

ФАРМАКОЛОГИЯ ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

ИЗУЧЕНИЕ СПАЗМОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ ИМИДАЗО[1,2-*a*]АЗЕПИНИЯ НА ИЗОЛИРОВАННЫХ ПОЛОСКАХ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ КРЫС

И. В. Геращенко, Н. А. Мохорт¹

Проведены скрининговые исследования спазмолитической активности производных имидазо[1,2-*a*]азепиния на изолированных полосках мочевого пузыря самок крыс. Установлена способность изучаемых соединений снижать базальный тонус полосок мочевого пузыря на фоне гиперкалиевой констрикции (40 мМ).

Ключевые слова: миотропные спазмолитики; изолированные полоски мочевого пузыря; производные имидазо[1,2-*a*]азепиния.

ВВЕДЕНИЕ

Применение препаратов из класса миотропных спазмолитиков значительно увеличилось. Для этой группы средств характерно отсутствие побочных явлений, избирательность действия, высокая эффективность. Именно эти положительные качества влияют при выборе миотропных спазмолитиков для лечения заболеваний сердечно-сосудистой (гипертензия, ишемическая болезнь сердца), пищеварительной (язвы, холециститы) [1], мочевыделительной (мочекаменная болезнь, пиелонефрит, гиперактивный мочевой пузырь) и половой систем (преждевременные роды [8, 11], вагиниты). Чаще используют препараты из подгруппы селективных миотропных спазмолитиков, среди которых активаторы калиевых каналов (миноксидил, диазоксид), блокаторы кальциевых каналов (верапамил, нифедипин, дилтиазем, клентиазем, амлодипин, галлопамил), донаторы окиси азота (нитроглицерин, нитропруссид натрия) [3].

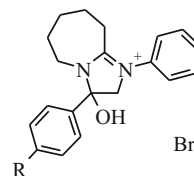
В связи с расширением области применения препаратов, относящихся к селективным миотропным спазмолитикам, и актуальностью поиска новых препаратов данной группы нами произведены скрининговые исследования ряда производных имидазо[1,2-*a*]азепиния.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Первоначально среди виртуальной базы производных имидазо[1,2-*a*]азепиния с помощью компьютерной программы PASS (Prediction of Activity Spectra for Sunstaces) [4, 5] были отобраны структуры, для которых прогнозировалась спазмолитическая активность, обусловленная активацией калиевых каналов или блокадой кальциевых каналов [7]. Выбранные структуры

получены в отделе синтеза физиологически активных веществ ГУ “Институт фармакологии и токсикологии Национальной академии наук Украины” под руководством А. М. Демченко.

В исследованиях была определена спазмолитическая активность 7 соединений, производных имидазо[1,2-*a*]азепиния [IFT_000176 (-OCH₃); IFT_000177 (-NO₂); IFT_000178 (-CH₃); IFT_000193 (-Cl); IFT_000198 (-C₆H₅); IFT_000233 (-F); IFT_000234 (-OC₂H₅)] общей формулы:



R = F, Cl, NO₂, CH₃, OCH₃, OC₂H₅, C₆H₅

Эксперименты проведены на изолированных полосках мочевого пузыря нелинейных самок белых крыс массой 173 ± 13 г (разведение ЧП “Биомодельсервис”). Животных содержали при температуре 22 – 24 °С и влажности воздуха 65 – 75 % с 14-часовым световым периодом суток со стандартным комбикормовым рационом при условии свободного доступа к воде. Перед началом эксперимента животных отсаживали в клетку без доступа к еде и воде в течение 1 ч. После взвешивания животных умерщвляли в соответствии с требованиями Декларации биоэтики Хихона 2000 г. I Всемирного конгресса биоэтики (Хихон, Испания, 2000 г.). Выделенный мочевой пузырь размещали на парафиновом хирургическом столике в толще буферного раствора Кребса следующего состава (в ммоль/л): NaCl — 132; KCl — 4,7; NaH₂PO₄ — 1,4; NaHCO₃ — 16,3; CaCl₂ — 2,5; MgCl₂ — 1,05; глюкоза — 6,5. Аэрацию раствора осуществляли карбогеном (газовая смесь 5 % CO₂ / 95 % O₂) [2, 6].

¹ ГУ “Институт фармакологии и токсикологии Национальной академии медицинских наук Украины”, 03680, Киев, ул. Эжена Потье, 14.

У мочевого пузыря после очищения от жировой и соединительной тканей отсекали дно, затем отрезали два кольца шириной 1 мм. Кольца разрезали пополам, получая при этом полоски, которые размещали в проточной камере со скоростью потока 1,5 мл/мин и температурой $37 \pm 0,5$ °С. Первичное растяжение изолированных полосок производили нагрузкой 0,25 г [9, 10].

Влияние исследуемых соединений на базальный тонус изолированных полосок изучали после стабилизации их реакции на периодическую стимуляцию гиперкалиевым раствором Кребса (КС1 40 мМ). Исследуемые соединения растворяли в диметилсульфоксиде и добавляли к гиперкалиевому раствору Кребса с созданием концентраций 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} моль/л, которые прокачивались через камеру накопительно, каждая по 15 мин.

Силу сократительных движений измеряли в изометрическом режиме с помощью емкостных тензометрических датчиков (ФТК-0,1, ООО “Miosenser”, Москва). Запись сокращений осуществляли персональным компьютером с помощью аналогово-цифрового преобразователя с использованием программы DataTrax₂.

По записанной механограмме измеряли базальный тонус в граммах. Далее вычисляли процент расслабления, принимая за 100 % сокращения реакцию полосок в гиперкалиевом растворе Кребса.

Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютерной программы Origin 7.5 и Microsoft Office Excel 2007. Математическую обработку полученных результатов проводили методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено наличие спазмолитической активности у производных имидазо[1,2-*a*]азепиния. Только два соединения IFT_000193 (EC_{50} $7,7 \cdot 10^{-5}$ моль/л) и IFT_000234 (EC_{50} $9,8 \cdot 10^{-5}$ моль/л) расслабляли изо-

Параметры спазмолитической активности производных имидазо[1,2-*a*]азепиния в опытах на изолированных полосках мочевого пузыря самок крыс ($n = 4$)

Вещество	R	Параметры спазмолитической активности	
		EC_{30} , моль/л	E_{max} , %
IFT 000176	-OCH ₃	$7,8 \cdot 10^{-5}$	41,5*
IFT 000177	-NO ₂	$9,2 \cdot 10^{-5}$	32*
IFT 000178	-CH ₃	$1 \cdot 10^{-4}$	30*
IFT 000193	-Cl	$3,6 \cdot 10^{-5}$	61,5*
IFT 000198	-C ₆ H ₅	—	27*
IFT 000233	-F	$5,4 \cdot 10^{-5}$	47,8*
IFT 000234	-OC ₂ H ₅	$6 \cdot 10^{-5}$	51*

Примечание. * — $p \leq 0,05$ по сравнению с исходным показателем.
n — количество животных.

лированные полоски более чем на 50 %. В качестве препарата сравнения нами выбран дротаверин [1-(3,4-диэтоксифенил)-6,7-диэтокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин], для которого в условиях эксперимента было установлено EC_{50} $14,2 \cdot 10^{-4}$ моль/л и E_{max} 98 %.

В таблице представлены данные 2-х критериев, по которым оценивали спазмолитическую активность производных имидазо[1,2-*a*]азепиния — показатель эффективной концентрации (EC_{30} , моль/л) и максимальный процент расслабления (E_{max} , %).

Четыре соединения среди производных имидазо[1,2-*a*]азепиния проявляют спазмолитическую активность уже в концентрации 10^{-7} моль/л, IFT_000193 (17 %), IFT_000177 (9,4 %), IFT_000178 (9 %), IFT_000234 (10,6 %). В скобках отмечен процент расслабления.

Максимальное расслабление достигало 61,5 % на фоне вещества IFT_000193 (R-Cl) при концентрации 10^{-4} моль/л.

Вещество IFT_000198 (R-C₆H₅) имело наименьшую спазмолитическую активность, не расслабляло изолированные полоски более чем на 27 % в концентрации 10^{-4} моль/л. Для этой структуры также характерно нарастание сокращения при концентрациях 10^{-7} , 10^{-6} моль/л, которое сменяется расслаблением только в концентрации 10^{-5} моль/л.

Исследованные соединения имели в химической структуре различия только по одному радикалу, что позволило более полно проанализировать взаимосвязь “структура — активность”.

Радикалы галогенов присутствуют в двух исследованных структурах: IFT_000193 (R-Cl) и IFT_000233 (R-F). Анализ их активности показывает, что наличие радикала хлора увеличивает спазмолитическую активность, это может осуществляться за счет образования более прочных связей с точками приложения в гладкомышечных клетках.

Существенное изменение электронной плотности молекулы привело к значительному уменьшению биологической активности у структуры с ароматическим радикалом фенилом IFT_000198 (R-C₆H₅).

Увеличение молекулярной массы радикала способствовало спазмолитической активности исследуемых веществ. Так, в ряду IFT_000178 (R-CH₃), IFT_000176 (R-OCH₃), IFT_000234 (R-OC₂H₅) наблюдается рост показателя эффективной спазмолитической концентрации и максимального процента расслабления. Аналогичная тенденция характерна и для веществ с радикалами хлора и фтора.

Опираясь на компьютерный прогноз PASS, мы предполагаем, что вещество “лидер” [IFT_000193 (R-Cl)] проявляет спазмолитическую активность в результате блокады кальциевых каналов или активации калиевых каналов.

ВЫВОД

In vitro выявлена спазмолитическая активность производных имидазо[1,2-*a*]азепиния, для которых EC_{50} находится в пределах $3,6 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Наибольшей спазмолитической активностью обладает вещество IFT_000193 (EC_{50} $3,6 \cdot 10^{-5}$ моль/л, E_{max} 61,5 %).

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. А. Агафонова, *Мед. вестн.*, **27**(532), 13(2001).
2. Р. Блаттнер, Х. Классен, Х. Денерт и др., *Эксперименты на изолированных препаратах гладких мышц*, Москва (1983).
3. К. Г. Гуревич, Е. Г. Лобанова, *Фарматека*, **50**(8), 40 – 47 (2001).
4. В. В. Поройков, Д. А. Филимонов, Т. А. Глориозова, и др., *Информационный вестник ВОГиС*, **13**(1), 137 – 143 (2008).
5. Д. А. Филимонов, В. В. Поройков, *Рос. хим. журн.*, **50**(2), 66 – 75 (2006).
6. *Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації)*, О. В. Стефанова (ред.), Київ (2001).
7. М. А. Мохорт, І. В. Герашенко, *Журнал Національної академії медичних наук України*, **18**(1), 31 – 39 (2012).
8. В. А. Орчаков, О. А. Дрозд, *Український медичний часопис*, № 6, 99 – 107 (2001).
9. J. A. Butera, M. M. Antane, S. A. Antane, et al., *J. of Med. Chem.*, **43**(6), 1187 – 1202 (2000).
10. J. H. Han, I. H. Chang, S. C. Myung, et al., *Korean J. Physiol. Pharmacol.*, **16**, 37 – 42 (2012).
11. J. F. King, V. J. Flenady, N. M. Papatsonis, et al., *Cochrane Database of Systematic Reviews*, CD002255 (2007).

Поступила 19.04.13

STUDYING SPASMOlyTIC ACTIVITY OF IMIDAZO[1,2-*a*]AZEPINIUM DERIVATIVES ON ISOLATED STRIPS OF RAT BLADDER

I. V. Herashchenko and M. A. Mokhort

Institute of Pharmacology and Toxicology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Eugene Pottier str. 14, 03680 Kiev, Ukraine

We have performed screening tests for imidazo[1,2-*a*]azepine derivatives by studying their antispasmodic activity on the isolated strips of urinary bladder of female rats. Test compounds showed the ability to reduce the basal tone of bladder stripes on the background of hyperpotassium constriction (40 mM KCl).

Keywords: myotropic antispasmodics; isolated urinary bladder strips; imidazo[1,2-*a*]azepine derivatives