

БИОХИМИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК: 577.15/17:547.789 + 576.311.1:577.164.18:547.447.5

©Коллектив авторов

ПРОИЗВОДНЫЕ 2-АМИНО-2-ТИАЗОЛИНА - НОВЫЙ ХЕМОТИП, ОБЛАДАЮЩИЙ МУСКАРИНОПОДОБНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Ю.Я. Иванов, С.Е. Ткаченко, А.Н. Прошин, С.О. Бачурин

Институт физиологически активных веществ РАН,
142432, Черноголовка, Московская область; факс: (095)785-70-24

Впервые, в опытах на изолированной подвздошной кишке крысы обнаружена мускариномиметическая активность производных 2-амино-2-тиазолина, содержащих модифицированную метильную группу в 5-положении гетероциклического кольца. Активность существенно зависит от природы этого заместителя. Наибольшую спазмогенную эффективность, купируемую атропином, проявляет гидройодид 5-йодметил-2-аминотиазолина, который характеризуется практически таким же значением EC_{50} (13 ± 2 мкМ), как известный частичный агонист пилокарпин ($EC_{50} = 14 \pm 4$ мкМ), а также несколько большим, чем пилокарпин, показателем "внутренней активности" α ($0,87 \pm 0,12$). Это вещество подобно пилокарпину оказывает очень слабое никотиномиметическое спазмогенное действие на прямую мышцу живота лягушки ($EC_{50} > 1,0$ мМ, $\alpha < 0,1$).

Изученные соединения имеют невысокую антиацетилхолинэстеразную активность, которая не коррелирует с их мускариномиметической эффективностью (IC_{50} гидройодида 5-йодметил-2-аминотиазолина равна $0,39 \pm 0,09$ мМ).

Ключевые слова: производные 2-амино-2-тиазолина, изолированная подвздошная кишка крысы, мускариномиметическая активность.

ВВЕДЕНИЕ. Возросший в последнее время интерес к поиску новых веществ мускариномиметического действия обусловлен, в первую очередь, потребностью в препаратах для лечения болезни Альцгеймера [1-3]. Благодаря широкомасштабным исследованиям было найдено большое количество новых мускариномиметиков, представляющих самые разнообразные типы химических структур (хемотипов) [2]. В этой связи разработка новых анти-альцгеймеровских препаратов ведется в основном в ранее намеченных направлениях [1]. Однако по-прежнему остается исключительно перспективным поиск новых хемотипов, обладающих мускариномиметическим действием, в некоторых случаях первоначально представляющих только теоретический интерес.

С другой стороны, в ряду производных 2-амино-2-тиазолина известны соединения с самой разнообразной физиологической активностью [4], однако до сих пор не были найдены холинотропные лиганды.

В настоящей работе приведены результаты обнаруженной нами мускариномиметической активности производных 2-амино-2-тиазолина,

ПРОИЗВОДНЫЕ АМИНОТИАЗОЛИНА С МУСКАРИНОПОДОБНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

проявляющейся в том, что эти вещества вызывали сократительную реакцию гладких мышц, причем эта реакция купировалась атропином. Поскольку мускариномиметический эффект мог быть вызван ингибированием ацетилхолинэстеразы, представлялось необходимым оценить их способность ингибировать этот фермент. Кроме того, также представлялось необходимым оценить способность этого ряда веществ к никотиномиметическому действию.

МЕТОДИКА. Мускариномиметическую активность изучаемых соединений определяли в опытах на изолированной подвздошной кишке белых крыс обоего пола массой 120-180 г. Отрезки кишки длиной 1,0 - 1,5 см помещали в термостатируемую при 37°C 10-миллилитровую ванночку, содержащую аэрируемый карбоген (95% + 5% CO₂) раствор Тирде следующего состава (мМ): NaCl 136,9; KCl 2,68; CaCl₂ 0,9; MgCl₂ 1,05; NaHCO₃ 11,9; NaH₂PO₄ 0,42; глюкоза 5,55. После 30-минутного периода инкубации в раствор вводили холиномиметик в возрастающих количествах ("кумулятивное" повышение концентрации) до достижения максимального сократительного ответа. По графикам зависимости эффекта от логарифма концентрации М-агониста находили EC₅₀ и параметр α характеризующий его внутреннюю активность [5], который определяли как отношение амплитуды вызываемого им максимального сокращения к максимальному сокращению, вызываемому известным полным агонистом метилфурметидом.

Тестирование на никотиномиметическую активность проводили на препаратах прямой мышцы живота озерных лягушек, инкубируемых в аэрируемом воздухом растворе Рингера (комнатной температуры) следующего состава (мМ): NaCl 111,15; KCl 2,02; CaCl₂ 1,82; NaHCO₃ 2,38 и содержащего прозерин метилсульфат в концентрации 5 мкМ. За максимальное сокращение принимали сокращение, вызываемое 0,1 М KCl. Режим сокращений мышцы лягушки, как и отрезков кишки крысы, был изометрическим и регистрировался с помощью динографа R-612 фирмы "Beckman" (США).

Антихолинэстеразную эффективность оценивали *in vitro* по графически найденным концентрациям вещества, вызывающим ингибирование на 50% (IC₅₀) каталитической активности препарата ацетилхолинэстеразы (АХЭ, КФ 3.1.1.7) из эритроцитов человека с удельной активностью 2,2 Е/мг производства Пермского НИИ вакцин и сывороток. Скорость ферментативной реакции (субстрат ацетилхолин-йодид, 2 мМ) измеряли в среде 0,1 М KCl и 2 мМ фосфатного буфера при pH 7,5 и температуре 25°C методом потенциометрического титрования [6] с помощью автотитратора RTS822 фирмы "Radiometer" (Дания).

Исследуемые вещества получены стандартными методами синтеза производных 2-амино-2-тиазолина [4,7], получение 2-амино-5-гидроксиметил-2-тиазолина и его аналогов будет представлено в отдельной публикации.

Статистическую обработку данных проводили с вычислением средней арифметической и стандартной ошибки [8].

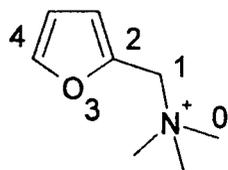
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Из представленных в таблице результатов можно видеть, что соль и основание 2-аминотиазолин оказывают очень слабое спазмогенное действие на кишку ($\alpha < 0,05$) и лишь в высоких концентрациях (EC₅₀ > 0,5 мМ). Однако спазмогенная активность данного хемотипа резко повысилась при введении в 5-положение кольца молекулы 2-аминотиазолина модифицированной метильной группы. Так, у гидробромида 5-бромметил-2-аминотиазолина величина EC₅₀ в три раза меньше, а значение α в пять раз больше, чем у гидробромида 2-аминотиазолина. Примерно такое же изменение обоих параметров мускариномиметической активности произошло и при введении СН₂ОН-группы в 5-положение гетероцикла. Наибольшую спазмогенную эффективность проявил гидроидрид 5-иодметил-2-аминотиазолин, у которого величина EC₅₀ такая же как у пилокарпина и несколько более высокий показатель α (0,87±0,12), характеризующий его внутреннюю активность все-таки как частичного агониста. Атропин (0,05 мкМ) купировал сокращения, вызываемые

2-аминотиазолином и его аналогами. Это указывает на М-холиномиметический механизм их спазмогенного действия, поскольку сократительная реакция не могла быть следствием возбуждения никотиновых рецепторов нейронов парасимпатических интрамуральных ганглиев, иннервирующих гладкомышечные клетки. Дело в том, что кишка крыс резистентна к никотину [5], в чем убедились и мы, проверяя действие этого алкалоида на препарат в концентрациях от 2,5 до 130 мкМ.

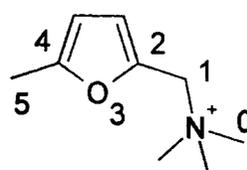
С большой долей вероятности можно констатировать и то, что эти вещества являются агонистами прямого действия на мускариновые холинорецепторы, а не опосредованного через эндогенный ацетилхолин. На это указывает отсутствие корреляции ($r = -0,187$) между их М-холиномиметической и антиацетилхолинэстеразной активностью. Если бы причиной их мускарино-миметической эффективности было ингибирование АХЭ, то самым сильным миметиком был бы 2-амино-2-тиазолин, а не гидроиодид 5-иодметил-2-аминотиазолина, так как его антиацетилхолинэстеразная активность в 14 раз больше, чем у указанного гидроиодида. Между тем, гидроиодид 5-иодметил-2-аминотиазолина проявляет, наоборот, значительно более выраженную спазмогенную активность по сравнению с 2-аминотиазолином (табл.).

На прямой мышце живота лягушек были протестированы три соединения: гидроиодид 5-иодметил-2-аминотиазолина, гидробромид 5-гидроксиметил-2-аминотиазолина и пилокарпина гидрохлорид. Все они на этом тест-объекте проявили очень слабое спазмогенное действие, характеризующееся величинами EC_{50} более 1,0 мМ, а также значениями параметра a менее 0,1.

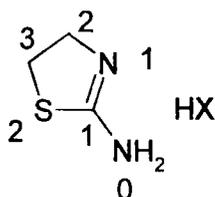
Способность агонистов возбуждать мускариновые рецепторы, как известно, зависит от наличия в их молекуле определенных химических групп и их пространственного расположения. Важную роль играет также длина молекулы агониста. Почти все М-агонисты содержат цепь из 5 атомов, считая от атома азота, что уже давно сформулировано как "правило 5 атомов" [9] и нашло подтверждение при изучении многих серий агонистов [10,11]. Закономерность эта, по-видимому, проявляет себя и в ряду исследованных нами соединений. Так, 2-амино-2-тиазолин имеет очень невысокую мускариномиметическую активность, но она выше у его 5-метил-производных, то есть повышается при удлинении цепи до пяти атомов (при введении иодметильной группы она возрастает более чем в 38 раз). Подобное явление наблюдается, например, при модификации фурметида в метилфурметид: активность последнего выше чем у неметилированного аналога в 35 раз [11]. Очевидно, обнаруженная реализация "правила 5 атомов" является частным случаем широко распространенного явления биоизостеризма [12].



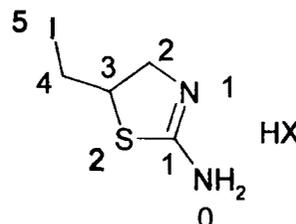
Фурметид
Малоактивен



Метилфурметид
Высокоэффективный М-агонист



Малоактивен



Эффективный М-агонист
Новый хемотип

ПРОИЗВОДНЫЕ АМИНОТИАЗОЛИНА С МУСКАРИНОПОДОБНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Таким образом, в настоящей работе впервые показана мускариномиметическая активность производных 2-аминотиазолина, которая ранее не считалась свойственной гетероциклическим аналогам изотиомочевины. Обусловлена она, вероятнее всего, взаимодействием этих веществ с М3-подтипом холинорецепторов, поскольку этот подтип преобладает в гладких мышцах [13]. Для решения вопроса об их возможной подтипной рецепторной селективности, необходимы дополнительные исследования.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Кузнецов С.Г., Рамш С.М., Змывалова А.Г. (1995) Хим.фарм. журн., **29**, 3-13.
- 2 Felder C.C., Bymaster F.P., DeLapp N.J. (2000) J. Med. Chem., **43**, 4333-4353.
- 3 Бачурин С.О. (2001) Вопр. мед. химии, **47**, 155-197.
- 4 Толди Л.Г. (1978) Химия гетероциклических соединений, № 7, 878-888.
- 5 Van Rossum J.M. (1963) Arch. Int. Pharmacodyn., **143**, 299-330.
- 6 Яковлев В.А. (1965) Кинетика ферментативного катализа. М., Наука.
- 7 Ткаченко С.Е., Пушкин А.Н., Федосеев В.М. (1987) Ж. Общ. Хим., **57**, 2400-2401.
- 8 Беленький М.Л. (1963) Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л., Медицинская литература.
- 9 Ing H.R. (1949) Science, **109**, 246-266.
- 10 Михельсон М.Я., Зеймаль Э.В. (1970) Ацетилхолин. Л., Наука.
- 11 Зеймаль Э.В., Шелковников С.А. (1989) Мускариновые холинорецепторы.
- 12 Patani G., LaVoie E. (1996). Chem. Rev., **96**, 3147-3176
- 13 Caulfield M.P. Birdsall N.J.M. (1998) Pharmacol. Rev. **50**, 279-290.

Поступила 29.11.01

DERIVATIVES OF 2-AMINO-2-THIAZOLINE - NOVEL CHEMOTYPE WITH MUSCARINOMIMETIC ACTIVITY

Yu. Ya. Ivanov, S.E. Tkachenko, A.N. Proshin, S.O. Bachurin

Institute of Physiologically Active Compounds Russ. Acad. Sci.
Russia, 142432, Chernogolovka, Moscow region.
tel.: (095)785-70-24; fax.: (095)785-70-24

Derivatives of 2-amino-2-thiazoline exhibit muscarinomimetic properties in model experiments with isolated rat ileum. The activity of compounds strongly depends on the nature of substituents in 5-position of thiazoline ring. The most active spasmogenic compound is 5-iodomethyl-2-amino-2-thiazoline hydroiodide ($EC_{50} = 13 \pm 2 \mu M$). Its effect is very similar to activity of cholinergic agent pilocarpine ($EC_{50} = 14 \pm 4 \mu M$), but "intrinsic activity" parameter α ($\alpha = 0.87 \pm 0.12$) of 5-iodomethyl-2-amino-2-thiazoline was more significant. Ileum contractions induced by this compounds were inhibited by atropine. Derivatives of 2-amino-2-thiazoline (like pilocarpine) were not demonstrated nicotinomimetic properties. These compounds demonstrate very weak anti-AChE activity. For 5-iodomethyl-2-amino-2-thiazoline hydroiodide the IC_{50} value is 0.39 ± 0.09 mM.

Key words: 2-amino-2-thiazoline, isolated rat ileum, muscarinomimetic activity