

УДК 577.152.1

©Коллектив авторов

ВЛИЯНИЕ ОКИСЛЕННЫХ ИНДОЛОВ НА АКТИВНОСТЬ МОНОАМИНОКСИДАЗ МИТОХОНДРИЙ МОЗГА КРЫСЫ

М. Крумероль¹, М.-К. Торнейр¹, А. Кейн¹, А.Е.Медведев²

¹Лаборатория CRRET, CNRS FRE2412, Университет Парижа, Кретель, Франция

Эл. почта: crumeyroлле@univ-paris12.fr

²ТУ НИИ биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича РАМН, Погодинская ул. 10,

Эл. почта: medvedev@ibmh.msk.su

Исследовали влияние эндогенных окисленных производных индола (изатина и 5-окси-2-оксоиндола) на активность митохондриальных моноаминоксидаз (МАО) мозга крысы. Изатин селективно тормозил активность МАО Б, а 5-окси-2-оксоиндол - МАО А. Однако эффективность последнего была ниже, чем у синтетического аналога изатина - 5-оксиизатина.

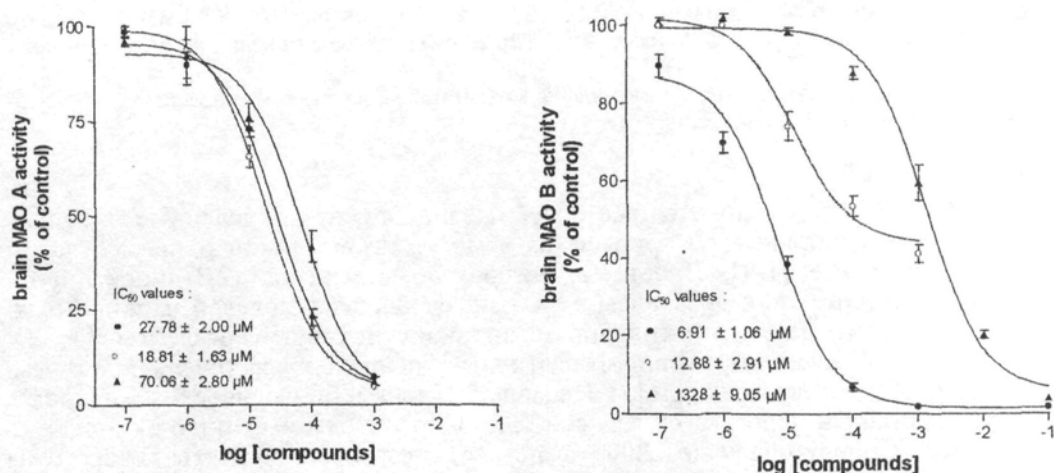
Ключевые слова: окисленные индолы, мозг, митохондрии, моноаминоксидаза, изатин, 5-окси-2-оксоиндол, 5-оксиизатин

ВВЕДЕНИЕ. Становится все более очевидным, что окисленные индолы - производные аминокислоты триптофана - могут играть важную регуляторную роль в организме [1-3]. Например, низкие дозы изатина (2,3-диоксоиндол) обладают анксиогенным действием в ряде поведенческих моделей на животных, высокие - оказывают седативный и антиконвульсивный эффекты [1, 3]. 2-Оксоиндол обладает выраженным седативным "нейродепрессорным" действием, а 5-оксииндол - конвульсивным [2]. Недавно в тканях и биологических жидкостях млекопитающих и человека обнаружен еще один окисленный индол - 5-окси-2-оксоиндол (Crumeyroлле и др., 2002, в печати), некоторые эффекты которого на культуры клеток *in vitro* сопоставимы с действием изатина [4]. Поскольку одной из основных (и наиболее изученных) мишеней изатина *in vitro* являются моноаминоксидазы (МАО) [1, 3] целью настоящей работы было сопоставление эффектов изатина, его 5-гидроксилированного аналога (5-оксиизатина) и 5-окси-2-оксоиндола на активность МАО А и Б митохондрий мозга.

МЕТОДИКА. Митохондрии мозга крысы выделяли как описано ранее [5]. Активность МАО А и Б определяли радиометрически, используя 100 мкМ [¹⁴C]5-окситриптамина креатинсульфат (серотонин) и 5 мкМ [¹⁴C]2-фенилэтиламина гидрохлорид, соответственно [6]. 5-окси-2-оксоиндол синтезировали как описано [7]. 5 -Оксиизатин, синтезированный Dr B.Goodwin (Queen Charlotte's and Chelsea Hospital, Лондон), был любезно предоставлен Prof. V.Glover (Imperial College, Лондон); изатин приобретен у фирмы "Sigma" (США). Радиоактивные субстраты были производства "Amersham" (Англия), остальные реактивы производства "Sigma". Исследуемые соединения (или эквивалентный объем растворителя) добавляли в среду определения активности МАО перед добавлением источника фермента (митохондрии мозга). Расчет значений IC₅₀ (концентрация, вызывающая 50%-торможение активности фермента) для 3-6 параллельных экспериментов

проводили при помощи программы GraphPad Prism 2.01 для Windows95 (GraphPad Software Inc, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. В соответствие с ранее полученными данными [8,9] изатин более селективно тормозил активность MAO Б (рис.): величина IC_{50} для торможения этого фермента была примерно в четыре раза ниже, чем для MAO А. 5-Окси-2-оксоиндол избирательно тормозил активность MAO А (IC_{50} $70,06 \pm 2,80$ мкМ); величина IC_{50} для ингибирования MAO Б была почти в двадцать раз выше ($1328 \pm 9,05$ мкМ). В отличие от предыдущих опытов, проведенных с использованием MAO А плаценты человека и MAO Б тромбоцитов человека [8], синтетический гидроскилированный аналог изатина - 5-оксиизатин - эффективно тормозил активность и MAO А и MAO Б митохондрий мозга крысы. При этом тенденция изменений ингибиторной эффективности этого производного по сравнению с изатином не противоречит данным предыдущих исследований: введение окси-группы в пятое положение приводило к двукратному увеличению $IC_{50MAO Б}$ (с $6,91 \pm 1,06$ мкМ у изатина до $12,88 \pm 2,91$ мкМ у 5-оксиизатина) и полутора кратному снижению $IC_{50MAO А}$ (с $27,78 \pm 2,00$ до $18,81 \pm 1,63$ мкМ) (рис.). Более слабое ингибирование активности MAO А и MAO Б 5-окси-2-оксоиндолом, очевидно, обусловлено отсутствием оксо-группы в третьем положении индольного кольца, которая играет важную роль в механизме торможения окисленными индолами активности и MAO А и MAO Б [8,9].



Рисунок

Влияние изатина (●), 5-оксиизатина (○) и 5-окси-2-оксоиндола (▲) на активность MAO А и MAO Б мозга крысы

Таким образом, влияние эндогенных окисленных индолов изатина и 5-окси-2-оксоиндола на активность MAO митохондрий мозга различно: первый избирательно тормозит активность MAO Б, второй - MAO А. Это позволяет предположить, что различие в поведенческих реакциях животных на введение изатина и 5-окси-2-оксоиндола (Сгумеуголле и др., неопубликованные данные), очевидно, обусловлено вовлечением различных биохимических механизмов, реализующих эффекты этих веществ.

Результаты получены при частичной финансовой поддержке РФФИ (грант №00-04-48446).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Medvedev A.E., Clow A., Sandler M., Glover V.* (1996) *Biochem. Pharmacol.*, **52**, 385-391.
2. *Carpenedo R., Carla V., Moneti G., Chiarugi A., Moroni F.* (1997) *Anal. Biochem.* **244**, 74-79.
3. *Sandler M., Medvedev A.E., Panova N.G., Matta S., Glover V.* (2000) In: *Milestones in monoamine oxidase research: discovery of (-)deprenyl* (K.Magyar and E.S.Visi eds.) *Meditcina Publishing House Co., Budapest*, pp. 237-251.
4. *Cane A., Tournaire M-C., Barritault D., Crumeyrolle-Arias M.* (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **276**, 379-384.
5. *Medvedev A.E., Rajgorodskaya D.I., Gorkin V.Z., Fedotova I.B., Semiokhina A.F.* (1992) *Mol. Chem. Neuropathol.*, **16**, 187-201.
6. *Glover V., Reveley M., Sandler M.* (1980) *Biochem. Pharmacol.*, **29**, 467-470.
7. *Beckett A.H., Morton D.M.* (1966) *Biochem. Pharmacol.*, **15**, 937-946
8. *Medvedev A.E., Goodwin B., Clow A., Halket J., Glover V.* (1992) *Biochem. Pharmacol.*, **44**, 590-592.
9. *Medvedev A.E., Ivanov A.S., Kamyshanskaya N.S., Kirkel A.Z., Moskvitina T.A., Gorkin V.Z., Li N.Y., Marshakov V.Yu.* (1995) *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **36**, 113-122.

Поступила 20.11.01

THE EFFECT OF SOME OXIDIZED INDOLES ON THE ACTIVITY OF RAT BRAIN MITOCHONDRIAL MONOAMINE OXIDASES

M. Crumeyrolle¹, M-C Tournaire¹, A. Cane¹, A. Medvedev²

¹CRRET Laboratory, CNRS FRE2412, Paris XII University, Creteil, France;

E-mail: crumeyrolle@univ-paris12.fr

²Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, E-

mail: medvedev@ibmh.msk.su

There is increasing evidence, that oxidized indoles, isatin, 5-hydroxyoxindole, 2-oxindole, play important regulatory functions in the brain. Isatin and 5-hydroxyoxindole share some common regulatory properties in cell cultures (Cane et al., 2000, BBRC, 276, 379), however, their effects on brain mitochondrial monoamine oxidases, a potential target for their action, have not been compared yet. Isatin acted as a rather selective monoamine oxidase B inhibitor, whereas 5-hydroxyoxindole was more selective monoamine oxidase A inhibitor, but it was less potent than that of 5-hydroxyisatin, a synthetic analogue of isatin.

Key words: oxidized indoles, brain, mitochondria, monoamine oxidase, isatin, 5-hydroxyoxindole, 5-hydroxyisatin