Rev.* – 2003. – No 9. – P. 97–140.
6. *Фаттахова А.Н.* Методы молекулярной фармакологии. – Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2002. – С. 2–31.
7. *Holschneider D.P., Scremin O.U., Roos K.P., Chialvo D.R., Chen K., Shih J.C.* Lack of the protection from ischemic injury of monoamine oxidase B-deficient mice following middle cerebral artery occlusion // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2002. – V. 282. – P. 964–972.
8. *Gonzales V.M., Fuertes M.A., Perez-Alvarez M.J., Cervantes G., Moreno V., Alonso C., Perez J.M.* Induction of apoptosis by the bis-Pt(III) complex [Pt₂(2-mercaptopyrimidine)₄Cl₂] // *Biochem. Pharmacol.* – 2000. – V. 60. – P. 371–379.
9. *Prakhie I.V., Oxenkrug G.F.* The effect of nifedipine, Ca(2+) antagonist, on activity of MAO inhibitors, N-acetylserotonin and melatonin in the mouse tail suspension test // *Int. J. Neuropsychopharmacology*. – 1998. – No 1. – P. 35–40.
10. *Vidal A., Ferrandiz M.L., Ubeda A., Acero-Alarcon A., Sepulveda-Arques L., Alcaraz M.J.* Effect of imidazo[1,2-a]pyrimidine derivatives on leukocyte function // *Inflammatory Res.* – 2001. – V. 50. – P. 317–320.

Поступила в редакцию
15.06.05

Фаттахова Альфия Нурлимамовна – кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии Казанского государственного университета.

E-mail: afattakh@rambler.ru

Нигматзянова Наиля Ахатовна – студентка 4-го курса кафедры биохимии Казанского государственного университета.

Лонцова Алла Васильевна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова РАН.

Резник Владимир Савич – доктор химических наук, профессор Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова РАН.