

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ БІООРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ ТА НАФТОХІМІЇ

На правах рукопису

ПРОКОПЕНКО Роман Андрійович

**ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК МІЖ СТРУКТУРОЮ ТА ЗАГАЛЬНИМ
ПРОФІЛЕМ ФІЗІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ РЕЧОВИН,
ЩО ДІЮТЬ НА СКОРОЧУВАНІСТЬ ГЛАДЕНЬКИХ М'ЯЗІВ**

02.00.10 - біоорганічна хімія, хімія природних та фізіологічно
активних речовин

03.00.13 - фізіологія людини і тварин

А в т о р е ф е р а т
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ - 1996

575
377.7
Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України.

№ 36.214
ЛНБ України ім.В.Стефаніка



00757195 (Y)

Наукові керівники: доктор медичних наук
Л. М. Зайцев
кандидат біологічних наук,
С. Є. Могилевич

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Рибальченко В. К.
доктор медичних наук,
Жирнов В. В.

Провідна організація - Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського
НАН України.

Захист відбудеться 20 грудня 1996 р. на засіданні спеціалізованої вченої ради
Д 01.80.01 в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України
(253660, Київ, вул. Мурманська, 1).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту біоорганічної хімії
та нафтохімії НАН України (253660, Київ, вул. Мурманська, 1).

Автореферат розісланий 20 листопада 1996 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

Д.М. Федоряк

Актуальність.

В рамках нового наукового напрямку – хімії біорегуляторних процесів – чільне місце займає дослідження закономірностей взаємозв'язку між структурою фізіологічно активних речовин (ФАР) та їх біорегуляторною дією (В.П.Кухар, О.І.Луїк, 1991). Одним з важливих інтегральних проявів такої дії є біорегуляція скорочувальної функції гладеньких м'язів.

Біорегуляція клітинних функцій та клітинної активності в певних фізіологічних межах здійснюється ФАР, як правило, за посередництва клітинних сигнальних систем. Біологічною функцією останніх є сприйняття, трансмембранне проведення, трансформація та реалізація зовнішнього сигналу клітиною. Серед цих систем найбільш важливими та універсальними (тобто основними) сигнальними системами клітини (ОССК) є аденілатциклазний каскад (СІ) та фосфоліпідна, або, в більш прийнятному для даного дослідження, дещо вужчому розумінні, поліфосфоінзитидна система (СІІ), яка опосередковує мобілізацію внутрішньоклітинного кальцію (О.І.Луїк зі співавт., 1988; В.П.Кухар, О.І.Луїк, 1991). Найбільш придатною для дослідження біохімічних та функціональних особливостей взаємодії між двома ОССК, на тканинному рівні біологічної організації, вважається гладеньком'язова тканина (А.А.Абдел-Латіф, 1991).

Інтеграція ОССК на рівні вторинних посередників, рецепторний, як правило, характер їх взаємодії, а також та обставина, що ОССК є найбільш загальною фармакологічною мішенню для дії ФАР на рівні клітини, дозволили виділити основні типи біорегуляторної дії ФАР, що відображають зміщення динамічного

балансу між активностями двох ОССК в напрямку однієї з них (В.П.Кухар, О.І.Луйк, 1991).

З теоретичної та практичної точок зору, актуальним є вивчення як самої дії типових представників двох класів ФАР з протилежними біорегуляторними стереотипами на гладенькі м'язи, так і зв'язку між цією дією та структурою ФАР.

Ступінь дослідженості тематики.

В ході цілеспрямованих досліджень найбільш загальних залежностей між структурою та фармакологічною активністю ФАР (що ведуться з кінця 80-х років на базі відділу медико-біологічних досліджень ІБОНХ НАН України під керівництвом професора О. І. Луйка) була показана структурно-функціональна спільність ФАР, подібно впливаючих на ОССК, і виділено два основних біорегуляторних стереотипи дії ФАР: активація аденілатцикласної системи та/або інгібування кальціємобілізуючої поліфосфоінозитидної системи (скорочено, +CI/-CII), і протилежний тип біорегуляторної дії - -CI/+CII. Функціональна спільність в дії ФАР цих двох класів показана, головним чином, на субклітинному та клітинному рівнях. Питання про її прояв на більш високих рівнях біологічної організації, зокрема, на рівні ізольованого органу, вивчене недостатньо і становить значний інтерес у контексті проблеми побічної дії лікарських засобів. Зручною та простою моделлю ізольованого органу є ізольовані препарати гладеньких м'язів, скорочувальна функція котрих, у загальному випадку, реципрочно регулюється CI (негативно) і CII (позитивно).

Показано, що ступінь структурної спільності значно вищий у ФАР класу +CI/-CII (до якого належать і досить поширені лікарські засоби та інші ФАР зі спазмолітичною дією). Так, за

допомогою електронно-топологічного методу (ЕТМ) в 20 молекулах характерних представників біорегуляторів цього класу було виявлено спільний 3-мірний фармакофор, який не зустрічається в ФАР другого класу (Г.І. Пода зі співавт., 1996). Проте загальний структурний аналіз модулаторів ОССК та скорочувальної функції гладеньких м'язів (зокрема, на наявність вищезначеного фармакофору), а також спеціальне дослідження найбільш загальних залежностей між структурою та біорегуляторною дією ФАР на гладенькі м'язи до цього часу не проводилися.

Мета роботи.

Метою роботи було вивчення прояву двох головних біорегуляторних стереотипів ФАР та встановлення закономірностей взаємозв'язку між структурою та біорегуляторною активністю в дії ФАР на гладенькі м'язи.

Основні завдання дослідження.

1) Провести порівняльне дослідження *in vitro* дії на електростимульовані скорочення гладеньких м'язів сечоводу морської свинки та спонтанні скорочення матки щура ряду таких відомих ендогенних регуляторів скорочувальної функції гладеньких м'язів, як біогенні аміни (норадреналін, ацетилхолін, гістамін, серотонін) та ейкозаноїди (лейкотрієн C_4 та простаглієн).

2) Дослідити особливості біорегуляторної дії двох груп ксенобіотиків – типових представників двох основних класів ФАР з протилежними біорегуляторними стереотипами – на скорочувальну активність ізольованих препаратів гладеньких м'язів (у рамках використаних експериментальних моделей електростимульованої та спонтанної скорочуваності сечоводу морської свинки та матки щура, відповідно).

3) Провести загальний порівняльний аналіз будови молекул

досліджуваних ФАР та інших низькомолекулярних біорегуляторів, для яких встановлена здатність чинити виразну міотропну спазмолітичну дію (не опосередковану виключно специфічною блокадою цими речовинами зовнішньомембранних рецепторів клітин ізольованих гладеньких м'язів).

Теоретична і практична цінність роботи.

Отримані результати дозволяють розширити існуючі уявлення про стереотипні механізми біорегуляції, що сприяє подальшому розвитку загальної концепції біорегуляторних стереотипів. Вони свідчать про можливість досить чіткого прояву біорегуляторних стереотипів на рівні ізольованого органу та про існування важливої загальної закономірності взаємозв'язку між структурою та біорегуляторною активністю ФАР класу +CI/-CII. Вона полягає в тому, що прояв виразної спазмолітичної активності у ФАР, політропно (як правило) діючих на трансмембранні рецептори, пов'язаний з наявністю в їх молекулах спільного 3-мірного фармакофору.

Отримані результати можуть бути використані, головним чином, в двох актуальних практичних напрямках. По-перше, при розробці принципово нової стратегії конструювання лікарських засобів (та інших ФАР), яка враховує існування стереотипних механізмів біорегуляції. Ця стратегія є альтернативною до існуючої, на сьогоднішній день малоефективної методології, спрямованої на отримання (за поодинокими ознаками хімічної будови) сполук з максимально специфічною фармакологічною дією. І, по друге, результати роботи можуть бути корисними для таких важливих практичних цілей фармакотерапії, як аналіз особливостей побічної дії лікарських засобів, більш ефективного використання відомих препаратів при лікуванні хвороб, що мають бага-

тофакторне походження, та розробка нових схем терапії таких хвороб.

Отримані результати також свідчать про придатність ізольованих препаратів гладеньких м'язів для ефективного використання як тест-об'єктів при прогнозуванні загальної спрямованості дії хімічних сполук на ОССК, а отже, в значній мірі, й при прогнозуванні загального профілю фізіологічної активності цих речовин.

Наукова новизна роботи.

Вперше проведено комплексне та цілеспрямоване дослідження особливостей біорегуляторної дії модуляторів ОССК на скорочувальну функцію гладеньких м'язів *in vitro*, в результаті якого показано, що ФАР класу +СІ/-СІІ чинять, як правило, спазмолітичну дію, а ФАР класу -СІ/+СІІ - спазмогенну. Відмінності дії різних ФАР у двох використаних моделях гладеньком'язової скорочуваності пов'язані, головним чином, із різною роллю β -адренорецепторів, потенціал-залежних кальцієвих каналів та біосинтезу ейкозаноїдів у регуляції скорочуваності гладеньких м'язів різних органів.

Вперше, за допомогою ЕТМ, проведено загальний порівняльний аналіз будови молекул ФАР, що діють на скорочувальну функцію гладеньких м'язів. При цьому, спільний фармакофор, характерний для ФАР класу +СІ/-СІІ з політропною та мембранотропною дією, було знайдено в молекулах тих досліджених ксенобіотиків, яким, окрім спазмолітичної, також (як правило) притаманна блокуюча дія на мембранні рецептори ОССК (пов'язані, головним чином, з активацією СІІ, або інгібуванням СІ).

Рівень реалізації.

Для проведення експериментальних досліджень особливостей

міотропної дії, а також скринінгу на фізіологічну активність великої кількості хімічних сполук на базі IBM PC AT 286 створено систему автоматичного проведення експериментів на ізольованих препаратах гладеньких м'язів.

Апробація роботи.

Основні результати роботи доповідалися на XII міжнародному конгресі з фармакології (Монреаль, 1994), на I Європейському конгресі з фармакології (Мілан, 1995) та на IX, X і XI наукових конференціях з біоорганічної хімії та нафтохімії ІБОНХ НАН України (Київ, 1994, 1995, 1996).

Публікації.

По матеріалах дисертації опубліковано 5 робіт у вітчизняних та в закордонних міжнародних журналах.

Структура та обсяг роботи.

Дисертація викладена на 120 сторінках машинописного тексту і складається із вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів, трьох розділів результатів досліджень та їх обговорення, закінчення, висновків та списку цитованої літератури, котрий нараховує 155 першоджерел. Робота проілюстрована 23 малюнками та 4 таблицями.

Конкретний особистий внесок дисертанта.

Всі основні результати роботи отримані автором.

Методологія, методи дослідження.

Досліджувані ФАР.

Окрім таких відомих ендогенних регуляторів скорочувальної функції гладеньких м'язів, як біогенні аміни - норадреналін, ацетилхолін, гістамін, серотонін, та ейкозаноїди - лейкотрієн C_4 та простаглієн, для дослідження були відібрані ще дві групи низькомолекулярних біорегуляторів - типових представників

двох основних класів ФАР з протилежними біорегуляторними стереотипами: +CI/-CII та -CI/+CII.

У порівнянні зі стандартними спазмолітиками – папаверином та теофіліном, а також блокаторами кальцієвих каналів – верапамілом, ґоридоном та нітрєндіпіном, як ФАР класу +CI/-CII, також, вивчалися: активатор β -адрєнорецепторів ізадрин та блокатори рецепторів, що активують CII та/або інгібують CI – димєдрол, супрастин, іохімбін, празозин, сульпірид та атропін; типові представники двох основних груп нейролєштиків (похідних ґєнотіазину та бутироґєнону) – хлорпромазин, галопєридол та дропєридол; трициклічні антидепрєсанти імїпрамін та ґторацизін; психомоторний стимулятор кофеїн; ґлавоноїд кверцєтин; нестероїдні протизапальні засоби вольтарєн й індомєтацин; та селективний інгібітор ліпооксигєнази BW755C.

Як ФАР класу -CI/+CII, у порівнянні з відомим активатором кальцієвих каналів (та скорочуваності гладєнких м'язів) Вау К 8644 та вищєзгаданими ендогєнними агонїстами, вивчались β -адрєноблокатор обзидан, селективні α_1 - та α_2 -адрєноагонїсти мєзатон та клонїдін (відповідно), інгібітор ацєтилхолїнєстерази прозерин, цукрознижуючий препарат толбутамїд, імуностимулятор лєвамїзол, хємоатрактант gMLP та ґторзамїшена арахідонова кислота (синтезована, як і лєйкотрієн C₄, у відділі тонкого органічного синтезу ІБОНХ НАН України).

При дослідженні зв'язку структура-активність був проведєний аналіз особливостей хїмічної структури та загального профїлю фізіологічної активності не тільки вищєзгаданих ФАР, але й їх відомих близьких чи далєких аналогів (хїмічних або ґармакологічних), та інших ксєнобіотиків (головним чином відомих лікарських засобів), здатних безпосередньо впливати на скоро-

чувальну функцію гладеньких м'язів.

Методи реєстрації скорочувальної активності гладеньких м'язів.

Досліди проводили на ізольованих препаратах сечоводу морської свинки та матки щура. При цьому, були використані добре відомі методи реєстрації скорочувальної активності гладеньких м'язів (Л. М. Зайцев зі співавт., 1989; A. F. Brading, P. Sneddon, 1980).

Для проведення експериментальних досліджень особливостей міотропної дії, а також скринінгу на фізіологічну активність великої кількості хімічних сполук було створено (на базі IBM PC AT 286) систему автоматичного проведення експериментів на ізольованих препаратах гладеньких м'язів.

Дію речовин досліджували в концентраціях, що дорівнюють $k \cdot 10^{-n}$ моль/л, де k дорівнює 1 або 3, а n - натуральне число від 3 (лише для $k = 1$), і до 9 (для високоактивних сполук). За ефективні (серед концентрацій, в яких речовини діяли на скорочення гладеньких м'язів) приймали концентрації найбільш близькі до EC_{50} . При цьому, враховувалися результати дослідів отримані не менш, ніж на трьох тваринах.

Методи молекулярних розрахунків та пошуку закономірностей зв'язку структура-активність.

Для проведення квантовохімічних розрахунків, використовували пакет програм MORAC (версія 5.0) з AM1 гамільтоніаном (J. Stewart, 1989). Попередній конформаційний аналіз досліджуваних сполук (оптимізацію потенціальної енергії молекул) виконували методом молекулярної механіки в параметризації MMX (U. Burkert, N.L. Allinger, 1982). Електронну структуру розраховували методом молекулярних орбіталей (МО ЛКАО) до досягнення визначеної точності обчислень електронної енергії при викорис-

танні ітераційної процедури самопогодження.

На основі отриманих конформаційних та квантовохімічних параметрів, шляхом застосування електронно-топологічного методу (ЕТМ) (А.С.Дімогло, 1985), здійснювали пошук спільних структурних та електронних (електронно-топологічних) фрагментів молекул досліджуваних ФАР. ЕТМ було використано в його новій, більш продуктивній модифікації (В.Ю. Танчук, 1996; Г.І.Пода зі співавт., 1996). Слід також відмітити, що окрім конформацій молекул, які відповідають глобальному мінімуму на поверхні потенціальної енергії, до розгляду бралися також конформації молекул з енергією, що може відрізнятись від глобального мінімуму на 4 ккал/моль. Це пов'язано з тим, що при взаємодії молекули з активним сайтом біосубстрату може бути компенсована різниця в енергії до 5-6 ккал/моль.

ОСНОВНІ РЕЗУЛЬТАТИ РОБОТИ

1. Дія ФАР, здатних модулювати активність ОССК, на скорочення сечоводу морської свинки та матки щура

Як можна бачити з таблиці 1, більшість досліджених ксеногенних ФАР класу -СІ/СІІ, у відповідності з їх біорегуляторним стереотипом, достовірно активують у діючих концентраціях 10^{-4} - 10^{-7} моль/л скорочувальну функцію гладенькоком'язових клітин. Виключення складає блокуюча дія клонідину на міометрій та обзідану на сечовід. Лише у хемоатрактанта fMLP не вдалося виявити ніякого достовірного впливу на скорочуваність гладеньких м'язів у обох використаних експериментальних моделях. Проте раніше повідомлялося про незалежну від ендотелію скорочу-

вальну дію fMLP на коронарні артерії людини, що блокувалася індометацином та аспірином (S.M.Bode et al., 1990), а також про скорочувальну реакцію гладеньком'язових клітин судин щура на щуриний інтерферон (P.Andre et al., 1986). Встановлена також здатність активувати гладенькоком'язову скорочуваність у таких активаторів СІІ в різних типах нем'язових клітин, як тромбін та фактор активації тромбоцитів, тромбоцитарний та епідермальний фактори росту.

Виразна спазмогенна дія (в концентрації 10^{-4} моль/л) на електростимульовані скорочення сечоводу морської свинки була виявлена в наших дослідках і у Фторзаміщеної арахідонової кислоти, яка не може бути утилізована в біосинтезі лейкотрієнів.

Найбільш висока агоністична активність була виявлена у лейкотрієну C_4 , при його дії на електростимульовані скорочення гладеньких м'язів сечоводу морської свинки, та у простагліцину, ацетилхоліну та серотоніну, при дії на спонтанні скорочення матки щура (табл. 1). Три останні ФАР, а також інгібітор холінестерази прозерін, не впливали на скорочуваність сечоводу, що свідчить про відсутність відповідних функціональних рецепторів у ізольованих препаратах сечоводу (взятих із дистальної частини цього органу).

Серед досліджених в наших експериментах ендогенних регуляторів скорочувальної функції гладеньких м'язів, лише у норадреналіну, при його дії на скорочення міометрію, була виявлена спазмолітична активність, що є характерною (як можна бачити з таблиці 2) для ФАР класу +СІ/-СІІ.

Стосовно спазмолітичної дії норадреналіну на матку щура слід сказати, що вона була найбільш сильною серед усіх досліджених ФАР (EC_{50} цієї дії знаходилася в діапазоні концентрацій

Таблиця 1.

Активуюча дія ендогенних регуляторів скорочувальної функції гладеньких м'язів та препаратів класу -CI/+CII на скорочення сечоводу морської свинки та матки щура *in vitro*

Препарат	Ефективні концентрації, моль/л	
	Сечовід	Матка
<u>Ендогенні ФАР</u>		
Норадреналін	$1 \cdot 10^{-5} - 3 \cdot 10^{-5}$	*
Гістамін	$1 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$
Серотонін	н.д.	$1 \cdot 10^{-9} - 3 \cdot 10^{-9}$
Ацетилхолін	н.д.	$3 \cdot 10^{-9} - 1 \cdot 10^{-8}$
Лейкотрієн C ₄	$1 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-7}$
Простациклін	н.д.	$1 \cdot 10^{-8}$
<u>Ксенобіотики</u>		
Вау К 8644	$3 \cdot 10^{-7}$	$3 \cdot 10^{-8}$
Прозерін	$1 \cdot 10^{-4}$ н.д.	$3 \cdot 10^{-5}$
Клофелін	$1 \cdot 10^{-4}$	*
Обзидан	*	$3 \cdot 10^{-5}$
Толбутамід	$3 \cdot 10^{-4}$	н.д.
Левамізол	$3 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$
fMLP	н.д.	н.д.

Примітка: н.д. - не чинить дії; * - чинить антагоністичну дію.

$3 \cdot 10^{-8} - 1 \cdot 10^{-7}$ моль/л) і, безумовно, реалізувалася, як і дія вибіркового агоністу β -адренорецепторів ізадринау (табл. 2), через активуючі аденілатциклазу (тобто CI) β -адренорецептори. Незначна спазмолітична дія норадреналіну спостерігалася в наших дослідах і на сечоводі морської свинки - за умови попередньої обробки ізольованих препаратів цього органу селективним α_1 -адреноблокатором празозином.

Результати наших дослідів з лігандами β -адренорецепторів

(норадреналіном, ізадрином та обзіданом) і блокаторами кальцієвих каналів (верапамілом, флоридоном і нітрендіпіном) свідчать про те, що для біорегуляції скорочувальної функції сечоводу відносно більше значення має активність дигідропіридинчутливих кальцієвих каналів L-типу, в той час як для біорегуляції скорочувальної функції матки - активність β -адренорецепторів. У зв'язку з цим, спазмолітична дія обзідану в концентрації $1 \cdot 10^{-4}$ - $3 \cdot 10^{-4}$ моль/л на гладенькі м'язи сечоводу морської свинки може бути обумовлена його неспецифічним впливом на вхід кальцію в гладенькоком'язові клітини.

Серед досліджених антагоністів зовнішньомембранних рецепторів, що активують СІІ та/або інгібують СІ, сильна спазмолітична активність виявлена у супрастину на сечоводі морської свинки, димедролу та празозину на матці щура й, більш слабка (але така, що перевищує активність відомого спазмолітика теофіліну), у димедролу на сечоводі морської свинки (табл. 2).

Агоністична дія атропіну, а також димедролу (див. прим. до табл. 2), очевидно, пояснюється особливостями використаних моделей - можливо пресинаптичною дією (A. Bartolini et al., 1988) - оскільки дані про спазмогенну активність цих препаратів на інших гладеньких м'язах відсутні. Безпосередня ж спазмолітична дія димедролу та ряду структурно подібних йому препаратів (наприклад транквілізатора амізилу, наркотичного анальгетика естоцину, спазмолітиків та синтетичних холінолітиків, що є складними ефірами карбонових кислот) добре відома (М.Д.Машковський, 1984). Пряма спазмолітична дія є також характерною для такої структурно близької атропіну сполуки, як протипаркінсонічний препарат (M-холіноблокатор) тропацин (М.Д.Машковський, 1984).

Т а б л и ц я 2.

Спазмолітична дія препаратів класу +СІ/-СІІ на скорочення ізольованих препаратів сечоводу морської свинки та матки щура

Препарат	Ефективні концентрації, моль/л	
	Сечовід	Матка
Форидон	$1 \cdot 10^{-7}$	$3 \cdot 10^{-7}$
Верапаміл	$1 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-7}$
Димедрол	$1 \cdot 10^{-4} - 3 \cdot 10^{-4} *$	$3 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$
Празозин	н.д.	$1 \cdot 10^{-5}$
Атропін	н.д.	**
Хлорпромазин	$3 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4} ***$	$1 \cdot 10^{-4}$
Галоперидол	$3 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$
Ізадрин	$1 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-7}$
Папаверин	$3 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$
Теофілін	$3 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$
Кофеїн	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-4}$
Кверцетин	$3 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$
Вольтарен	$3 \cdot 10^{-4} ****$	$1 \cdot 10^{-4} - 3 \cdot 10^{-4}$
Індометацин	$1 \cdot 10^{-4} - 3 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
BW 755C	$3 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$

Примітка: н.д. - не чинить дії; *, *** - в концентрації $3 \cdot 10^{-5}$ та $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, відповідно, препарати можуть чинити агоністичну дію; **, **** - в концентрації $1 \cdot 10^{-5}$ та $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, відповідно, препарати чинять агоністичну дію.

Значна спазмолітична активність (із EC_{50} , яка при дії на електростимульовану скорочуваність сечоводу знаходилася в достатньо вузькому діапазоні концентрацій - $2 \cdot 10^{-5} - 5 \cdot 10^{-5}$ моль/л) була також виявлена у всіх досліджених у наших експериментах психотропних препаратів, окрім сульпіриду. Особливої уваги заслуговує те, що галоперидол не поступався по активності

хлорпромазину (див. табл. 2). Ця активність не може бути пояснена антагоністичною дією на рецептори біогенних амінів (які є специфічними фармакологічними мішенями нейролептиків), оскільки ацетилхолін, серотонін, сульпілід та празозин не діяли на скорочення сечоводу (див. табл. 1 та 2), а по відношенню до активуючих скорочуваність гладеньких м'язів H_1 -гістамінових рецепторів хлорпромазин є більш активним антагоністом, ніж галоперидол (F.S.LaBella, 1991). Окрім цього, хлорпромазин - більш активний блокатор протеїнкінази C, а також кальмодуліну та кальцієвих каналів. Дія на фосфодіестеразу цих речовин спостерігається в більш високих концентраціях, ніж ті, в яких вони чинять спазмолітичну дію. Проте ці нейролептики можуть також впливати на поліфосфоїнозитидний цикл та метаболізм арахідонової кислоти (J.Chang et al., 1987; S.C.Pandey et al., 1991; R.Nosal et al., 1995). Саме цим впливом може пояснюватися порівняно висока спазмолітична активність галоперидолу.

Спазмолітична активність є характерною і для всіх досліджених нами інгібіторів окиснювального метаболізму арахідонової кислоти (див. табл. 2). Відмінною рисою міотропної дії вольтарену був його виразний агоністичний вплив у концентрації $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л на електростимульовані фазні скорочення сечоводу морської свинки. Дані про спазмогенну дію вольтарену на інших гладеньком'язових об'єктах відсутні. В той же час, раніше була показана здатність цього препарату чинити вазодилаторну дію (А.В.Гурковська зі співавт., 1988).

Отже, ФАР, які протилежно впливають на активність ОССК, чинять (у відповідності з притаманними їм біорегуляторними стереотипами) також протилежну (специфічну або неспецифічну, але досить значну) дію на скорочуваність гладеньких м'язів.

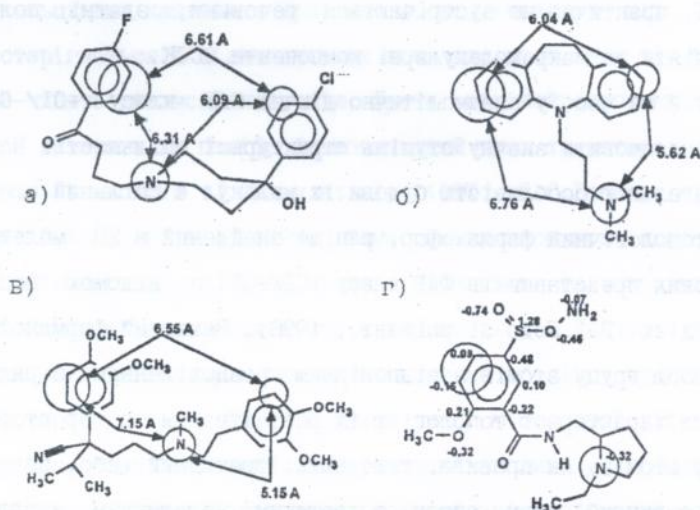
3. Аналіз будови молекул низькомолекулярних біорегуляторів, що діють на скорочувальну функцію гладеньких м'язів

Аналіз будови молекул ФАР класу $-CI/+CII$, здатних впливати на скорочуваність гладеньких м'язів, не виявив наявності в них якихось спільних електронно-топологічних фрагментів активності. Певно, такий результат свідчить про значні відмінності (відсутність загальних особливостей) в структурній організації активних сайтів біосубстратів, на які діють вказані ФАР. Про це ж свідчить той факт, що серед досліджених нами ФАР класу $-CI/+CII$, практично не зустрічаються речовини, здатні політропно діяти на макромолекулярні компоненти ОССК.

В той же час, у спазмолітично діючих ФАР класу $+CI/-CII$ вдалося встановити значну ступінь структурної спільності. Найбільш загальною особливістю будови їх молекул є спільний електронно-топологічний фармакофор, раніше знайдений в 20 молекулах типових представників ФАР класу $+CI/-CII$ з відомою політропною дією (Г.І.Пода зі співавт., 1996). Вказаний фармакофор являє собою групу атомів з відповідним розподіленням зарядів на них та характерною топологією їх розташування в просторі. Цю групу атомів, як правило, складають: третинний (або, значно рідше, вторинний) атом азоту з великим негативним зарядом ($-0,35$) та приєднані до нього атоми вуглецю з невеликими позитивними зарядами (близько $0,1$); зв'язана між собою пара атомів вуглецю, яка належить ароматичному кільцю, розташована на відстані в межах $6,9 \pm 0,6$ Å від вищевказаного атому азоту й несе невеликий негативний заряд; і ще одного атому вуглецю, також з невеликим негативним зарядом (до $-0,1$), розташованого на характерних відстанях у межах $6,1 \pm 0,5$ Å та $5,5 \pm 0,6$ Å від пари атомів вуглецю та атому азоту, відповідно (мал. 1).

Нами встановлено, що вищезначений 3-мірний фармакофор зустрічається, головним чином, в молекулах тих досліджених ФАР, в яких значна спазмолітична активність спостерігається поряд із здатністю діяти (як правило, політропно та антагоністично) на G-білокзв'язані мембранні рецептори ендогенних ФАР.

Так, для всіх досліджених в наших експериментах на ізольованих препаратах гладеньких м'язів нейролептиків та трициклічних антидепресантів, окрім сульпіриду, є характерною значна спазмолітична активність, а також політропна антагоністична



Мал.1. Реалізація спільного електронно-топологічного фармакофору (вказано лише найбільш суттєві відстані, що його характеризують) на прикладі спазмолітично (та політропно) діючих психотропних речовин галоперидолу (а) та іміпраміну (б), а також блокатора кальцієвих каналів верапамілу (в); і відсутність цього фармакофору в молекулі нейролентика сульпіриду (г), в якого не було виявлено спазмолітичної активності (і дані про політропність дії якого відсутні).

дія на різноманітні мембранні фармакологічні рецептори. При цьому, особливо ефективно ці ФАР взаємодіють з трансмембранними рецепторами, що активують СІІ або інгібують СІ (I.V.Radchenko et al., 1993). В молекулах усіх вказаних психотропних речовин, окрім, знову ж таки, селективного антагоністу D₂-дофамінових рецепторів сульпіриду, було виявлено спільний електронно-топологічний фармакофор (див. мал. 1).

Аналогічним чином, повна або часткова відсутність цього фармакофору спостерігається й у молекулах інших досліджених селективних блокувальних рецепторів біогенних амінів - атропіну, іохімбіну та празозину - ФАР класу +СІ/-СІІ, у яких не виявлено здатності чинити спазмолітичну дію, і дані про можливість політропної дії яких обмежені.

Взагалі, головним результатом проведеного, за допомогою ЕТМ, загального порівняльного аналізу просторової та електронної будови молекул досліджуваних ФАР є те, що можливість реалізації, з досить високою точністю, спільного 3-мірного фармакофору була виявлена в молекулах усіх, за винятком похідних 1,4-дігідропіридину, розглянутих ФАР із сильною спазмолітичною активністю, яким, окрім останньої, також притаманна дія на зовнішньомембранні рецептори ОССК. Встановлено, що такими спазмолітично діючими ФАР є деякі психотропні та нейротропні речовини (головним чином, нейролептики, трициклічні антидепресанти та наркотичні анальгетики); деякі блокувальні рецепторів біогенних амінів (головним чином, синтетичні холінолітики та спазмолітики, що є складними ефірами карбонових кислот, а також антигістамінні препарати); деякі антиангінальні препарати та блокувальні кальцієвих каналів.

Відносно результатів порівняльного аналізу хімічних

Отже, зображене на мал. 2 поєднання двох, найбільш поширених, ознак належності молекули до класу +CI/-CII, може служити ознакою спазмолітичної активності речовини. А зображений на мал. 1 фармакофор, окрім цього, є ще й ознакою здатності хімічної сполуки політропно та антагоністично діяти на різноманітні мембранозв'язані фармакологічні рецептори ОССК. I, зокрема, блокувати G-білокзв'язані трансмембранні рецептори ендогенних ФАР, а також кальцієві канали, кальмодулін, кальцій і кальмодулінзалежні протеїнкінази, фосфодіестеразу, протеїнкіназу С (В.П.Кухар, О.І.Луїк зі співавт., 1991; Г.І.Пода зі співавт., 1996). При цьому, дія на кальцієві канали може реалізуватися через ділянки зв'язування антагоністів кальцію бензотіазепінової та/або арилалкіламіної груп, оскільки електронно-топологічний фармакофор було виявлено в молекулах арилалкіламінів (див. мал. 1) та ділтіазему.

ВИСНОВКИ

1. При дослідженні впливу типових представників двох основних класів ФАР з протилежними біорегуляторними стереотипами, а також ряду ендогенних ФАР (біогенних амінів та ейкозаноїдів) на скорочувальну функцію гладеньких м'язів сечоводу морської свинки та матки щура встановлено, що речовини класу +CI/-CII чинять, як правило, спазмолітичну дію, а речовини класу -CI/+CII - спазмогенну.
2. Найбільш висока активність (в концентраціях, що не перевищують $1 \cdot 10^{-8}$ моль/л) була виявлена у ендогенних регуляторів скорочувальної функції гладеньких м'язів: активуюча - при дії лейкотрієну C_4 на сечовід та при дії простаглініну, ацетилхоліну та серотоніну на матку, і спазмолітична - при дії норад-

реналіну на матку.

3. Виявлені відмінності біорегуляторної дії ксенобіотиків у двох використаних моделях гладеньком'язової скорочуваності пов'язані, головним чином, із різною роллю β -адренорецепторів, потенціал-залежних кальцієвих каналів та біосинтезу ейкозаноїдів у регуляції скорочувальної функції гладеньких м'язів сечоводу морської свинки та матки щура.

4. У результаті проведеного за допомогою ЕТМ загального аналізу просторової та електронної будови молекул модуляторів ОССК та скорочувальної функції гладеньких м'язів (головним чином, відомих лікарських засобів) показана можливість реалізації спільного електронно-топологічного фармакофору для молекул усіх, за винятком похідних 1,4-дігідропіридину, досліджених ФАР, у яких виразна спазмолітична активність спостерігається поряд із дією на G-білокзв'язані трансмембранні рецептори ОССК.

5. Отримані результати підтверджують існування об'єктивних закономірностей взаємозв'язку між структурою ФАР та характером їх впливу на ОССК. Саме цей вплив у вирішальній мірі може визначати як дію ФАР на скорочувальну функцію гладеньких м'язів, так і загальний профіль фізіологічної активності речовин.

СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Прокопенко Р. А., Могилевич С. Є. Адренорецепторна регуляція скорочувальної функції сечоводу морської свинки // Физиологический журнал. - 1992. - т. 38, N 4. - С. 62-66.

2. Прокопенко Р. А., Зайцев Л. М., Могилевич С. Е., Луйк А. И. Действие модуляторов аденилатциклазной и полифосфоинозитидной клеточных сигнальных систем на гладкомышечную

сократимость // ДАН Украины. - 1993. - N 4. - С. 165-168.

3. Prokopenko R. A., Mogilevich S. E., Luik A. I., Naydenova I. Yu., Batrak G. N., Hawryluk B. R., Degtyar V. Ye. Effects of haloperidol and chlorpromazine on smooth muscle contractility, platelet aggregation and neuronal calcium current // Gen. Physiol. Biophys. - 1995. - v. 14. - p. 349-357.

4. Prokopenko R., Zaitsev L., Mogilevich S., Tetko I. Non-specific actions of various drugs on smooth muscle // Can. J. Physiol. Pharmacol. - 1994. - v. 72, Suppl. 1, Abstr. XIIth Intern. Congress Pharmacol., 24-29 Juli, 1994, Montreal (Canada). - p. 581.

5. Prokopenko R., Zaitsev L., Mogilevich S., Poda G., Naydyenova I., Batrak G., Degtyar V., Luik A.. Inhibition of calcium-dependent cellular reactions by antagonist drugs which possess common pharmacophore // Pharmacol. Res. - 1995. - v. 31, Suppl., Abstr. First Europ. Congress Pharmacol., June 16-19, 1995, Milan (Italia). - p. 207.

АННОТАЦІЯ

Прокопенко Р. А. Взаимосвязь между структурой и общим профилем физиологической активности веществ, которые действуют на сократимость гладких мышц. Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 02.00.10 - биоорганическая химия, химия природных и физиологически активных веществ. Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, Киев, 1996.

Защищается 5 научных работ, которые содержат результаты

структурно-функціонального дослідження особливостей біорегуляторного дії на гладкі м'язи двох груп ФАВ, оказавших схожее діє на клітинні сигнальні системи. В роботі просліджені найбільш загальні залежності структура-активність для ФАВ, впливаючих на скоротимість гладких м'язів.

SUMMARY

Prokopenko R. A. The relationship between chemical structure and physiological profile of compounds which affect smooth muscle contractility. Manuscript.

Ph. D. thesis in speciality 02.00.10 - Bioorganic chemistry, chemistry of natural and physiologically active compounds. Institute of Bioorganic and Petroleum Chemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 1996.

The structure-function investigation of the peculiarities of actions of physiologically active compounds on smooth muscle are represented in 5 scientific publications offered for defending. Most common structure-activity relationships for compounds, which affect smooth muscle contractility as well as the main cellular signalling systems, are discussed.

Ключові слова: фізіологічно активні речовини, структура-активність, гладенькі м'язи, клітинні сигнальні системи.

Проз

Подписано к печати 19.11.96г. Формат 60x84/16.
Объем: 1.0 усл.-печ.л., 1.0 уч.-изд.л.
Тираж 100. Заказ 86.

Типография во Флоровском монастыре
тел. 416-54-62

138067

AB 36.214