

Рекомендована д-м біол. наук, проф. І. М. Кліщем

УДК 615.015.11:547.7.9

УЧАСТЬ ХОЛЕЦИСТОКІНІНЕРГІЧНОЇ СИСТЕМИ У МЕХАНІЗМІ АНОРЕКСИГЕННОЇ ДІЇ ЦИС-3-АРИЛІДЕН(ГЕТАРИЛІДЕН)-1,4-БЕНЗДІАЗЕПІН-2-ОНІВ

© А. А. Казакова, В. В. Годован

Одеський національний медичний університет

Резюме: як відомо, у процесах регуляції харчової поведінки бере участь рецепторна система холецистокініну (ССК). Проведені дослідження щодо вивчення одного з можливих механізмів анорексигенної дії сполук ряду цис-3-ариліден(гетариліден)-1,4-бенздіазепін-2-онів свідчать про те, що зниження апетиту щурів на тлі їх введення відтворюється за участю ССК-рецепторів, а саме підтипу ССК₂. Аналіз отриманих експериментальних даних про спектр нейрофармакологічної активності зазначених сполук дає підстави зробити висновок, що зазначені сполуки одночасно є лігандами обох підтипів ССК-рецепторів, різняться направленістю взаємодії з ними.

Ключові слова: похідні цис-3-ариліден(гетариліден)-1,4-бенздіазепін-2-онів, холецистокінінові рецептори, механізми анорексигенної дії.

Вступ. Регуляція харчової поведінки завжди привертала увагу фармакологів і клініцистів, однак останнім часом цей напрям досліджень набув особливої актуальності через проблему ожиріння, яка з кожним роком стає все гострішою. За даними літератури, за останні 20 років кількість людей, які страждають від надлишкової маси, зросло в 2,5-3 рази [6].

Як відомо, у керуванні харчовою поведінкою бере участь велика кількість гіпоталамічних пептидів, однак особливе місце серед них посідає гормон холецистокінін (ССК) [3]. Застосування природного пептиду ССК-8 як терапевтичного засобу обмежене через його низьку селективність та значну молекулярну масу [1]. Ці обставини зумовили створення численних хімічних модифікацій природного пептиду та його ендогенних фрагментів. Пошук високоактивних і селективних антагоністів і агоністів рецепторів холецистокініну як потенційних лікарських засобів для лікування хворих на різні захворювання центральної нервової і шлунково-кишкової системи відбувається, головним чином, за двома напрямками. По-перше, це модифікація природного пептиду, по-друге, – розробка не-пептидних селективних лігандів ССК₁- і ССК₂-рецепторів.

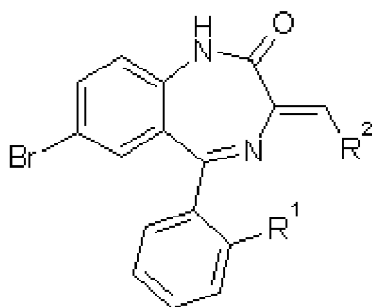
У цьому аспекті зростає інтерес до класу похідних 1,4-бенздіазепінового ряду. Раніше було показано, що похідні 3-заміщених 1,4-бенздіазепінів є лігандами бенздіазепінових рецепторів [4], але спектр їх нейрофармакологічної активності свідчить про можливу взаємодію також з іншими медіаторними системами у ЦНС. Відомо, що агоністи бенздіазепінових (БД) рецепторів (хлордіазепоксид, діазепам, флуразе-

пам і лоразепам) усувають центральні (тривогу, пригнічення харчової поведінки) і периферійні (посилення евакуації вмісту шлунка, виділення жовчі, панкреатичного соку) ефекти ССК-8. В електрофізіологічних дослідженнях продемонстровано, що дуже низькі дози агоністів БД-рецепторів (лоразепам, флуразепам, діазепам) блокують порушення пірамідальних клітин гіпокампу, викликані ССК-8 [1]. Серед нових похідних 3-аніліно-5-феніл-1,3-дигідро-2Н-1,4-бенздіазепін-2-онів були знайдені сполуки, які проявляють високий афінитет до обох підтипів холецистокінінових рецепторів ССК₁ та ССК₂ [4]. Розроблено ряд нових ахіральних 1,3,4-бензтріазепінів, аналогів 1,4-бенздіазепінів, які є антагоністами ССК₂-рецепторів і одночасно мають високу селективність до ССК₁-рецепторів [11].

Тому метою даної роботи було встановлення можливого холецистокінінергічного механізму анорексигенної дії нових цис-3-ариліден(гетариліден) похідних 1,4-бенздіазепінів.

Методи дослідження. Досліди проводили згідно з біоетичними вимогами на 36 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200 г, розведених у віварію Одеського національного медичного університету. Тварин утримували в звичайних умовах на стандартному харчовому раціоні.

Відповідно до методики «Анорексія» [10] проведено вивчення участі ССК-ергічної системи у механізмі анорексигенної дії похідних цис-3-ариліден(гетариліден)-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-онів наступної структури (рис. 1), синтезованих у Фізико-хімічному інституті ім. О. В. Богатського НАН України. Спочатку, протягом 2-х тижнів, у щурів виробляли навик приймання рідкої їжі. Потім у відібраних групах (n=6) тварин



- 1) R¹=Cl, R² = 4-OCH₃-C₆H₄;
2) R¹=Cl, R² = 3-Cl-C₆H₄;

Рис. 1. Структурна формула похідних цис-3-ариліден(гетариліден)-1,4-бенздіазепінів.

внутрішньоочеревинно вводили фізіологічний розчин натрію хлориду за день до досліду. Через 30 хв після ін'єкції тварин поміщали в камеру з рідкою їжею і реєстрували кожні 30 хв протягом 3-х год кількість споживаної їжі у кубічних сантиметрах. Контрольна група тварин повинна була споживати в середньому за 30 хв 7-8 см³. Наступного дня після 2-х год харчової депривації контрольної і дослідних груп тварин внутрішньоочеревинно вводили фізіологічний розчин і сполуки в суспензії з Twin-80 дозою 2 мг/кг. Через 30 хв після введення сполук 1–10 щурів допускали до їжі і фіксували кількість споживаної їжі (см³) протягом 3 год кожні 30 хв. Потім всі показники за кожним щуром підраховували і порівнювали з контрольним значенням.

Для встановлення ролі холецистокінінової системи в механізмі анорексигенної дії даного ряду сполук як фармакологічний аналізатор був

використаний проглумід. Проглумід (мілід) – неселективний антагоніст ССК-рецепторів, який знижує моторику шлунково-кишкового тракту та зменшує виділення шлункового соку [1], на сьогодні використовується для лікування хворих на виразкову хворобу шлунка і дванадцятипалої кишки. При поєднаному введенні фармакологічного аналізатора та досліджуваної сполуки спочатку вводився її розчин, потім – внутрішньоочеревинно розчин проглуміду дозою 10 мг/кг.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою програми Microsoft Excel за методом обчислення середнього арифметичного та його рівня значимості за критерієм достовірності Ст'юдента [5].

Результати й обговорення. Раніше нами було показано, що в ряду 7-бром-5-арил-3-ариліден(гетариліден)-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-онів є сполуки, які у низьких дозах (2 мг/кг) мають анорексигенну активність, яка виражається в зниженні кількості спожитої рідкої їжі та зниженні апетиту у щурів. Як було встановлено, найвиразнішу анорексигенну активність у даному ряду проявляє сполука 2, що має у своїй структурі атом Cl в м-положенні, яка у 5 разів знижує кількість споживаної їжі протягом 3-х год порівняно з контрольною групою.

При поєднаному введенні неселективного антагоніста ССК-рецепторів проглуміду дозою 10 мг/кг та найбільш активної сполуки 2 дозою 2 мг/кг об'єм спожитої рідкої їжі зменшився на 96 % порівняно з контрольною групою (рис. 2). Сам проглумід дозою 10 мг/кг на 79 % відносно контролю знижував об'єм узятної рідкої їжі за методом «Анорексія».

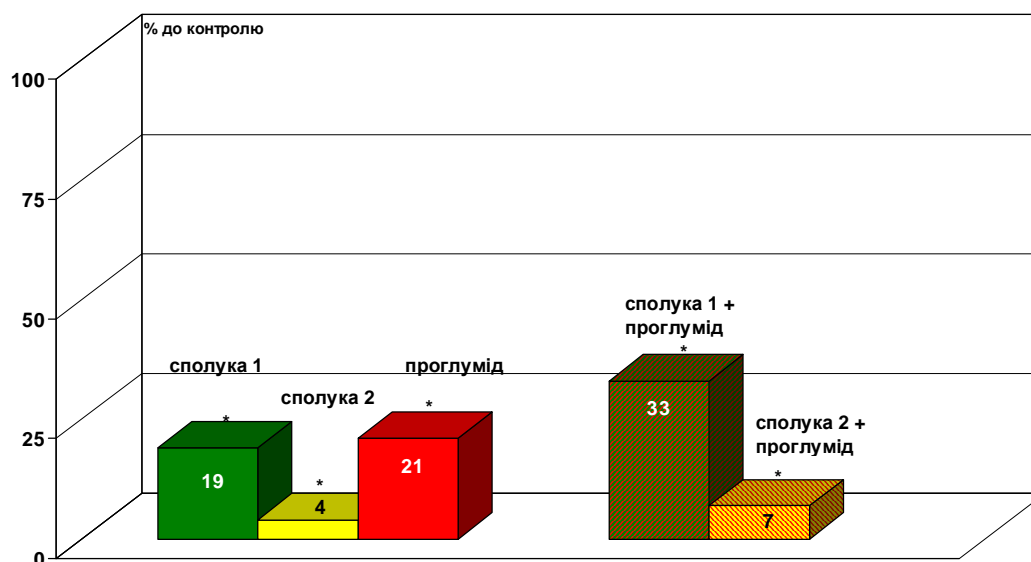


Рис. 2. Анорексигенна активність сполук 1, 2 (2 мг/кг) і проглуміду (10 мг/кг) при окремому та поєднаному введенні БАР з проглумідом (% споживання рідкої їжі щурами в дослідних групах відносно контролю) * – достовірність відносно контролю (P<0,05).

При поєднаному введенні проглуміду дозою 10 мг/кг та сполуки 1, яка також характеризується високою анорексигенною активністю, спостерігалось зниження апетиту щурів на 93 % порівняно з контрольною групою тварин.

Слід зазначити, що позитивна динаміка зі зни-

ження апетиту щурів у дослідних групах спостерігалась протягом усього часу (180 хв) проведення експерименту (рис. 3).

Отримані експериментальні дані дають можливість вперше встановити, що у механізмі анорексигенної дії досліджуваних сполук класу

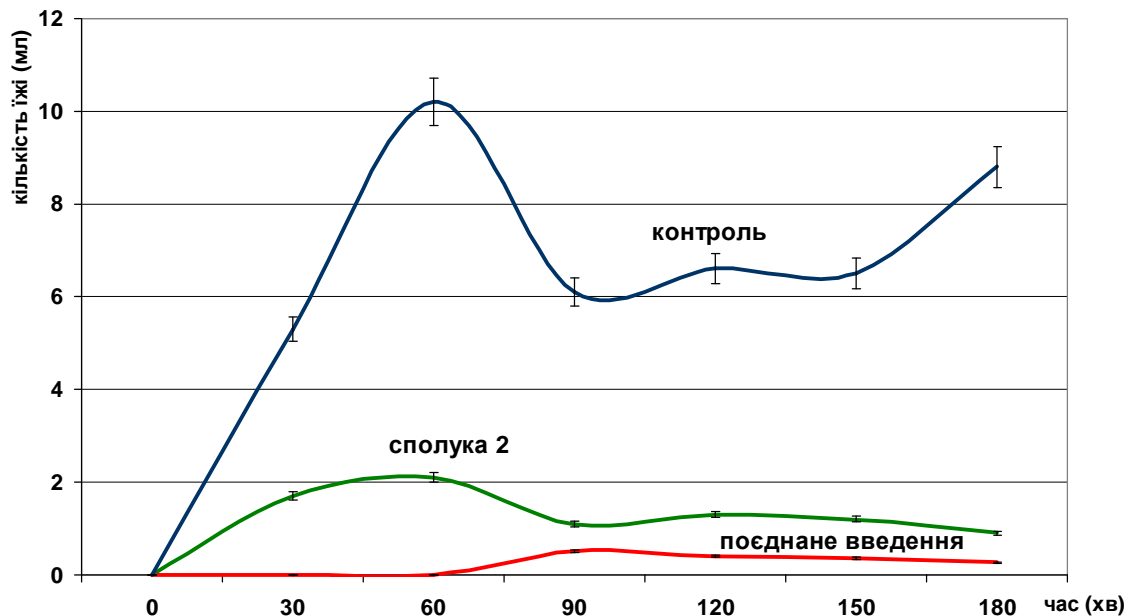


Рис. 3. Динаміка споживання рідкої їжі щурами протягом 180 хв при введенні сполуки 2 та при її поєднаному введенні з проглумідом (достовірність відносно контролю при $P < 0,05$).

3-заміщених 1,4-бенздіазепінів бере участь холецистокінінергічна система. Враховуючи попередні дослідження, отримані результати про високу особисту анорексигенну активність даних речовин, а також синергічний ефект у зниженні апетиту з блокаторм ССК-рецепторів проглумідом, можливо зробити висновок про те, що похідні 7-бром-5-арил-3-ариліден(гетераліден)-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-онів є прямими антагоністами периферійних ССК₂-рецепторів, які безпосередньо беруть участь у процесах регуляції харчової поведінки [8].

Як відомо, існуючи два підтипи ССК-рецепторів, локалізовані як у центральній нервовій системі – ССК₁, так на периферії (у шлунку) – ССК₂. Дані літератури останніх років свідчать про те, що сполуки класу 1,4-бенздіазепінів здатні зв'язуватися з обома підтипами ССК-рецепторів, одночасно блокуючи один підтип та активуючи інший [9]. В експериментальних дослідженнях агоністи центральних ССК₁-рецепторів проявляють високу антидепресивну активність, інкубують відчуття насичення, а також поліпшують когнітивні функції. В свою чергу, антагоністи ССК₁-рецепторів негативно впливають на пам'

ять та здатність до навчання, індукують панічні напади, сприяють розвитку депресивних станів [7, 12]. Аналіз отриманих нами раніше дані щодо вивчення спектра нейрофармакологічної активності похідних у зазначеному ряду (підвищення рухової активності, висока антидепресивна активність, позитивний вплив на когнітивні функції та зниження апетиту) дає змогу зробити припущення, що досліджені сполуки є одночасно агоністами центральних ССК₁- та антагоністами периферійних ССК₂-рецепторів.

Висновки. 1. Вперше встановлено участь холецистокінінергічної системи у механізмі регуляції харчової поведінки щурів сполук ряду 7-бром-5-арил-3-ариліден(гетариліден)-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-онів.

2. Аналіз отриманих експериментальних даних дає можливість вперше показати, що досліджені сполуки класу 3-заміщених-1,4-бенздіазепінів є антагоністами ССК₂-рецепторів.

3. Вивчений нейрофармакологічний профіль зазначеного ряду сполук свідчить про те, що дані речовини одночасно є лігандами як центральних ССК₁-, так і периферійних ССК₂-рецепторів, різняться направленістю взаємодії з ними.

Література

1. Лиганды холецистокининовых рецепторов как потенциальные терапевтические средства / С. А. Андронати, Т. Л. Карасева, В. С. Битенский, К. С. Андронати // Вісник психічного здоров'я. – 2002. – № 1–2. – С. 39–51.
2. Молекулярные мишени новых производных 1,4-бензодиазепин-2-она, влияющих на аппетит животных / С. Ю. Макан, Н. А. Ткачук, В. М. Корхов [и др.] // Хим.-фарм. журн. – 2005. – Т. 39, № 6. – С. 19–21.
3. Проскурякова Т. Б. Роль холецистокининовой системы в регуляции состояния тревоги / Т. Б. Проскурякова // Росс. психиатрич. журн. – 2000. – Т. 1, № 1. – С. 61–65.
4. Синтез и фармакологические свойства производных 3-амино-1,2-дигидро-3Н-1,4-бензодиазепин-2-она / К. С. Андронати, Т. Л. Карасева, К. А. Костенко, С. А. Андронати // Хим.-фарм. журн. – 2002. – Т. 36, № 7. – С. 34–37.
5. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – 2-е издание, перераб. и доп. / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко. – К. : Морион, 2001. – 408 с.
6. Зайчик А. Ш. Основы патохимии / А. Ш. Зайчик, Л. П. Чурилов. – СПб. : ЭЛБИ-СПб, 2001. – Т. 2. – С. 184–187.
7. Behavioral profile of CCK₂-receptor-deficient mice / V. Daug, A. Sebret, F. Beslot [et al.] // europsychopharmacology. – 2001. – № 25(5). – P. 690–698.
8. CCK₁- and CCK₂-receptors are expressed on pancreatic stellate cells and induce collagen production / M. J. Berna, O. Seiz, J. F. Nast [et al.] // J. Biol. Chem. – 2010. – № 283(46). – P. 157–169.
9. Novel achiral 1,3,4-benzotriazepine analogues of 1,4-benzodiazepine-based CCK₂ antagonists that display high selectivity over CCK₁ receptors. / M. Iain McDonald, Carol Austine, Ildiko M. Buck [et al.] // J. Med. Chem. – 2006. – № 49. – P. 2253–2261.
10. Modification of receptor selectivity and functional activity in cholecystokinin peptide ligands / M. Dezube, E.E. Sugg, L.S. Birkermo [et al.] // J. Med.Chem. – 1995. – Vol. 38. – P. 3384–3390.
11. Synthesis of Substituted 3-anilino-5-phenyl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepine-2-ones and their evaluation as cholecystokinin-ligands / Offel M., Lattmann P., Singh H. [et al.] // Arch. Pharm. Chem. Life Sci. – 2006. – № 339. – P. 163–173.
12. Gipinar M.A. The physiology of learning and memory: role of peptides and stress / M. A. Gipinar, B. C. Yegen // Curr. Protein. Pept. Sci. – 2004, №5(6). – P. 457–473.

УЧАСТИЕ ХОЛЕЦИСТОКИНИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ В МЕХАНИЗМЕ АНОРЕКСИГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ЦИС-3-АРИЛИДЕН(ГЕТАРИЛИДЕН)- 1,4-БЕНЗДИАЗЕПИН-2-ОНОВ

А. А. Казакова, В. В. Годован

Одесский национальный медицинский университет

Резюме: как известно, в процессах регуляции пищевого поведения принимает участие рецепторная система холецистокинина (ССК). Проведенные исследования по изучению одного из возможных механизмов анорексигенного действия соединений ряда цис-3-арилиден(гетарилиден)-1,4-бензодиазепин-2-онов свидетельствуют о том, что снижение аппетита крыс на фоне их введения происходит при участии ССК-рецепторов, а именно подтипа ССК₂. Анализ полученных экспериментальных данных о спектре нейрофармакологической активности изученных соединений дает основания сделать вывод, что соединения данного ряда являются одновременно лигандами обоих подтипов ССК-рецепторов, различаясь направленностью взаимодействия с ними.

Ключевые слова: производные цис-3-арилиден(гетарилиден)-1,4-бензодиазепин-2-онов, холецистокининовые рецепторы, механизмы анорексигенного действия.

ACCEPTION OF CCK-RECEPTOR SYSTEM IN ANOREXIC MECHANISM OF CIS-3-ARILIDENE (GETARILIDEN) - 1,4-BENZODIAZEPINE-2-ONES

A. A. Kazakova, V. V. Hordon

Odessa National Medical University

Summary: as known the CCK-receptors takes part in the processes of adjusting of food behaviour. Conducted experiment on the study of one of possible mechanisms of anorexic action derivatives novel cis-3-ariliden(hetariliden)-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2-ones testify that decline of rats appetite at their introduction takes part CCK-receptors, namely CCK₂. The analysis of the experimental data about the spectrum of pharmacology activity noted derivatives grounds to draw conclusion that, these derivatives are simultaneously the ligands of both CCK-receptors, differentiating in fastening direction.

Key words: derivatives of cis-3-ariliden(hetariliden)-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2-ones, cholecystokinin-receptors, mechanisms of anorexic action.