



УДК 547.89:615.31

СВЯЗЬ МЕЖДУ СТРУКТУРОЙ, СРОДСТВОМ
К БЕНЗДИАЗЕПИНОВОМУ РЕЦЕПТОРУ И СВОЙСТВАМИ
5-ГАЛОГЕНОФЕНИЛ-1,2-ДИГИДРО-3H-1,4-
БЕНЗДИАЗЕПИН-2-ОНОВ

Андронати С. А., Чепелев В. М., Якубовская Л. Н.

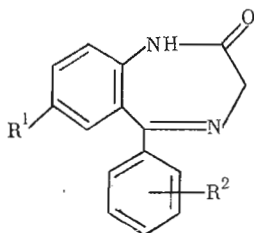
Физико-химический институт Академии наук УССР, Одесса

Вальдман А. В., Воронина Т. А., Рожанец В. В.,
Жулин В. В., Коротков К. О.

Научно-исследовательский институт фармакологии Академии наук СССР, Москва

Константы ингибирования 7-бром-5-галогенофенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепинами специфического связывания [³H] диазепам с бенздиазепиновым рецептором изменяются симбатно с коэффициентами молярного поглощения длинноволнового максимума УФ-поглощения и основностью этих веществ, а также коррелируют с их активностью по тестам антагонизма с коразолом, усиления тексеналового сна и нарушения ориентировочных рефлексов. Высказано предположение о том, что сродство к бенздиазепиновым рецепторам определяет анксиолитический, гипнosedативный и антикоразоловый эффекты бенздиазепинов и в меньшей степени их противосудорожный и миорелаксантиный эффекты.

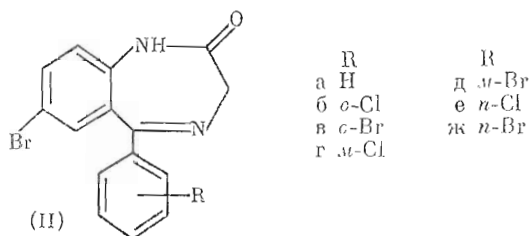
Известно, что активность 5-галогенофенил-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-ионов (I) по различным тестам снижается при переходе от *o*-к *m*- и *p*-изомерам, причем это снижение активности наиболее выражено для фтор-, в меньшей степени — для хлор- и в еще меньшей — для бром-производных [1, 2].



(I) R¹ и R² = Br или Cl

Показано, также, что наиболее активные транквилизаторы, снотворные и противосудорожные средства — производные, содержащие в положении 5 фенил, *o*-галогенфенильные и некоторые гетероциклические заместители [3]; соединения же, содержащие в положении 5 метильную группу, по-видимому, являются их антагонистами [4]. Различия в метаболизме и фармакокинетике 1,4-бенздиазепинов типа (I), по-видимому, не могут оказывать решающего влияния на их психофармакологические свойства, и главную роль играет их сродство к рецепторам [1, 3]. Механизм действия 1,4-бенздиазепинов до сих пор изучен недостаточно. Недавно в мозгу человека и животных обнаружены высокоспецифические рецепторы бенздиазепинов [5–7], которые связаны, вероятно, с ГАМК-рецепторами и хлорными каналами [7]. Настоящее исследование посвящено комплексному изучению физико-химических, фармакологических свойств и сродства к рецептору производных бенздиазепина (II) с последовательным и постепенным изменением структуры, приводящим к закономерному измене-

пию свойств веществ.



В таблице представлены физико-химические и фармакологические свойства соединений (II), а также величины констант ингибирования ими, K_1 , связывания диазепама с его рецепторами. Наибольшей растворимостью в воде обладают *o*-изомеры (IIб) и (IIв). Менее растворим не замещенный в фенильном ядре аналог (IIа), еще менее растворимы *m*- и *n*-изомеры (IIг) — (IIж). Коэффициент молярного поглощения длинноволнового максимума поглощения в электронных спектрах веществ (II) ($\lambda_{\text{макс}}$ 317 нм, $n-\pi^*$ -переход) возрастает при переходе от *o*- к *m*- и далее к *n*-изомерам. Для коротковолнового максимума ($\lambda_{\text{макс}}$ 230 нм), отвечающего $\pi-\pi^*$ -переходам ароматических колец, каких-либо закономерностей в изменении величины ϵ не наблюдается. В соответствии с электронной природой и положением заместителей в фенильном ядре происходит изменение основности и способности к полярнографическому восстановлению соединений (II). Основность соединений увеличивается в ряду: (IIб) < (IIв) < (IIг) \leq \leq (IIд) < (IIж) < (IIе) < (IIа). Отрицательные значения потенциалов полуволны полярнографического восстановления уменьшаются в ряду: (IIб) \geq \geq (IIв) > (IIа) > (IIе) \geq (IIж) > (IIг) > (IIд). Липофильность веществ, оцениваемая величинами логарифмов коэффициентов распределения в системе октанол — вода, увеличивается при переходе от незамещенного аналога к *o*-галогенпроизводным и далее к *m*- и *n*-изомерам (IIв) — (IIж).

Сродство к бензодиазепиновому рецептору соединения (IIа) и его *o*-галогенфенильных аналогов (IIб) и (IIв) одного порядка; при переходе же к *m*- и *n*-изомерам отмечается его резкое уменьшение: константы ингибирования возрастают на порядок для *m*-изомеров и на три порядка для *n*-изомеров. Сопоставляя значения K_1 веществ (II) с их физико-химическими характеристиками, можно отметить симбатность изменения величины K_1 , длинноволнового максимума и основности.

Активность веществ (II), как отмечалось выше, находится в зависимости от положения галогена в фенильном ядре. Так, анксиолитическая активность (уменьшение эмоциональной напряженности и страха), выявляемая по методике конфликтной ситуации, уменьшается при переходе от *o*- к *m*- и *n*-изомерам. Эта закономерность прослеживается и при изучении других проявлений биологического действия веществ, (таблица). Так, анализ связи между величинами ED_{50} и K_1 соединений (II) позволил установить удовлетворительные корреляции показателей сродства веществ к рецепторам с их активностью по тестам антагонизма с коразолом, усиления гексеналового сна и нарушения ориентировочных рефлексов (рис. 1).

Существенно ниже степень корреляции противосудорожной (тест максимального электрошока) и миорелаксантной (тест нарушения координации движений) активности соединений с величинами K_1 . Коэффициенты корреляции в этом случае равны соответственно 0,64 ($t < 0,90$) и 0,56 ($t < 0,90$).

Таким образом, выполненные исследования позволяют заключить, что сродство соединений (II) к бензодиазепиновому рецептору имеет значение не для всех проявлений действия бензодиазепинов. Можно предположить, что степенью сродства к рецептору определяются анксиолитический, гипноседативный и антикоразоловый эффекты бензодиазепинов, тогда как для реализации противосудорожного и миорелаксантного проявлений действия этот показатель имеет меньшее значение.

Свойства 7-Бром-5-галогенофенил-1,2-дигидро-5Н-1,4-бенздиазепин-2-онов *

Соединение	Растворимость в воде, мкМ	рКВ	—(1/2), мВ	lg P	ε, Д ⁻¹ ·см ⁻¹ при λ ₂ , нм		IC ₅₀ , нМ	K ₁ , нМ	фармакологическая активность (ED ₅₀ , мг/кг) в опытах на мышах				
					317	230			антагонизм с кофазолом	усиление гексеналового сна	нарушение ориентировочных рефлексов	максимальный электроток	нарушение координации движений
(IIa)	0,97	11,19±0,02	895±5	3,11±0,01	2500	39 800	4,0	3,4	0,11	0,1	4,5	17	4,6
(IIб)	2,49	12,31±0,05	936±5	3,30±0,01	1900	36 130	2,5	2,1	0,037	0,062	1,05	40,2	2,1
(IIв)	1,29	12,15±0,05	929±5	3,30±0,01	2000	38 500	3,0	2,5	0,05	0,2	5,4	6,0	7,5
(IIг)	0,60	12,06±0,03	860±5	3,63±0,01	2140	35 360	63,0	53,0	7,5	4,5	—	60,0	23,0
(IIд)	0,66	12,01±0,05	837±5	3,88±0,01	2080	38 590	70,0	59,0	12,1	6,0	10,0	—	20,0
(IIе)	0,35	11,62±0,02	878±5	3,78±0,01	2800	40 000	7500,0	7400,0	12,8	4,7	10,0	50,0	6,8
(IIж)	0,63	11,85±0,03	873±5	4,08±0,01	2550	38 150	6300,0	5320,0	26,0	30,0	19,0	20,0	30,0

* Ф_{1/2} — потенциал полуовальной полиграфической восстановления; P — коэффициент распределения в системе и-октанол — вода; ED₅₀ — эффективная доза.

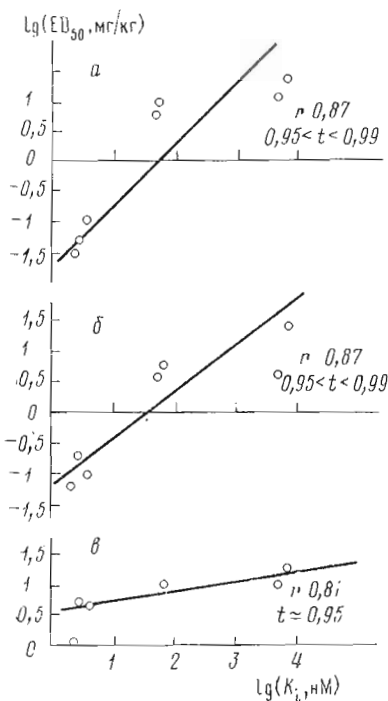


Рис. 1

Рис. 1. Корреляция между фармакологической активностью производных 7-бром-5-галогенофенил-1,2-дигидро-3*H*-1,4-бенздиазепинов и их связыванием с бенздиазепиновыми рецепторами: *a* – антагонизм с коразолом, *б* – потенцирование гексенала; *в* – нарушение ориентировочных рефлексов (*r* – коэффициент корреляции, *t* – критерий Стьюдента)

Рис. 2. Кривые ингибирования 5-галогенофенил-1,4-бенздиазепин-2-онами (IIа)–(IIе) специфического связывания [³H]диазепама с синаптическими мембранами

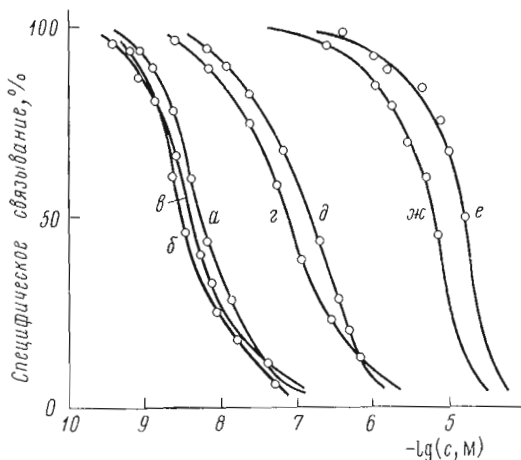


Рис. 2

Экспериментальная часть

В работе использовались соединения (II), полученные ранее описанным способом [2], меченный тритием диазепам (уд. акт. 94 Ки/моль, Amersham, Англия). Синаптические мембраны (фракцию P₂) выделяли из мозга крыс по методике, описанной в работе [8]. Содержание белка в суспензиях мембран, определенное по методу [9], составляло 0,9–1,0 мг/кг. Концентрации соединений (II) определяли спектрофотометрически на спектрометре Beckman acta VM-1 (США).

Сродство к рецептору соединений (II) оценивали по константам ингибирования ими, K_i, специфического связывания [³H]диазепама с бенздиазепиновым рецептором. Кривые ингибирования специфического связывания [³H]диазепама с синаптическими мембранами соединениями (II) представлены на рис. 2. Максимальное связывание [³H]диазепама с синаптическими мембранами составляло 2,5 нмоль/мг белка.

Радиоактивность образцов определяли с помощью сцинтилляционного счетчика Beckman 9000 (США) в системе Unisolv 100 (Koch-Light, Англия). Эффективность связывания [³H]диазепама в отсутствие конкурирующего агента составляла около 10% его общего количества в пробе. Неспецифическое связывание [³H]диазепама составляло в среднем 26%. Константы ингибирования находили по формуле

$$K_i = IC_{50} / \left(1 + \frac{c_L}{K_L} \right),$$

где IC₅₀ – концентрация соединений (II), при которой в состоянии равновесия лиганд занимает половину максимально возможного количества мест связывания; c_L – концентрация [³H]диазепама в инкубационной среде; K_L – константа диссоциации комплекса [³H]диазепама с рецептором. Величины c_L и K_L соответственно были равны 0,9 и 6,7 нМ.

Фармакологические исследования проводили в опытах на белых мышках-самцах (18–22 г) и крысах-самцах (180–250 г). Для оценки анксио-

литической активности была использована методика конфликтной ситуации у крыс [10], для изучения гипноседативных свойств использовали методику ориентировочных рефлексов и усиления гексеналового сна у мышей, противосудорожную активность оценивали по предупреждению максимального электросудорожного припадка, миорелаксантные эффекты — по нарушению координации движений в тесте вращающегося стержня (мышцы). Кроме того, использовалась методика антагонизма с коразолом у мышей как тест, наиболее чувствительный к действию бензодиазепинов. Описание методики приведено в работе [11]. Статистическая обработка результатов проводилась по методу пробит-анализа [12] и вычислением средних арифметических значений [13].

Авторы выражают глубокую признательность акад. Ю. А. Овчинникову за предоставленную им возможность выполнения радиорецепторных экспериментов в Институте биоорганической химии им. М. М. Шемякина АН СССР и ценные рекомендации, высказанные при постановке исследования и обсуждении его результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Benzodiazepines / Eds. Garattini S., Mussini E., Randall L. N. Y.: Raven Press, 1973.
2. Богатский А. В., Андронати С. А., Вилляев Ю. И., Воронина Т. А., Якубовская Л. Н., Бенько А. В. Хим.-фармацевт. ж., 1977, № 11, с. 85–91.
3. Богатский А. В., Андронати С. А., Головенко Н. Я. Транквилизаторы. 1,4-Бензодиазепины и родственные структуры. Киев: Наукова думка, 1980.
4. Schlosser W., Franco S. J. Pharmacol. and Exp. Ther., 1979, v. 211, № 2, p. 290–295.
5. Squires R. F., Braestrup C. Nature, 1977, v. 266, p. 266–268.
6. Möhler H., Okada T. Science, 1977, v. 198, p. 849–852.
7. Braestrup C., Nielsen M. Arzneimittel-Forsch. Drug Res., 1980, v. 30, № 1, p. 852–857.
8. Möhler H., Okada T. Life Sci., 1978, v. 22, p. 985–996.
9. Hartree E. F. Anal Biochem., 1972, v. 48, p. 422.
10. Клыгуль Т. А., Кривошолов В. А. Фармакол. и токсикология, 1966, т. 29, № 2, с. 241–244.
11. Вилляев Ю. И., Богатский А. В., Клыгуль Т. А., Андронати С. А., Жилина З. И., Чумаченко Т. К. В сб.: Физиологически активные вещества / Ред. Пелькис П. С. Киев: Наукова думка, 1971, вып. 3, с. 265–279.
12. Litchfield J., Wilcoxon F. J. Pharmacol. and Exp. Ther., 1949, v. 96, p. 99–114.
13. Белецкий М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Рига, 1959, с. 9–28.

Поступила в редакцию
15.III.1983

THE RELATIONSHIP BETWEEN THE STRUCTURE, AFFINITY FOR BENZODIAZEPINE RECEPTOR AND PROPERTIES OF 5-HALOGENOPHENYL-1,2-DIHYDRO-3H-1,4-BENZODIAZEPINE-2-ONES

ANDRONATI S. A., CHEPELEV V. M., YAKUBOVSKAYA L. N.,
VALDMAN A. V., VORONINA T. A., ROZHANETS V. V.,
ZHULIN V. V., KOROTKOV K. O.

*Physico-Chemical Institute, Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Odessa,
Research Institute for Pharmacology, Academy of Medical Sciences
of the USSR, Moscow*

The inhibition constants of [³H]diazepam specific binding with benzodiazepine receptor by 7-bromo-5-halogenoprenyl-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepines change symbatically with molar extinctions of the longwave maxima in UV spectra, the basicity of these compounds and activity by the assays of antagonism with pentilentetrazol, the potentiation of hexenal sleep and disturbance of orientation reflexes. It has been suggested that anxiolytic, hypnosedative and antipentilentetrazol effects, and to lesser extent anticonvulsive and myorelaxant effects, of benzodiazepines and determined by affinity for benzodiazepine receptors.