

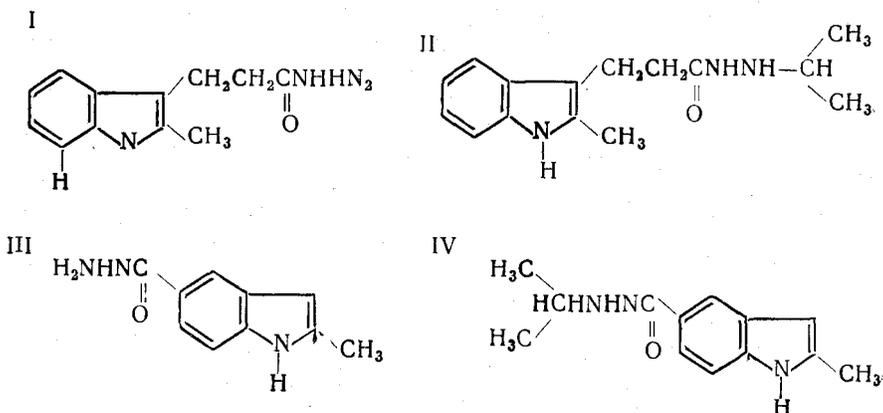
Р. Р. САФРАЗБЕКЯН, Р. С. СУКАСЯН

О ВЛИЯНИИ РЯДА ИНДОЛИЛГИДРАЗИДОВ НА АКТИВНОСТЬ  
 МАО МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС. II. СРАВНИТЕЛЬНОЕ  
 ДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ ИНДОЛИЛГИДРАЗИДОВ И ИХ  
 ИЗОПРОПИЛ ПРОИЗВОДНЫХ В ОПЫТАХ IN VITRO\*

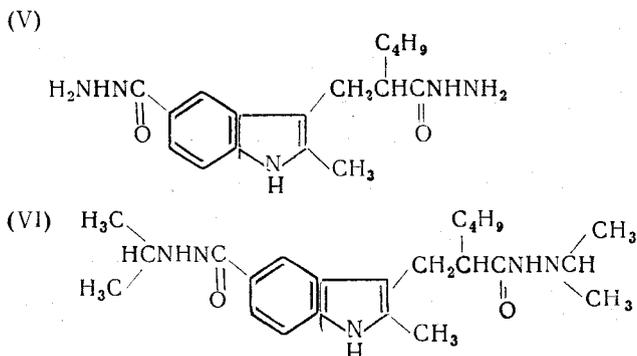
В 1952 г. Целлером [21] впервые было показано, что изопропил гидразид изоникотиновой кислоты (ипрониазид) по антимоноаминоксидазному действию значительно превосходит гидразид изоникотиновой кислоты (изониазид). С тех пор неоднократно появлялись сообщения [13, 14, 16], подчеркивающие значение изопропильного радикала в ингибиторном действии ипрониазида.

О способности некоторых моно- и дигидразидов  $\alpha$ -замещенных-индолил-3 пропионовых кислот тормозить активность моноаминоксидазы (MAO) нами было сообщено ранее [6, 7].

С целью выяснения, способствует ли внесение изопропильного радикала в структуру индолилгидразидов усилению их антимоноаминоксидазного действия, были изучены следующие гидразиды: гидразид  $\beta$ -(2-метил-индолил-3) пропионовой кислоты (I) и его изопропил производное (II), 2-метил-индол-5 карбокси гидразид (III) и его изопропил производное (IV), дигидразид  $\alpha$ -бутил- $\beta$ -(2-метил-5-карбокси индолил-3) пропионовой кислоты (V) и его изопропил производное (VI).



\* Сообщение I-ое см. „Биологический журнал Армении“, т. XXII, 10, 1969 г.



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

**Методика исследования.** Источником MAO служили митохондрии печени и мозга крыс, выделенные по Шнайдеру [15]. Активность MAO определялась по описанному ранее методу [7]. Исследуемые соединения в дозах 1 мкмоль/мл и 5 мкмоль/мл преинкубировались с митохондриями печени или мозга в течение 30 или 60 мин. Субстратами служили серотонин (5-OT), креатинин сульфат (марки Gee Lawson Chemicals LTD), триптами (Т) гидрохлорид (синтезирован в ИТОХ АН АрмССР), норадреналин (НА) гидротартрат (Харьковский завод эндокринных препаратов), добавляемые к пробам по 10 мкмоль/проба, 2 мкмоль/проба и 20 мкмоль/проба соответственно (из расчета на основание). Данные обработаны статистически.

### Влияние на MAO печени

**Деаминарование 5-OT.** При изучении влияния исследуемых гидразидов на активность MAO печени было отмечено, что после 60-минутной преинкубации с митохондриями гидразид I в концентрации 1 мкмоль/мл тормозит деаминарование 5-OT слабо, но достоверно. Как видно из рис. 1А, его изопропильное производное (II) в этих же условиях тормозит активность MAO на 80%. При использовании препаратов в концентрации 5 мкмоль/мл ингибирующее влияние изопропильного производного почти не изменяется, тогда как влияние соединения без изопропильного радикала сильно возрастает.

Такая же зависимость между строением препарата, его дозой и действием отмечена во второй паре гидразидов: 2-метил-индолил-5-карбоксихидразид (III) в дозе 1 мкмоль/мл не влиял, а в дозе 5 мкмоль/мл почти полностью тормозил деаминарование 5-OT, тогда как изопропилгидразид (IV) в обеих дозах отчетливо тормозил активность MAO (рис. 1 Б).

Как отмечено ранее [7]), дигидразид  $\alpha$ -бутил- $\beta$ -(2-метил-5-карбоксихидолил-3) пропиононовой кислоты в определенных условиях способствует усилению деаминарования 5-OT и Т. В настоящей работе было выявлено, что после 60-минутной преинкубации с MAO печени как сам дигидразид V, так и его изопропил производное в дозе 1 мкмоль/мл отчетливо активируют деаминарование 5-OT, причем у соединения с изопропильным радикалом это действие менее выражено. В большей дозе

(5 мкмоль/мл) оба дигидразида в одинаковой степени тормозят активность MAO (рис. 1B).

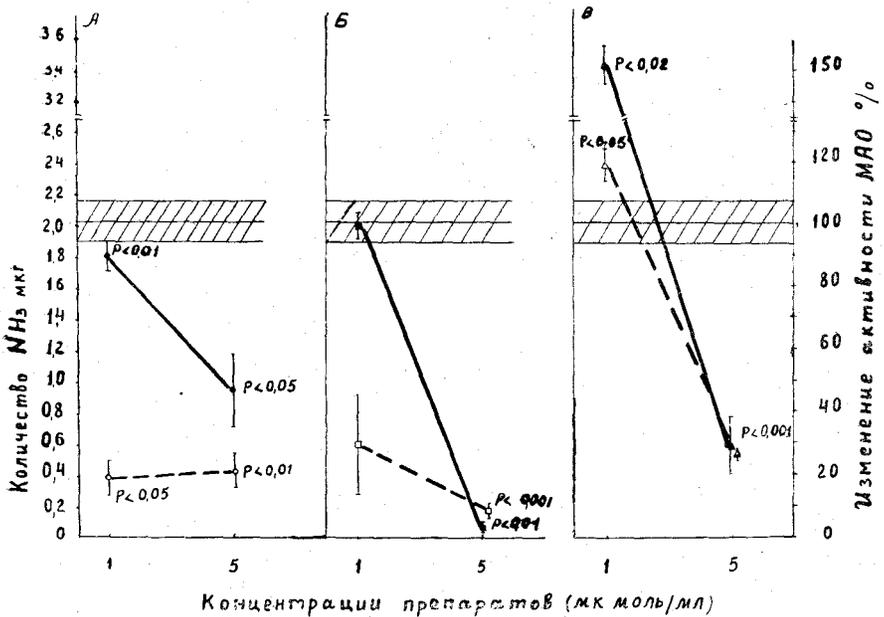


Рис. 1. Влияние индолилгидразидов на дезаминирование серотонина MAO митохондрий печени крыс. Заштрихованная полоса — средняя активность фермента в контрольных пробах  $\pm$  стандартная ошибка. Сплошная линия — гидразиды, прерывистая — соответствующие им изопропильные производные. Преинкубация препарата с ферментом — 60 мин. А. Гидразид I и изопропилгидразид II. Б. Гидразид III и изопропилгидразид IV. В. Дигидразид V и изопропилдигидразид VI.

**Дезаминирование Т.** Влияние гидразидов I и II на дезаминирование Т напоминало их действие на дезаминирование 5-ОТ. Сам гидразид в малой дозе не влиял, а в большей — угнетал активность MAO около 60%. Его изопропильное производное резко угнетало дезаминирование Т в обеих дозах (рис. 2А).

Как видно из рис. 2Б, 2-метил-индол-5-карбокси гидразид и его изопропильное производное в дозе 1 мкмоль/мл угнетали дезаминирование Т на 30—50%, а в дозе 5 мкмоль/мл — около 60—80%. Достоверных различий в действии препаратов не отмечено.

По влиянию на MAO печени мало отличались также дигидразиды V и VI: оба соединения тормозили фермент только в дозе 5 мкмоль/мл (рис. 2В).

**Дезаминирование НА.** Гидразид I в дозе 5 мкмоль/мл после 60-минутной преинкубации с MAO печени тормозил дезаминирование НА полностью, не оказывая видимого влияния на фермент в дозе 1 мкмоль/мл. В этих же опытах изопропил гидразид II тормозил дезаминирование НА на 100—80% (рис. 3А) соответственно.

Как видно из рис. 3Б, гидразид III и изопропил гидразид IV в ис-

пользованных дозах отчетливо (75—80%) тормозят дезаминирование НА, не отличаясь друг от друга по интенсивности действия.

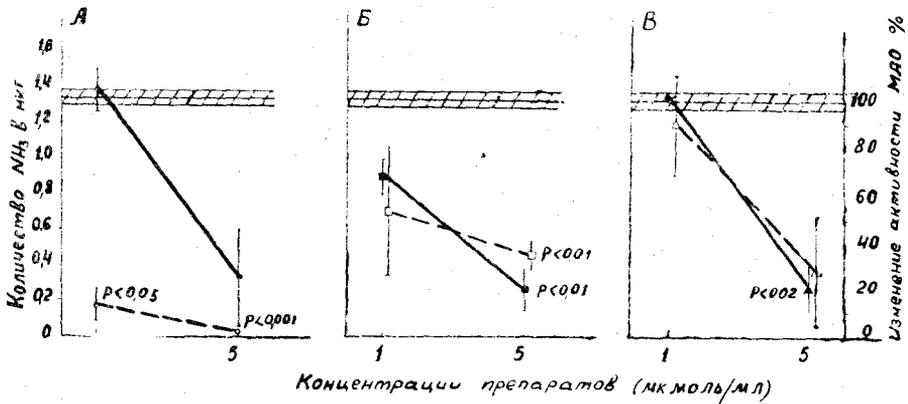


Рис. 2. Влияние индолилгидразилов на дезаминирование триптамина MAO митохондрий печени крыс. Условные обозначения см. рис. 1.

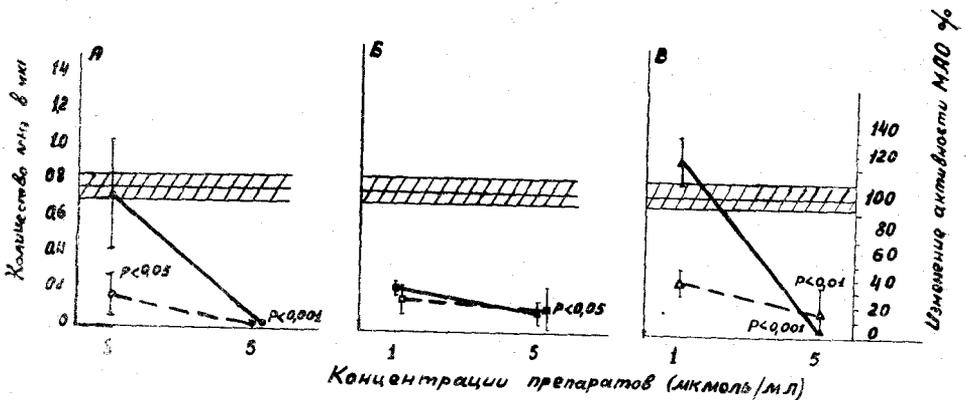


Рис. 3. Влияние индолилгидразилов на дезаминирование НА MAO митохондрий печени крыс. Условные обозначения см. рис. 1.

Дигидразид V в дозе 5 мкмоль/мл почти полностью угнетал дезаминирование НА и не оказывал видимого действия в дозе 1 мкмоль/мл. Его изопропильное производное в обеих испытанных дозах значительно угнетало активность MAO (рис. 3B).

### Влияние на MAO мозга

**Дезаминирование 5-ОТ.** После 60-минутной преинкубации с митохондриями мозга гидразид I и изопропил гидразид II в дозе 1 мкмоль/мл слабо, а в дозе 5 мкмоль/мл сильнее (70%) тормозили дезаминирование 5-ОТ. По влиянию на MAO препараты в этих опытах мало отличались друг от друга (рис. 4A).

Гидразид III и его изопропил производное (IV) отчетливо тормозили дезаминирование 5-ОТ как в дозе 1 мкмоль/мл, так и—5 мкмоль/мл, как и первая пара соединений, не отличались друг от друга по ингибирующему действию на MAO (рис. 4B).

По влиянию на дезаминирование 5-ОТ мало отличались друг от друга также дигидразиды: оба препарата в дозе 1 мкмоль/мл слегка усиливали дезаминирование 5-ОТ, не оказывая заметного влияния на MAO (рис. 4В) в дозе 5 мкмоль/мл.

**Дезаминирование Т.** Гидразид I, гидразид III и соответствующие им изопронил производные только в дозе 5 мкмоль/мл заметно (около 50%) тормозили дезаминирование Т. В обеих парах достоверных различий между гидразидами и их изопронил производными выявить не удалось.

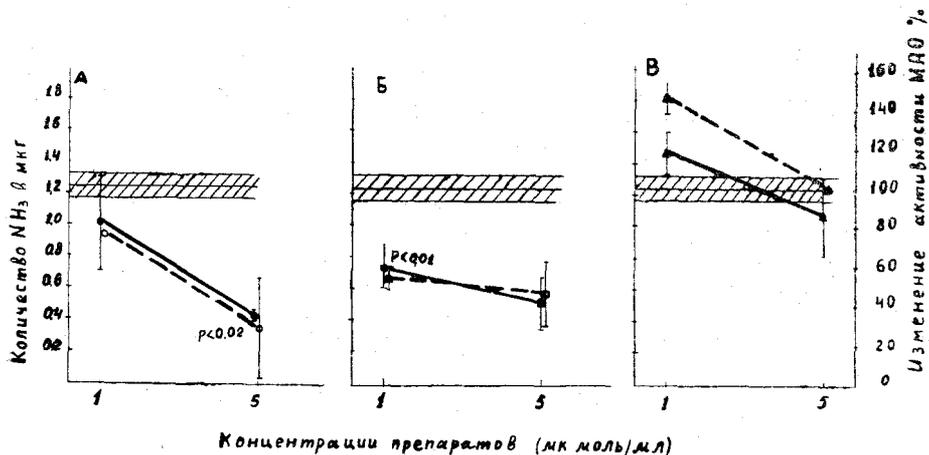


Рис. 4. Влияние индолилгидразидов на дезаминирование 5-ОТ MAO митохондрий мозга крыс. Условные обозначения см. рис. 1.

Изученные дигидразиды в этих условиях на дезаминирование Т не влияли.

**Дезаминирование НА.** Гидразид I и дигидразид V, как и соответствующие им изопронил гидразиды (II и VI), в дозе 5 мкмоль/мл после 30 и 60-минутной преинкубации с митохондриями мозга угнетали дезаминирование НА только на 20—50%. Наблюдаемые изменения были статистически недостоверными.

В этих же опытах после 30-минутной преинкубации сам 2-метил-индол-5-карбокси гидразид (III) в дозе 5 мкмоль/мл тормозил дезаминирование НА всего на 50%, а его изопронил производное (IV) почти полностью угнетало активность MAO. Удлинение срока преинкубации не усиливало действие препаратов.

**Обсуждение результатов.** В настоящее время хорошо известно, что ипрониазид-изопронил гидразид изоникотиновой кислоты по антимоноксидазному действию сильно отличается от своего ближайшего родственника—гидразида изоникотиновой кислоты—изониазида [21, 22]. Существует представление, что сила и продолжительность ингибирующего действия ипрониазида на MAO обусловлены продуктом его гидролитического распада—образованием изопронилгидразина, который сам является активным ингибитором фермента [13, 14, 16, 19].

На примере 3-х пар гидразидов мы пытались выяснить, будет ли

внесение изопропильного радикала в структуру индолилгидразидов способствовать усилению их антимоноаминоксидазного действия.

Имея в виду неоднородность МАО, полученного из разных органов [4, 5, 9], в качестве источника фермента нами использованы митохондрии мозга и печени крыс.

Учитывая возможность субстратной специфичности ингибиторов [2, 3, 8, 10, 11, 12, 17, 18, 20], исследовано влияние индолилгидразидов на дезаминирование 5-ОТ, Т и НА.

Как видно из приведенных выше наблюдений, в опытах с МАО печени по антимоноаминоксидазному действию наиболее заметно отличаются друг от друга гидразид и изопропил гидразид  $\beta$ -(2-метил-индолил-3) пропионовых кислот (I и II). В то время как сам гидразид в дозе 1 мкмоль/мл не оказывает существенного влияния на дезаминирование 5-ОТ, Т и НА, изопропилгидразид резко тормозит дезаминирование всех трех субстратов (рис. 1А, 2А, 3А). Увеличение дозы (5 мкмоль/мл) приводит к сглаживанию этой разницы.

2-метил индол-5-карбокси гидразид (III) и 2-метил-индол-5-карбокси изопропилгидразид (IV) в этих же опытах с МАО печени существенно отличались друг от друга только по влиянию на дезаминирование 5-ОТ: ингибиторное действие изопропил гидразида выявлялось при меньшей дозе (1 мкмоль/мл), чем действие гидразида (5 мкмоль/мл).

Дигидразид и изопропил дигидразид  $\alpha$ -бутил- $\beta$ -(2-метил-5-карбокси индолил-3) пропионовых кислот (V и VI) не отличались друг от друга по влиянию на дезаминирование Т печеночной МАО. Однако дезаминирование НА изопропил дигидразид тормозил в меньшей дозе, чем сам дигидразид. Как описано выше, оба дигидразида в дозе 1 мкмоль/мл способствовали усилению дезаминирования 5-ОТ. Это повышение атакваемости 5-ОТ было отчетливо выражено в опытах с дигидразидом и в меньшей степени—с его изопропил производным.

Ранее [7] нами было выдвинуто предположение, что активация является начальной стадией действия ингибиторов МАО (ипрониазид, некоторые индолил гидразида) и, по-видимому, у слабых ингибиторов выявляется легче. В свете этих представлений меньшее активирующее влияние на МАО изопропил дигидразида  $\alpha$ -бутил- $\beta$ -(2-метил-5-карбокси-индолил-3) пропионовой кислоты по сравнению с дигидразидом этой же кислоты можно расценивать не как слабое действие препарата вообще, а как результат его более выраженного антимоноаминоксидазного действия.

В опытах, в которых источником МАО служили митохондрии мозга крыс, изученные индолилгидразида по влиянию на фермент мало отличались от соответствующих им изопропилгидразидов. По антимоноаминоксидазному действию отчетливо отличались друг от друга только 2-метил-индол-5-карбокси гидразид и 2-метил-индол-5-карбокси изопропил гидразид в условиях использования НА в качестве субстрата.

Итак, если по влиянию на МАО печени изученные индолилгидразида значительно уступают соответствующим им изопропильным производным,

то по действию на MAO мозга в большинстве случаев они мало отличаются друг от друга. Эти наблюдения еще раз свидетельствуют о неоднородности MAO, полученной из разных органов, и об избирательном влиянии ингибиторов.

Судя по представленным данным, антимоноаминоксидазное действие индолил гидразидов и их изопропил производных при прочих равных условиях определяется также избранным субстратом: превосходство изопропил гидразидов по отношению к гидразидам более отчетливое при одних субстратах и менее—при других.

По-видимому, можно думать, что внесение изопропильного радикала усиливает действие гидразидов на MAO не вообще, а в отношении определенного субстрата и определенного вида фермента. По крайней мере, в ряду изученных индолилгидразидов зависимость действия от субстрата и источника MAO была очевидной.

Институт тонкой органической химии  
АН АрмССР

Поступило 30.IX 1969 г.

Թ. Թ. ՍԱՅՐԱԶԲԵԿՅԱՆ, Բ. Ս. ՍՈՒՔԱՍՅԱՆ

## ԻՆՎՈՒԼԻ ՀԻԳՐԱԶԻԴՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՈՒՂԵՂԻ ԵՎ ԼՅԱՐԳԻ ՄՈՆՈԱՄԻՆՕՔՍԻԿՍԻԶԱՅԻ ՎՐԱ

II. ՈՐՈՇ ԻՆՎՈՒԼԻ ՀԻԳՐԱԶԻԴՆԵՐԻ ԵՎ ՆՐԱՆՑ ԻԶՈՊՐՈՊԻԼ ԱՄՆՆՅԱԿՆԵՐԻ ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ IN VITRO ՓՈՐՁԵՐՈՒՄ

### Ա մ փ ո փ ո ս մ

1. In vitro փորձերում ուսումնասիրված է  $\beta$ -(2-մեթիլ ինդոլիլ-3) պրոպիլոնաթթվի դիհիդրազիդի, 2-մեթիլ ինդոլիլ-5-կարբօքսի հիդրազիդի,  $\alpha$ -բութիլ- $\beta$ -(2-մեթիլ-5-կարբօքսի ինդոլիլ-3) պրոպիլոնաթթվի դիհիդրազիդի և համապատասխան իզոպրոպիլ հիդրազիդների ազդեցութունը սպիտակ առնետների լյարդի և ուղեղի միտոխոնդրիալ ՄԱՕ-ի վրա: Որպես սուբստրատ օգտագործվել են սերոտոնին, տրիպտամին և նորադրենալին:

2. Մոնոհիդրազիդների արգելակող ազդեցութունը ուղեղի և լյարդի ՄԱՕ-ի վրա արտահայտված է առավել, քան դիհիդրազիդներինը:

3. Ուսումնասիրված նյութերի ՄԱՕ-ի վրա ունեցած ազդեցութունը նկատելի կերպով պայմանավորված է ֆերմենտի ստացման աղբյուրով: Իզոպրոպիլ հիդրազիդների առավել արտահայտված արգելակող ազդեցութունը, համեմատած համապատասխան հիդրազիդների հետ, ցայտուն է լյարդի ՄԱՕ-ի օգտագործման դեպքում:

4. Ուսումնասիրված ինդոլիլ հիդրազիդների ազդեցութունը ՄԱՕ-ի վրա, այլ համազոր պայմաններում, կանխորոշվում է նախընտրած սուբստրատով:

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Акопян Ж. Г., Терзян А. Г., Татевосян Г. Т. Арм. хим. ж. **21**, 6, 1968.
2. Горкин В. З. Ж. Всесоюзного хим. общества им. Д. И. Менделеева, **9**, 4, 405, 1964.

3. Горкин В. З., Романова Л. А. Биохимия, **24**, 5, 826, 1959.
4. Калиман П. А. Биохимия, **26**, 2, 284, 1961.
5. Калиман П. А. Биохимия, **30**, 6, 1194, 1965.
6. Сафразбекян Р. Р., Сукасян Р. С. Фармакол. и токсикол., **27**, 2, 213, 1964.
7. Сафразбекян Р. С., Сукасян Р. С. Биол. журн. Армении, **22**, 10, 1969.
8. Северина И. С. и Горкин В. З. Биохимия, **29**, 6, 1964.
9. Blaschko H., Philpot F. J. J. Physiol. **122**, 2, 403, 1953.
10. Gorkin V. Z. Pharmacol. Rev., **18**, 1, part 1, 115, 1966.
11. Gorkin V. Z. Komisarova N. V., Lerman M. I., Veryovkina I. V. Biochem. Biophys. Res. Commun., **15**, 4, 383, 1964.
12. Huszti Z., Borsy J. Biochem. Pharmacol. **13**, 8, 1151, 1964.
13. Koechlin B. A., Schwartz M. A., Oberhaensli W. E. J. Pharmacol. Exptl. Therap., **138**, 1, 11, 1962.
14. Nair V. Biochem. Pharmacol., **3**, 1, 78, 1959.
15. Schneider W. C. J. Biol. Chem. **176**, 259, 1948.
16. Seiden L. S. J. Wesrley, Arch. intern. pharmacodyn., **146**, 1--2, 145, 1963.
17. Wetner N. Arch. Biochem. Biophys., **91**, 182, 1960.
18. Woert van M. H., Cotzias G. O. Biochem. Pharmacol., **15**, 3, 275, 1966.
19. Zeller E. A. Experientia, **16**, 9, 399, 1960.
20. Zeller E. A. Ann. N. Y. Acad. Sci., **107**, 3, 811, 1963.
21. Zeller E. A., Barsky J. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **81**, 2, 459, 1952.
22. Zeller E. A., Barsky J., Berman E. R., Fontz J. R. J. Pharmacol. Exptl. Therap. **106**, 4, 427, 1952.