

УДК 612.822+547.853+577.1  
DOI: 10.54503/0514-7484-2026-66.1-42

## **Влияние пиридо[1,2-а]пиримидина на активность моноаминоксидазы в гипоталамусе крыс**

**А.С. Григорян**

*Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии НАН РА  
0014, Ереван, пр. Азатутян, 26*

*Ключевые слова:* пиридо[1,2-а]пиримидин, моноаминоксидаза, индопан, биогенные амины

Среди современных заболеваний человечества депрессия относится к числу распространенных, охватывая 3–6% населения, причем около 1% случаев депрессии ежегодно диагностируются первично. Более того, смертность среди лиц с депрессией мало уступает смертности от сердечно-сосудистых заболеваний. Согласно существующим прогнозам, к 2024 г. депрессия должна была занять второе место среди причин нетрудоспособности, уступив лишь сердечно-сосудистым заболеваниям [5, 7, 9]. Несмотря на значительную роль психоэмоциональных факторов в патогенезе депрессий и связанную с этим терапевтическую эффективность психотерапии, основным методом лечения депрессий на современном этапе является лекарственная терапия.

Введенные в клиническую практику более 50 лет назад трициклические антидепрессанты (ТЦА) и ингибиторы моноаминоксидазы (МАО) положили начало активному лечению депрессий и создали предпосылки для разработки новых групп препаратов. Ингибиторы МАО блокируют метаболические пути разрушения нейромедиаторов (норадреналина, серотонина, дофамина), а ТЦА – их обратный захват пресинаптической мембраной, в результате чего повышается содержание свободных нейромедиаторов. Вместе с тем с мощным влиянием ТЦА и ингибиторов МАО на мускариновые,  $\alpha$ -адренергические и гистаминовые рецепторы связаны многочисленные побочные эффекты, часто ограничивающие возможность применения этих препаратов [6]. В связи с этим перспективны исследования по изысканию новых, более активных и менее токсичных антидепрессивных препаратов с минимальными побочными эффектами [8]. Ранее нами была изучена антиМАО активность новых три- и тетразамещенных пиримидинов и производных три-, тетра-, пента- и гексациклических азаетероциклов, в результате чего был выявлен ряд активных производных [2, 3].

Продолжая эти исследования, в настоящей работе изучались антимонаминоксидазные свойства новых пиримидинов и пиридо[1,2-а]пиримиди-

нов. Согласно литературным данным, некоторые 2-арил-1-этилпиридо[1,2-а]пиримидины проявляют антиаллергические свойства [10], а среди производных пиридо[1,2-а]пиримидинов недавно были обнаружены соединения с выраженными антимоноаминоксидазными свойствами [1].

### Материал и методы

Эксперименты проводились на половозрелых крысах (n=48-50). Источником МАО служил 50% гомогенат мозга крыс, который получали путем гомогенизации в стеклянном гомогенизаторе с равным (по весу) объемом 2,5% раствора «аркопал» (Франция, фирма «Ark-international»). В полученном 50% гомогенате определяли активность МАО. Опытные пробы содержали 0,2 мл гомогената, 0,18 мл раствора исследуемого соединения и 0,18 мл раствора субстрата [4]. Объем пробы доводили до 1,8 мл 0,1 М К-Na-фосфатным буфером (рН 7,4). В качестве субстрата использовали серотонин (5-ОТ) креатинин сульфат моногидрат (Германия, фирма «Sigma-Aldrich»), который добавляли к пробам после 30-минутной преинкубации фермента с исследуемым веществом при комнатной температуре. Концентрация серотонина в пробе составляла 1,0 мкмоль/мл. Насыщение кислородом проводили в течение 5 мин при 37°C, после чего пробы инкубировали в течение 45 мин при 37°C в атмосфере кислорода. Реакцию останавливали добавлением 0,2 мл 50% трихлоруксусной кислоты. Осадок белка отделяли центрифугированием при 3000 об/мин. В безбелковой надосадочной жидкости определяли содержание аммиака методом изометрической отгонки в течение 24 ч с последующей нессеризацией и фотометрированием на фотометре-нефелометре ФЭК-56-2 (Россия, Санкт-Петербург, фирма «Завод аналитприбор»). Активность МАО выражена в % по отношению к контролю. Полученные результаты обработаны статистически по методу Grafpad InStat.

Изучалось влияние производного пиридо[1,2-а]пиримидина (1) на активность (МАО) и на дезаминирование серотонина (5-ОТ), норадреналина (НА), дофамина (ДА) и фенилэтиламина (ФЭА) в мозге крыс. Антимоноаминоксидазные свойства описанных ранее пиридо[1,2-а]пиримидинов [2] послужили основанием для их дальнейшего исследования.

### Результаты и обсуждение

Для исследования было выбрано наиболее активное соединение - 2-гидрокси-3-(2-(изобутилтио)-этил)-4Н-пиридо[1,2-а]пиримидин-4-он (1), которое в условиях *in vitro* при концентрации 1 мкмоль/мл и 30-минутной преинкубации снижало активность МАО в мозге на 94%, являясь лучшим ингибитором. Этот результат стал основанием для дальнейшего изучения данного соединения (1) и известного сравнительного антидепрессанта индопана на дезаминирование биогенных аминов (5-ОТ, НА, ДА, ФЭА) в гипоталамусе крыс *in vitro* в рамках нашей работы. Контрольный препарат индопан

при тех же экспериментальных условиях, 30-минутной предварительной инкубации, продемонстрировал следующую дозозависимую активность, выраженную в мкмоль/мл (%).

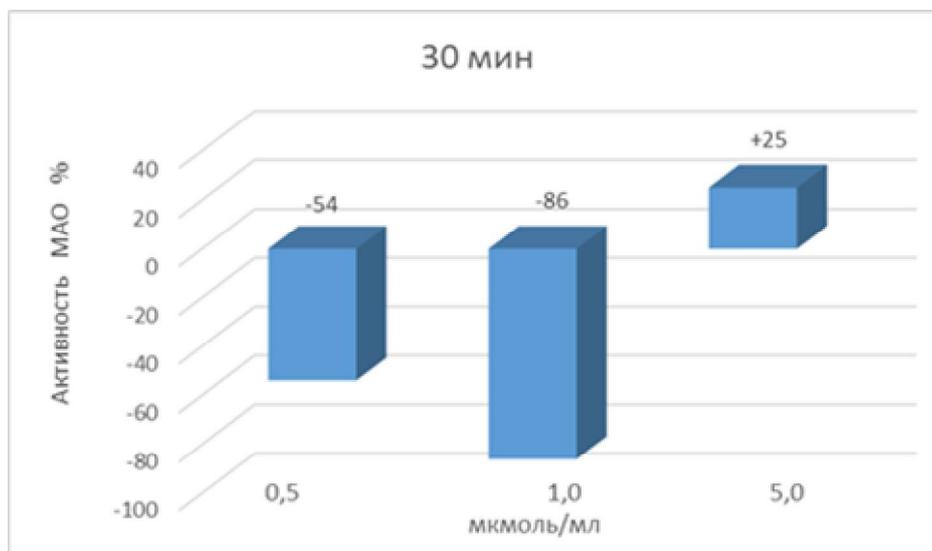


Рис.1. Угнетение влияния индопана на фермент моноаминоксидазы в гипоталамусе крыс: (-) подавляет фермент, (+) активует фермент.

Для исследования в качестве контрольного соединения был принят индопан, который в гипоталамусе крыс за 30 минут предварительной инкубации при концентрациях 0,5; 1,0 и 5,0 мкмоль/мл проявил антиMAO активность: при 0,5 мкмоль/мл (- 54%), при 1,0 мкмоль/мл (- 86%), при 5,0 мкмоль/мл (+25%) (рис. 1).

Индопан в проведённых исследованиях считается референсным соединением для всех субстратов.

Исследование дезаминирования серотонина в гипоталамусе крысы проводилось при времени инкубации 15, 30, 60 и 90 минут. Результаты показали, что при преинкубации до 30 минут ингибирующее действие соединения (1) было слабым и мало зависело от дозы, поэтому основное изучение влияния соединения проводили в пределах 30 минут инкубации. При 30-минутной инкубации ингибирование фермента при концентрациях 0,5 и 1,0 мкмоль/мл составило 52% и 94% соответственно. Исследование соединения (1) *in vitro* также проводилось при 60-минутной инкубации, где оно продемонстрировало выраженное действие: при 0,5 мкмоль/мл антиMAO активность составила 58%, при 1,0 мкмоль/мл – 96%, а при 5,0 мкмоль/мл наблюдалась активация фермента на 24%. Однако при 90-минутной инкубации активность снизилась: при 0,5 мкмоль/мл составила 46%, при 1,0 мкмоль/мл – 72%, а при 5,0 мкмоль/мл – 84% (рис 2).

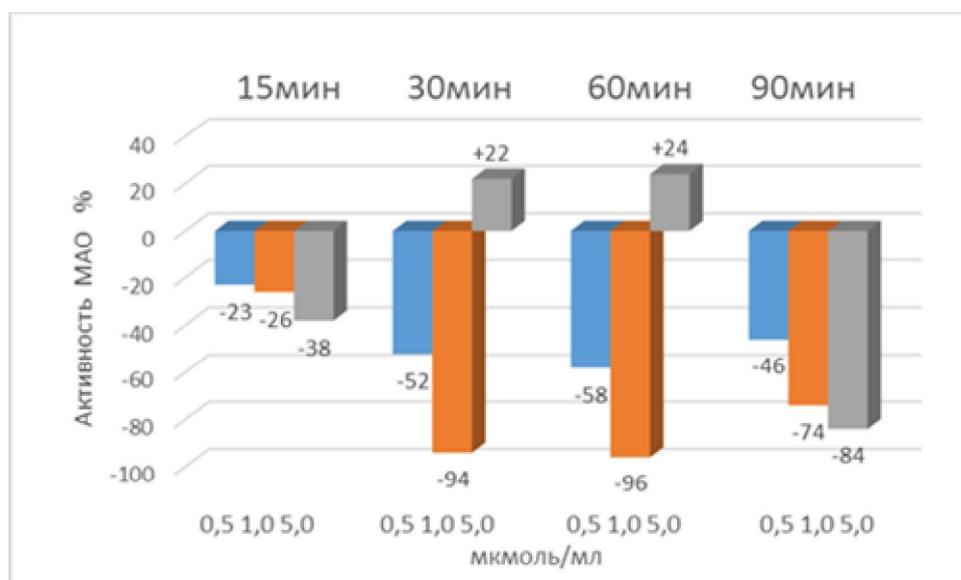


Рис. 2. Влияние исследуемого соединения (1) на дезаминирование серотонина в гипоталамусе в дозозависимых и времязависимых условиях

Как видно из рис. 2, при 15-минутной прединкубации соединение (1) демонстрирует низкую активность, которая мало зависит от дозы. С увеличением времени прединкубации до 30–60 минут соединение оказывает значительно более выраженное воздействие на MAO, резко повышая активность ингибирования до 54% при 0,5 мкмоль/мл и до максимальных 96% при 1,0 мкмоль/мл, превосходя индопан. Интересно, что при концентрации 5,0 мкмоль/мл механизм действия соединения меняется, и вместо ингибирования происходит активация MAO, увеличивая ее активность на +22%. Это сходно с эффектом контрольного препарата индопана, который при дозе 5,0 мкмоль/мл увеличивает активность фермента на +24%. При дальнейшем увеличении времени инкубации до 90 минут активность ингибирования снижается для всех дозировок.

Норадреналин гидротартрат в мозге регулирует гомеостаз организма, жизненные процессы, включая формирование эмоциональных состояний, таких как страх, тревога и раздражительность. Исследования проводились в тех же дозозависимых и времязависимых условиях, как указано выше. При 15 мин предварительной инкубации дезаминирование норадреналина при концентрации 0,5 мкмоль/мл составило 34%, при 1,0 мкмоль/мл – 48%, при 5,0 мкмоль/мл – 66%. При 30 мин предварительной инкубации при концентрации 0,5 мкмоль/мл составило 48%, при 1,0 мкмоль/мл – 62% и при 5,0 мкмоль/мл – 76%. Увеличение продолжительности предварительной инкубации до 60 минут показывает изменение данных: при 0,5 мкмоль/мл составило 48%, при 1,0 мкмоль/мл – 70%, при 5,0 мкмоль/мл – 80%. При 90 мин

предварительной инкубации активность антиМАО соединения (1) составила: при 0,5 мкмоль/мл – 46%, при 1,0 мкмоль/мл – 77%, при 5,0 мкмоль/мл – 84%.

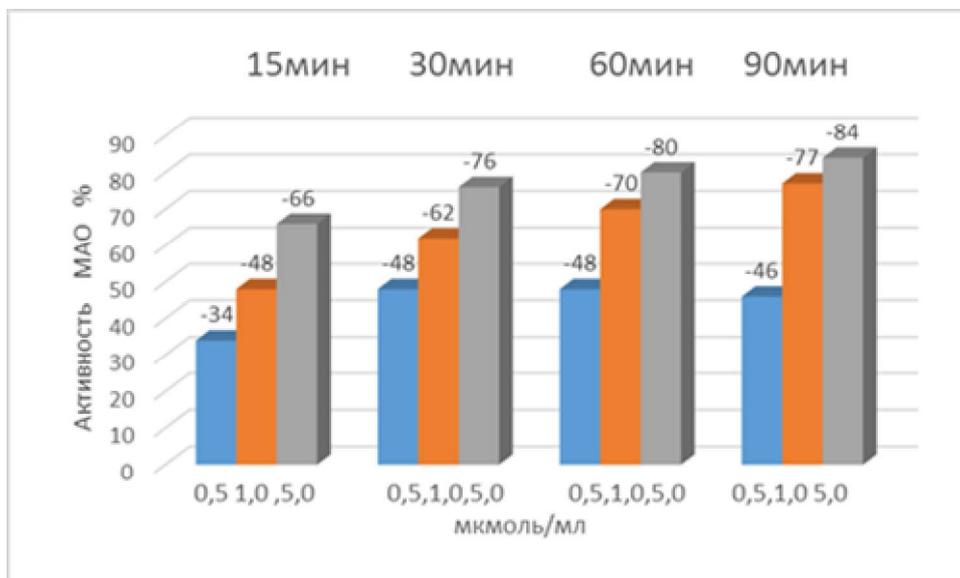


Рис. 3. Влияние соединения (1) на дезаминирование норадреналин гидротартрата в гипоталамусе крыс

Как видно из рис. 3, влияние соединения (1) на дезаминирование норадреналина при 15-минутной предварительной инкубации при 0,5 мкмоль/мл демонстрирует слабую активность, тогда как при 1,0 и 5,0 мкмоль/мл проявляет среднюю активность. С увеличением времени инкубации до 30, 60 и 90 минут показатели 0,5 мкмоль/мл остаются стабильными, составляя соответственно 42, 46 и 48%. Ингибирование фермента при дозе 1,0 мкмоль/мл увеличивается с ростом времени и достигает 48-77%, что нельзя считать высоким показателем. Увеличение концентрации до 5,0 мкмоль/мл приводит к возрастанию антиМАО активности дезаминирования норадреналина в диапазоне 66-84% с увеличением времени инкубации.

Можно сказать, что при данных дозозависимых и времязависимых условиях максимальная активность достигается при дозе 5,0 мкмоль/мл и времени инкубации 90 мин, составляя 84%. Следовательно, ингибирующий эффект в большей степени зависит от дозы, а влияние времени инкубации выражено менее значительно.

Исследования также были проведены для изучения исследуемого соединения на дезаминирование дофамина при тех же условиях. Исследование проводилось при концентрациях 0,5; 1,0 и 5,0 мкмоль/мл с 15, 30, 60 и 90 минутами предварительной инкубации. При 15 мин предварительной инкубации соединение (1) и фермент МАО индуцировали дезаминирование дофамина с активностью антиМАО, составившей 49%, 37% и 31% при концентрациях

0,5; 1,0 и 5,0 мкмоль/мл соответственно. При 30мин инкубации при тех же концентрациях активность MAO составила 35%, 72% и 74%. Однако данные для 60 и 90 мин предварительной инкубации, как видно из рис. 4, показали значительное снижение дезаминирования дофамина. Исходя из этого, можно сказать, что при кратковременной предварительной инкубации (15 мин) дезаминирование дофамина с участием соединения (1) и фермента MAO выражено в меньшей степени (49% при концентрации 0,5 мкмоль/мл, 37% при 1,0 мкмоль/мл и 31% при 5,0 мкмоль/мл). Это свидетельствует о слабом эффекте при коротком времени инкубации.

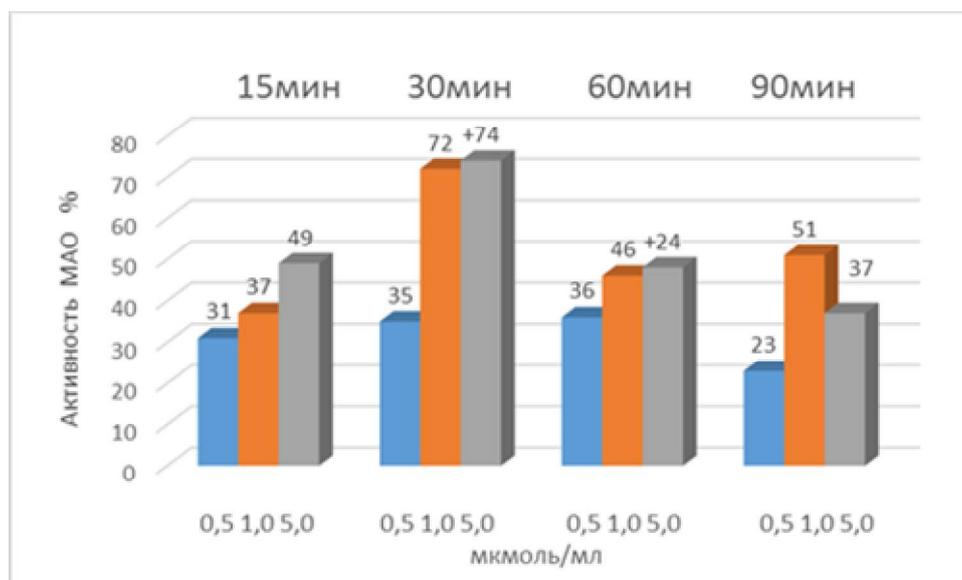


Рис. 4. Влияние соединения (1) на дезаминирование дофамина в гипоталамусе крыс

При увеличении концентрации веществ до 5,0 мкмоль/мл в условиях 15 минут предварительной инкубации наблюдается снижение активности анти-MAO, это говорит о том, что с ростом дозы эффект снижается. Для более высоких доз (1,0 и 5,0 мкмоль/мл) активность значительно возрастает при 30мин инкубации (до 72% и 74% соответственно). При более длительных сроках инкубации (60 и 90 мин) дезаминирование дофамина значительно уменьшается, что видно из рис. 4. Это может указывать на адаптацию системы или на снижение активности фермента с увеличением времени, что является важным фактором для оптимизации дозы и времени в дальнейшем.

Таким образом, влияние на дезаминирование дофамина зависит как от дозы, так и от времени инкубации. При коротких сроках инкубации доза не оказывает значительного эффекта, тогда как при более длительном времени инкубации высокие дозы показывают более выраженное воздействие. Однако с увеличением времени инкубации активность анти-MAO снижается, что требует дальнейших исследований для оптимизации этих параметров.

Поскольку фенилэтиламин считается субстратом МАО-Б, исследование также было проведено для изучения его дезаминирования при тех же условиях. При 15-минутной предварительной инкубации при концентрациях 0,5; 1,0 и 5,0 мкмоль/мл фермент МАО-Б был ингибирован с активностью 10%, 16% и 18% соответственно. Можно сказать, что при 30 мин предварительной инкубации изменений не наблюдается, а 60 и 90 мин, при концентрациях 1,0 и 5,0 мкмоль/мл, замечается некоторое увеличение дезаминирования (рис. 5).

Как видно, при короткой предварительной инкубации (15 мин) ингибирование фермента МАО-Б относительно фенилэтиламина незначительное, с активностью 10%, 16% и 18% при концентрациях 0,5; 1,0 и 5,0 мкмоль/мл соответственно. Это говорит о слабом эффекте соединения на дезаминирование фенилэтиламина в этих условиях.

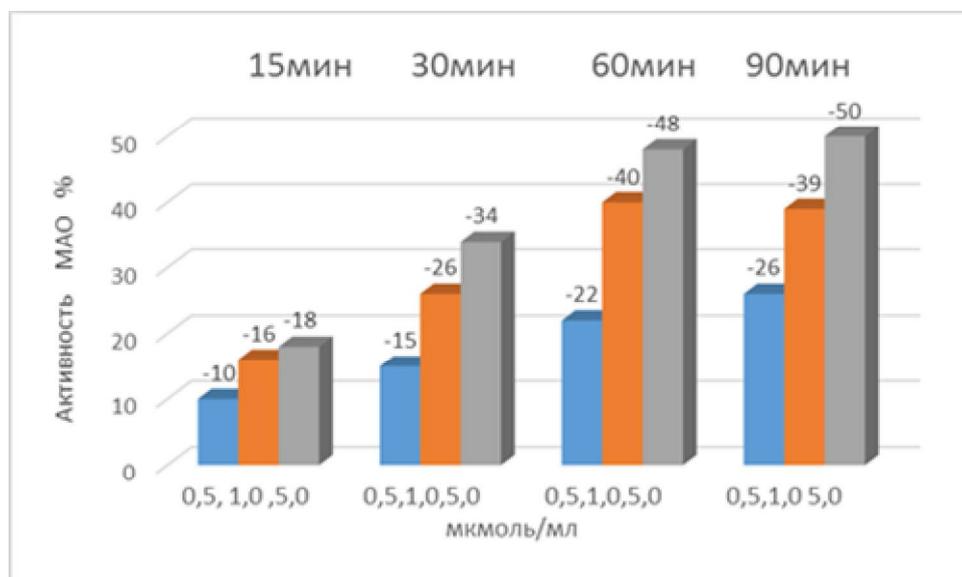


Рис. 5. Влияние соединения (1) на дезаминирование фенилэтиламина в гипоталамусе крыс

При инкубации на 30, 60 и 90 минутах изменения активности фермента МАО-Б не наблюдаются, что может указывать на стабильность реакции в этих временных интервалах. При более длительных сроках инкубации (60 и 90 мин) и концентрациях 1,0 и 5,0 мкмоль/мл наблюдается некоторое увеличение дезаминирования фенилэтиламина, это может свидетельствовать о том, что на этих дозах фермент начинает проявлять более выраженную активность с течением времени.

Таким образом, влияние соединения на дезаминирование фенилэтиламина в основном не зависит от времени инкубации, за исключением более высоких концентраций (1,0 и 5,0 мкмоль/мл), где увеличение времени инку-

бации (60 и 90 мин) приводит к некоторому усилению эффекта. Тем не менее, в целом эффект ингибирования фермента МАО-Б остается довольно слабым.

Результаты исследования показали, что только данные о дезаминировании серотонина при концентрациях 0,5; 1,0 и 5,0 мкмоль/мл совпадают с данными известного препарата индопана. Данные о дезаминировании других субстратов не совпадают с данными индопана. Однако следует отметить, что при кратковременной (15 мин) предварительной инкубации ингибирующее влияние субстратов более активно, чем при длительной (90мин) предварительной инкубации. Кратковременные и долгосрочные инкубации почти равны по эффекту.

Поскольку основной фермент, ответственный за депрессию, это МАО-А, а серотонин является его субстратом, можно утверждать, что результаты исследования соединения (1) соответствуют вероятности его антидепрессантного действия.

*Поступила 25.11.25*

### **Պիրիդո [1,2-а]պիրիմիդինի ազդեցությունն առնետի հիպոթալամուսում ՄԱՕ-ի ակտիվության նկատմամբ**

**Ա.Ս. Գրիգորյան**

Ուսումնասիրվել է 2-հիդրոքսի-3-(2-(իզոբուտիլթիո)էթիլ)-4H-պիրիդո [1,2-а]պիրիմիդին-4-ոնի ազդեցությունը մոնոամինօքսիդազի (ՄԱՕ) ակտիվության վրա առնետի ուղեղում *in vitro* պայմաններում: Որպես սուբստրատ կիրառվել է սերոտոնին (5-ՕՏ) կրեատինին սուլֆատ մոնոհիդրատը: Պարզվել է, որ պիրիմիդինների շարքում պիրիդո[1,2-а]պիրիմիդինն ունի հակամոնոամինօքսիդազային ազդեցություն: Հիմնավորված է, որ ամինների բավարար քանակը կարևոր դեր է խաղում հուզական վիճակները կարգավորելիս, սակայն ամինների պակասը կարող է հանգեցնել դեպրեսիայի, վախի, անհանգստության և լարվածության: Ըստ գրականության տվյալների՝ հակադեպրեսանտները կայունացնում են հոգեկան վիճակները՝ ընկճելով մոնոամինօքսիդազ ֆերմենտը:

### **Effect of Pyrido[1,2-a]Pyrimidine on Monoamine Oxidase Activity in the Hypothalamus of Rats**

**A.S. Grigoryan**

The effect of 2-hydroxy-3-(2-(isobutylthio)-ethyl)-4H-pyrido[1,2-a]pyrimidin-4-one on monoamine oxidase (MAO) activity in rat brain was studied *in vitro*.

Serotonin (5-OT) creatinine sulfate was used as a substrate. It was found that among the pyrimidines, pyrido[1,2-a]pyrimidines exhibit moderate antiMAO activity. It is known that the abundance of these amines plays an important role in regulating emotional states by controlling the stability of pre- and postsynaptic impulse transmission. A deficiency of amines can lead to depression, fear, anxiety, and tension. Literature data confirm that antidepressants stabilize mental states by inhibiting the enzyme monoamine oxidase.

### Литература

1. Арутюнян А.А., Гаспарян Г.В., Сукасян Р.С., Григорян А.С. Новые сильные ингибиторы моноаминоксидазы–3-(2-циклопентил изобутилсульфанилэтил)пиридо-[1,2-а]пиримидины. Хим. ж. Армении, 2016, 69, 3, с. 362-365.
2. Арутюнян А.А., Паносян Г.А., Галстян М.В. и др. Синтез новых пиримидинов и поликонденсированных азаетероциклов. Сб. трудов “Некоторые успехи органической и фармацевтической химии”. Ереван, НАН РА, 2015, вып. 2, с. 299-310.
3. Арутюнян А.А., Сукасян Р.С., Григорян А.С. MAO-ингибирующие свойства некоторых новых замещенных пиримидинов и конденсированных азаетероциклов. Биол. журн. Армении, 2016, 68, 1, с. 60-63.
4. Горькин В.З. Методы, основанные на измерении освобождаемого аммиака. М., 1981, с. 34.
5. Новые достижения в терапии психических заболеваний. Под ред. проф. С.Н. Мосолова. М., 2002.
6. Bruce T.J., Saeed S.A. Social anxiety disorder: a common, underrecognized mental disorder. Am. Fam. Physician, 60, 8, pp. 2311-2320, 1999.
7. Fiedorowicz J.G., Swartz K. L. The role of monoamine oxidase inhibitors in current psychiatric practice. J. Psychiatr. Pract., 10, 4, pp. 239-248, 2004.
8. Geldenhuys W.J., Darvesh A.S., Funk M.O., Van der Schyf C.J., Carroll R.T. Identification of novel monoamine oxidase B inhibitors by structure-based virtual screening. Bioorg. Med. Chem. Lett., 20, 17, pp. 5295-5298, 2010.
9. Livingston M.G., Livingston H.M. Monoamine oxidase inhibitors. An update on drug interactions. Drug Safety, 14, 4, pp. 219-227, 1996.
10. Passarotti C., Resnati G., Doria G. Synthesis of new 2-(2-phenylethenyl)-4-oxo-4H-pyrido-[1,2-a]pyrimidine-7-carboxylic acids. Farmaco Ed. Sci., 39, 10, pp. 837-845, 1984.