ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ. ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР. БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
т. XXII, № 10, 1969

УДК 577.1:615.7/9

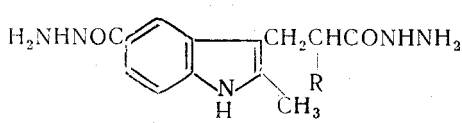
Р. Р. САФРАЗБЕКЯН, Р. С. СУКАСЯН

К ВОПРОСУ О ВЛИЯНИИ РЯДА ИНДОЛИЛГИДРАЗИДОВ НА АКТИВНОСТЬ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС

1. Дигидразиды α-замещенных β-(2-метил-5-карбокси индолил-3) пропионовых кислот

Окислительное дезаминирование, осуществляемое ферментом моноаминоксидазой (МАО), как известно, является одним из основных путей обезвреживания большого числа первичных моноаминов [15—18, 26, 28, 31, 35]. Использование ипрониазида—ингибитора МАО в психиатрии послужило толчком к синтезу и изучению веществ, угнетающих дезаминирование. Наиболее обширную группу современных ингибиторов МАО составляют гидразиды и гидразины различного строения [7, 8, 12, 13, 24, 27].

Ранее нами описаны антимоноаминоксидазные свойства гидразидов некоторых α-замещенных β-(2-метил-индолил-3)пропионовых кислот. Настоящая работа является продолжением проведенных ранее исследований. В опытах in vitro изучены дигидразиды α-замещенных β-(2-метил-5-карбокси индолил-3) пропионовых кислот [1],



в которых R равен H, CH_3, C_2H_5, C_3H_7, C_4H_9 и фенильному радикалу.

Соединения синтезированы в ИТОХ АН АрмССР [1] и использованы в виде хлористоводородных солей.

Метод. Источником МАО служили митохондрии печени и мозга крыс, выделенные методом дифференциального центрифугирования гомогенатов по Шнайдеру [29]. Инкубационная смесь (1,8 мл) содержала 0,8 мл суспензии митохондрий, 1 мк моль/мл или 5 мк моль/мл исследуемого препарата, субстрат и 0,1 М фосфатный буфер с pH 7,4.

Субстраты серотонин (5-ОТ) креатинин сульфат (марки Gee Lawson Chemicals LTD) и триптамин (Т) гидрохлорид (синтезирован в ИТОХ АН АрмССР) добавлялись к пробам после 30-ти и 60-минутной преинкубации фермента с препаратом при комнатной температуре. 5-ОТ использован в дозе 10 мк моль, а Т—2 мк моль на пробу. Пробы инкуби-

рованы в течение 45 мин при 37°С в атмосфере кислорода. Реакция остановлена добавлением 0,2 мл 50% трихлоруксусной кислоты. Об интенсивности дезаминирования судили по количеству образовавшегося NH_3, определяемого методом изотермической перегонки по Конвею с последующей несслеризацией и фотометрированием [2].

Достоверность полученных данных высчитана по Стюденту-Фишеру из 3—6 опытов.

Результаты

а) Влияние на МАО митохондрий печени. Все изученные дигидразиды, за исключением соединения с фенильным радикалом у α-углерода, в дозе 5 мк моль/мл после преинкубации с митохондриями печени в течение 30-ти мин способствовали значительному усилению атакуемости 5-ОТ ферментом (увеличилось количество образующегося NH_3), т. е. оказывали действие, напоминающее активацию МАО (рис. 1). Препарат с фенильным радикалом в этой же дозе тормозил дезаминирование 5-ОТ. В условиях преинкубации препаратов с МАО в течение 60 мин их активирующее действие становилось менее заметным или исчезало, а препараты с пропиловым и бутиловым радикалами тормозили активность МАО.

При использовании дигидразидов в дозе 1 мк моль/мл действие большинства соединений на МАО печени было слабо выражено, и только препарат с бутиловым радикалом отчетливо усиливал дезаминирование 5-ОТ при обоих сроках преинкубации (рис. 2).

Все изученные дигидразиды в дозе 5 мк моль/мл после преинкубации с МАО печени в течение 30 мин способствовали усилению дезаминирования Т (рис. 1). После 60-ти минутной преинкубации это действие было выражено слабо. В дозе 1 мк моль/мл дигидразиды видимого влияния на дезаминирование Т не оказывали.

б) **Влияние на МАО митохондрий мозга.** При преинкубации в течение 30-ти мин дигидразиды α-пропил и α-бутил β-(2-метил-5-карбокси индолил-3) пропионовых кислот в дозе 1 мк моль/мл способствовали усилению дезаминирования 5-ОТ на 31% и 33% соответственно.

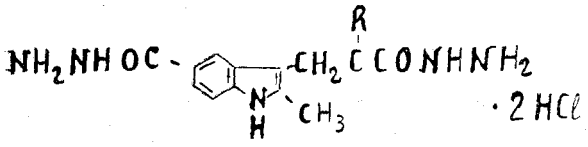
При повышении дозы (5 мк моль/мл) или срока преинкубации активирующее действие препаратов становилось менее заметным.

Препарат с фенильным радикалом в α-положении в дозе 1 мк моль/мл при преинкубации с МАО мозга в течение 30 мин значительно тормозил дезаминирование 5-ОТ (рис. 3).

Остальные представители изучаемого ряда дигидразидов в дозах 1 мк моль/мл и 5 мк моль/мл не оказывали видимого влияния на распад 5-ОТ.

Ни один из дигидразидов в дозах 1 мк моль/мл и 5 мк моль/мл не вмешивался в дезаминирование Т ферментом мозга ни после 30-ти, ни после 60-ти минутной преинкубации.

Итак, как в опытах с печеночной МАО, так и в опытах с МАО мозга дигидразиды в одних условиях усиливали дезаминирование, а в других—



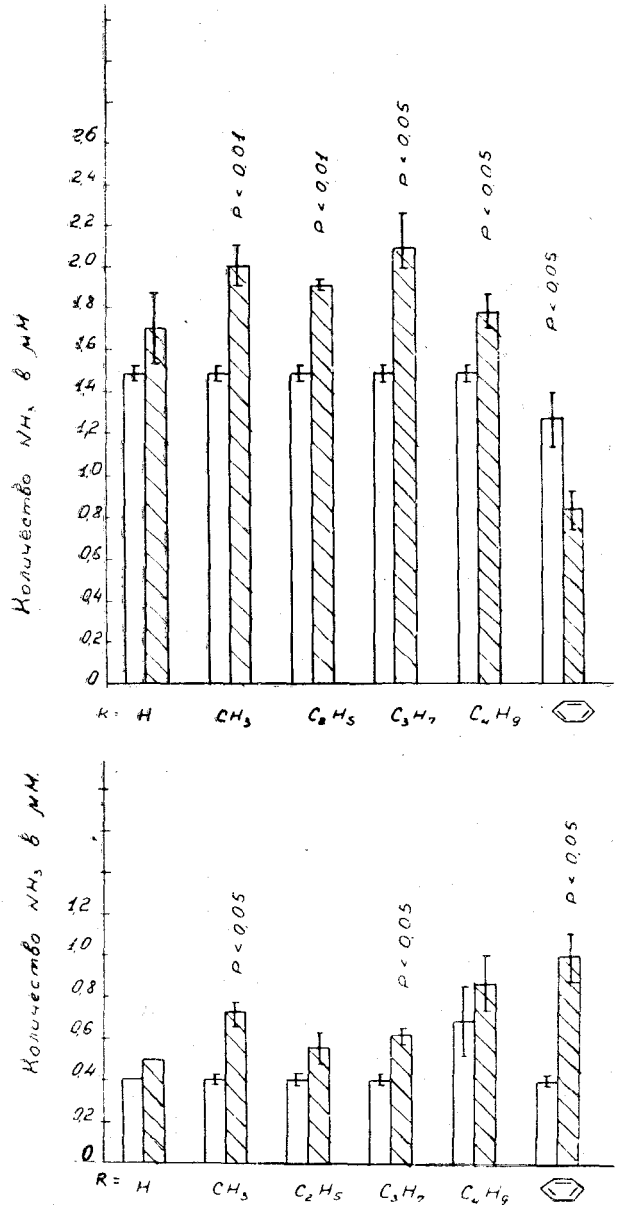


Рис. 1. Влияние дигидразидов на дезаминирование 5-ОТ (вверху) и Т (внизу). МАО митохондрий печени крыс. Белые столбики — активность МАО в контрольных пробах, заштрихованные — в опытных. Доза препарата 5 мк моль/мл. Преинкубация 30 мин.

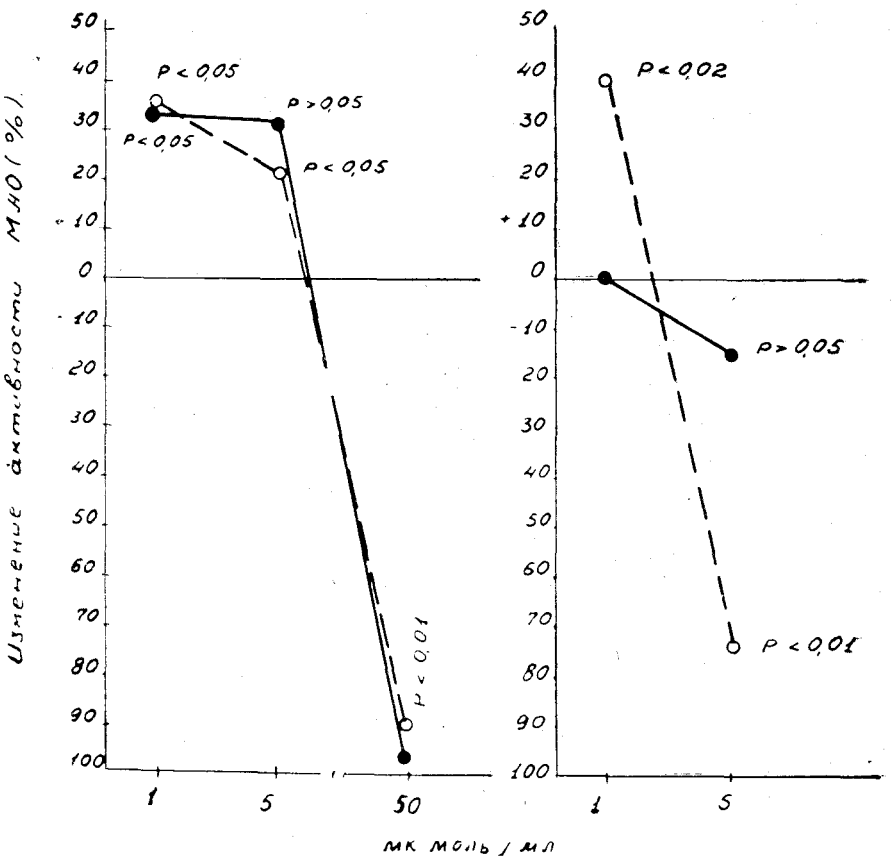


Рис. 2. Влияние дигидразида α-бутил β-(2-метил-5-карбокси индолил-3) пропионовой кислоты на активность МАО. Сплошная линия—МАО мозга, прерывистая — печени. За ноль принята средняя активность МАО в контрольных пробах. Изменения активности МАО в опытных пробах выражены в % в отношении контроля: повышение (+), понижение (—). Субстрат —5-ОТ. Преинкубация 30 мин (I) и 60 мин (II).

тормозили. Зависимость действия от дозы и срока преинкубации была особенно выражена у соединения с бутиловым радикалом. Как видно из рис. 2, в небольшой дозе (1 мк моль/мл) и кратковременной преинкубации (30 мин) препарат способствует усилению дезаминирования 5-ОТ как МАО печени, так и мозга. С увеличением дозы (50 мк моль/мл) наступает резкое торможение активности обоих ферментов. В условия преинкубации в течение 60 мин (рис. 2) торможение МАО можно наблюдать от меньших доз препарата (5 мк моль/мл).

Как видно из рис. 3, двухфазное действие на активность МАО (усиление дезаминирования при малых дозах и угнетение—при больших) можно наблюдать также у дигидразида с фенильным радикалом в α-положении. И наконец при соответствующих дозах и условиях такое же двухфазное действие может быть выявлено у известного ингибитора МАО—ипразида (рис. 3).

Обсуждение. При изучении влияния дигидразидов α-замещенных β-(2-метил-5-карбокси индолил-3)пропионовых кислот на активность

МАО митохондрий печени и мозга обращает внимание наличие у соединений двоякого действия на фермент: повышение активности МАО в одних условиях и угнетение в других. Как было показано, большинство дигидразидов в дозе 5 мк моль/мл при 30-ти минутной преинкубации с МАО митохондрий печени способствует усилению дезаминирования как 5-ОТ, так и Т. В этих же условиях они не оказывают видимого влияния на МАО мозга. При меньшей дозе препаратов (1 мк моль/мл) отчетливое повышение активности МАО мозга в отношении 5-ОТ удалось наблюдать только после кратковременной преинкубации фермента с дигидразидами α-пропил и α-бутил β-(-2-метил-5-карбокси индолил-3) пропионовых кислот. На дезаминирование Т препараты не оказывали влияния.

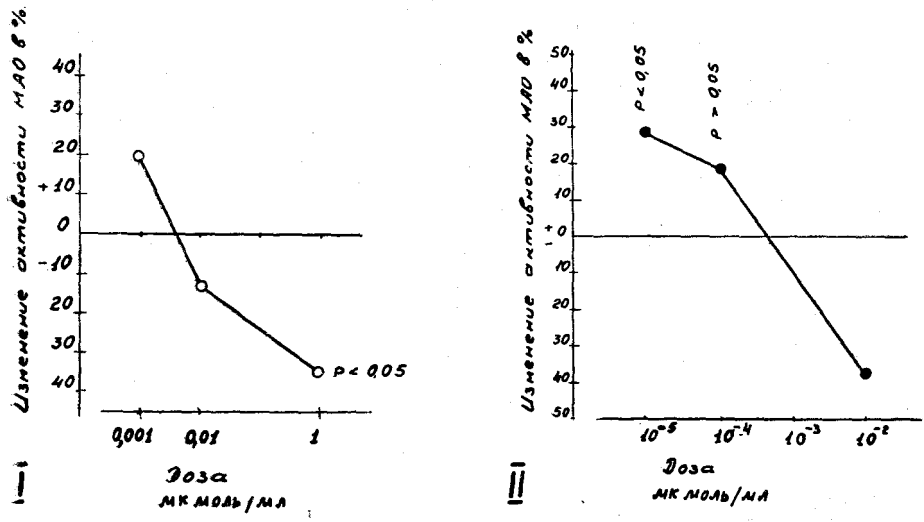


Рис. 3. Активация и торможение МАО печени крыс разными дозами ингибиторов. Преинкубация с препаратами 30 мин. I Влияние дигидразида α-фенил β-(2-метил-5-карбокси индолил-3) пропионовой кислоты на дезаминирование 5-ОТ. II Влияние ипразида на дезаминирование норадреналина.

Эти различия в действии препаратов на МАО в зависимости от его происхождения (печень, мозг) или от избранного субстрата (5-ОТ или Т) согласуются с представлениями о неоднородности МАО [5, 6, 19, 33] и возможности избирательного влияния на дезаминирование разных субстратов и в разных органах [3, 4, 11, 14, 23, 25, 32, 34].

Как видно из представленных данных, активирующее влияние дигидразидов на МАО можно наблюдать при их низких концентрациях и кратковременной преинкубации с ферментом. Увеличение дозы или срока преинкубации приводит к торможению активности МАО, нередко через некоторую переходную фазу (рис. 2, 3), когда и активация и торможение выражены слабо и недостоверны. Такое же двоякое действие на активность МАО при воздействии низких концентраций ипразида мы наблюдали как в настоящей работе (рис. 3), так и ранее [9, 10].

Повышение активности МАО соединениями различного химического строения неоднократно описано и другими исследователями [20, 21, 30].

Создается впечатление, что активация МАО является начальной стадией действия дигидразидов α-замещенных β-(2-метил-5-карбокси индолил-3)пропионовых кислот, как и самого ипразида.

Согласно Целлеру [36, 37], гидразиновые ингибиторы занимают ту же часть активного участка МАО, что и соответствующие субстраты (II). Причем связь фермента

$$R-\underset{\underset{E_n}{|}}{N}-NH_2 \qquad II$$

с ингибитором вначале слабая и осуществляется вторичными силами, позже вступают в силу ковалентные связи [37].

По-видимому, активация МАО наблюдается при условиях, когда связь ингибитор-фермент слабая и ингибитор может быть легко вытеснен субстратом. Можно представить, что в момент высвобождения МАО обладает повышенной ферментативной активностью. Повышение активности МАО, отмеченное при воздействии исследованных индолилгидразидов, очевидно, является проявлением начальной стадии взаимодействия препаратов с ферментом.

Институт тонкой органической химии
АН АрмССР

Поступило 20.IX 1968 г.

Ռ. Ռ. ՍԱՖՐԱԶԲԵԿՅԱՆ, Ռ. Ս. ՍՈՒԿԱՍՅԱՆ

ԻՆԴՈԼԻԼՀԻԴՐԱԶԻԴՆԵՐԻ IN VITRO ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՈՒՂԵՂԻ ԵՎ ԼՅԱՐԴԻ ՄՈՆՈԱՄԻՆՕՔՍԻԴԱԶԱՅԻ ՎՐԱ

1. α-տեղակալված β (2-մեթիլ-5-կարբօքսի ինդոլիլ-3) պրոպիոնաթթվի դիհիդրազիդներ

Ա մ փ ո փ ո ւ մ

1. Ուսումնասիրվել է α-տեղակալված β (2-մեթիլ-5-կարբօքսի ինդոլիլ-3) պրոպիոնաթթուների դիհիդրազիդների ազդեցությունը առնետների լյարդի և ուղեղի մոնոամինօքսիդազայի վրա։

2. α-դիրքում ալիֆատիկ ռադիկալ պարունակող դիհիդրազիդները 5 մկ մոլ/մլ) դոզայում և 30 րոպե նախնական ինկուբացիայի պայմաններում նպաստում են սերոտոնինի ու տրիպտամինի նկատմամբ լյարդի մոնոամինօքսիդազայի ակտիվության բարձրացմանը։ Ուղեղի մոնոամինօքսիդազայի վրա նման ներգործում ունեն միայն α-պրոպիլ- և α-բութիլ ռադիկալներ պարունակող միացությունները, բայց վերջիններիս ազդեցությունը ակնհայտ է առավել ցածր դոզայի (1 մկ մոլ/մլ) դեպքում և միայն սերոտոնինի նկատմամբ։ Ֆենիլ ռադիկալ պարունակող միացության համար ավելի հատկանշական է ինհիբիտորային ազդեցությունը։

3. Մոնոամինօքսիդազայի ակտիվացումը նկատելի է ուսումնասիրվող միացությունների փոքր դոզանների ազդեցության պայմաններում և կարող է փոխարինվել ֆերմենտի արգելակմամբ պրեպարատի քանակի մեծացման

դեպքում: Թոզայի և ազդեցության միջև նման կապ նկատված է նաև իպրազիդի ազդեցության ուսումնասիրման ընթացքում:

4. Ըստ երևույթին, մոնոամինօքսիդազայի ակտիվացումը հանդիսանում է ուսումնասիրվող միացությունների ազդեցության նախնական փուլը:

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопян Ж. Г., Терзян А. Г., Татевосян Г. Т. Арм. хим. ж. **21**, 6, 1968.
2. Горкин В. З., Романова Л. А. Биохимия, **24**, вып. 5, 826, 1959.
3. Горкин В. З. Вопросы мед. химии, **10**, 2, 115, 1964.
4. Горкин В. З. Ж. Всесоюзного хим. общества им. Д. И. Менделеева, **9**, 4, 405, 1964.
5. Калиман П. А. Биохимия, **26**, 2, 284, 1961.
6. Калиман П. А. Биохимия, **30**, 6, 1194, 1965.
7. Машковский М. Д. Ж. Всесоюзного хим. общества им. Д. И. Менделеева, **9**, 4, 433, 1964.
8. Рябоконь Н. А., Гребенник Л. И. Фармакол. и токсикол., **28**, 5, 608, 1965.
9. Сафразбекян Р. Р. Известия АН АрмССР (биол. науки), **16**, 11, 59, 1963.
10. Сафразбекян Р. Р., Сукасян Р. С. Фармакол. и токсикол. **27**, 2, 213, 1964.
11. Северина И. С., Горкин В. З. Биохимия, **29**, 6, 1093, 1964.
12. Тринус Ф. П., Портнягина В. А., Рябуха Т. К., Карп В. К. Фармакол. и токсикол. **31**, 1, 37, 1968.
13. Шашков В. С., Кузнец Е. И. Фармакол. и токсикол. **24**, 6, 675, 1961.
14. Biel J. H., Drukker A. E., Shore P. A., Spector S. and Brodie B. B. J. Am. Chem. Soc., **80**, 6, 1519, 1958.
15. Blaschko H. Nature, **145**, 26, 1940.
16. Blaschko H. Pharmacol. Rev., **4**, 4, 415, 1952.
17. Blaschko H. В кн. „Psychotropic drugs". Ed. by S. Garattini and V. Ghetti, Amsterdam, 3, 1957.
18. Blaschko H., Richter D., Schlossmann H. Biochem J., **31**, 12, 2187, 1937.
19. Blaschko H. and Philpot F. J. J. Physiology, **122**, 2, 403, 1953.
20. Cotzias G., Greenougt J. J. Nature, **185**, 384, 1960.
21. Gömori P. and Skolnik J. Arch; int. pharmacodyn., **150**, 1—2, **1**, 1964.
22. Gorkin V. Z. Pharmacol. Rev., **18**, 1, p. 1, 115, 1966.
23. Gorkin V. Z., Komisarova N. V., Lerman M. I. and Veryovkina I. V. Biochem. Biophys. Res. Commun., **15**, 4, 383, 1964.
24. Green A. L. Biochem J., **84**, 217, 1962.
25. Huszti Z. and Borsy J. Biochem. Pharmacol., **13**, 8, 1151, 1964.
26. Kopin I. Pharmacol. Rev., **16**, 2, 179, 1964.
27. Pletscher A. Pharmacol. Rev., **18**, 1, p. 1, 121, 1966.
28. Richter D. Biochem. J., **31**, 11, 2022, 1937.
29. Schneider W. C. J. Biol. Chem., **176**, 259, 1948.
30. Schroeder H. A. В кн. „Hypertension" Ed. by J. Moyer. London, 180, 1959.
31. Shore P. A., Mead J. A. R., Kuntzman R. G., Spector S., Brodie B. B. Science, **126**, 1063, 1957.
32. Wiegand R. G. and Perry J. E. Biochem. Pharmacol., **7**; 3—4, 181, 1961.
33. Weiner N. Arch. Biochem. Biophys. **91**, 182, 1960.
34. Woert van M. H. and Cotzias G. C. Biochem. Pharmacol. **15**, 3, 275, 1966.
35. Zeller E. A. Pharmacol. Rev. **11**, 2, p. 2, 387, 1959.
36. Zeller E. A. Experientia, **16**, 9, 399, 1960.
37. Zeller E. A. В кн. „Metabolic Inhibitors". Ed. by Hochster R. M. and Quastel J. H., New York, **2**, 53, 1963.