

Експериментальне визначення кореляції «структура — протисудомна активність» в ряду похідних 1-бензил-1,2,3-триазол(1H)- 4,5-дикарбонової кислоти

Л.О.Перехода, В.А.Георгіянц

Національний фармацевтичний університет, кафедра медичної хімії, кафедра фармацевтичної хімії
Харків, Україна

Проведено фармакологічні дослідження протисудомної активності раніше синтезованих похідних 1-бензил-1,2,3-триазол(1H)-4,5-дикарбонової кислоти на моделі аудіогенних судом у щурів. Усі похідні 1-бензил-1,2,3-триазол(1H)-4,5-дикарбонової кислоти мають протисудомну дію. За допомогою програми ACD/Labs було розраховано фізико-хімічні параметри молекул досліджуваних речовин. Отримані результати та показник середньої тяжкості судомної реакції були піддані кореляційному аналізу. Встановлено, що найбільш значущими для прояву протисудомної активності в даній групі сполук є кореляції з молекулярною масою та поверхневим натягом.

Ключові слова: 1,2,3-триазол, фізико-хімічні параметри, протисудомна активність, кореляція.

ВСТУП

Загально відомо, що хімічна будова не є єдиним чинником, що впливає на фармакологічну активність лікарської речовини. Якщо навіть синтезована оптимальна хімічна структура, важливо, щоб потенційний лікарський засіб міг бути перенесений до місця дії і поставлений в умови, необхідні для взаємодії з біологічним субстратом. Необхідною умовою біологічної відповіді організму на дану речовину є наявність у неї певного комплексу фізичних і хімічних властивостей, що забезпечують її проникнення крізь ліпідний шар, транспорт, процеси адсорбції, іонізації, комплексоутворення, ме-

таболізму та ін. Загальноприйнятим каноном цілеспрямованого пошуку синтезованих лікарських засобів є використання кореляційного підходу [8]. Кореляційний підхід дозволяє отримувати регресійні рівняння, що володіють силою, яка передбачає фармакологічну активність. При цьому достовірність цих передбачень може бути а priori оцінена різними статистичними методами. Граничною альтернативою може служити використання в якості незалежних параметрів не чисто структурних описів органічних молекул, а тих або інших фізико-хімічних властивостей відповідних молекул, наприклад, гідрофобності, молекулярного об'єму тощо.

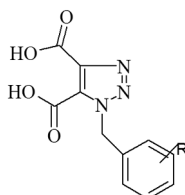
Метою дослідження було вивчити фізико-хімічні константи органічних молекул перспективних протисудомних речовин з метою виявлення можливих кореляцій та отримання регресійних рівнянь, що є необхідною передумовою для ефективного молекулярного дизайну і розроблення стратегії подальшого цілеспрямованого пошуку нових антиконвульсантів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проведено фармакологічні дослідження протисудомної активності раніше синтезованих похідних 1-бензил-1,2,3-триазол(1H)-4,5-дикарбонової кислоти [2-5]. Фармакологічному скринінгу передував прогноз активності за допомогою комп'ютерної програми PASS. Прогноз можливої активності показав високу вірогідність прояву синтезованими речовинами впливу на ЦНС (протиепілептична, агоніст ГАМК-рецепторів); індекси активності всіх синтезованих сполук знаходяться в інтервалі від 0,596 до 0,795 [9].

ТАБЛИЦЯ 1

Протисудомна активність похідних 1-бензил-1,2,3-триазол(1H)-4,5-дикарбонової кислоти загальної формули



Сполука		Тяжкість судомної реакції у балах при аудіогенних судомах на фоні введення речовин (А), через					
		0 годин	1 годину	2 години	4 години	6 годин	8 годин
Контроль		3,9±0,27	3,87±0,24	3,9±0,25	3,73±0,23	4,0±0	3,84±0,18
1	H	3,87±0,56	3,8±0,33	3,20±0,37	3,1±0,19	3,1±0,24	3,5±0,31
2	2-CH ₃	3,81±0,6	3,6±0,37	3,0±0,28	3,1±0,31	3,2±0,31	3,6±0,31
3	3-CH ₃	3,91±0,68	3,73±0,53	3,1±0,55	3,3±0,55	3,3±0,53	3,5±0,53
4	4-CH ₃	3,9±0,68	3,6±0,47	2,7±0,31*	2,8±0,28*	3,2±0,39	3,6±0,43
5	4-C ₂ H ₅	3,84±0,59	3,54±0,33	2,8±0,17*	2,6±0,19*	2,9±0,31*	3,5±0,33*
6	2-Cl	3,91±0,49	3,5±0,33	2,6±0,24	2,6±0,18	2,7±0,17	3,2±0,24
7	3-Cl	3,92±0,58	3,75±0,47	3,3±0,29	3,2±0,42	3,4±0,34	3,6±0,29
8	3-CF ₃	3,9±0,68	3,6±0,47	2,7±0,31*	2,8±0,28*	3,2±0,39	3,6±0,43
9	4-F	3,88±0,59	3,54±0,33	2,8±0,17*	2,4±0,19*	2,6±0,31*	3,3±0,33*
10	4-Br	3,86±0,59	3,54±0,33	2,8±0,17*	2,6±0,29*	2,9±0,37*	3,5±0,33*

Вивчення протисудомної активності проводили на базі кафедри фармакології Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна під керівництвом проф. Савченка В.М. Фармакологічний скринінг проводили на безпородних білих щурах масою 180-220 г (по 6 тварин у кожній групі), попередньо відібраних за рівнем судомної готовності, на моделі аудіогенних судом [6]. Відбір тварин здійснювали в металевій камері розміром 80x40x30 см з кришкою з прозорого оргскла. Як звуковий подразник використовували електричний дзвінок з тривалістю звучання 120 с. Гучність на рівні підлоги камери становила 96 дБ. Реакцію тварин оцінювали в балах за наступною шкалою:

0 балів — відсутність рухливого збудження та судомної реакції;

1 бал — здригання та незначна бігова реакція;

2 бали — висловлена бігова реакція з наступним падінням на бік та клонічними судомами;

3-4 бали — судомний напад з тонічним напруженням усієї мускулатури.

З тестованих тварин групи сформовані наступним чином: контрольна група — тварини з високим порогом аудіогенних судом (0 балів) та друга група — тварини з висловленою епілептиформною реакцією і, відповідно, високою аудіогенною судомною готовністю (3-4 бали).

Досліджувані речовини вводили внутрішньошлунково крізь зонд у вигляді тонкої водної суспензії, солюбілізованої твіном-80 за 30 хвилин до початку експерименту. Тваринам контрольної групи вводили ізотонічний розчин натрію хлориду [6]. Результати фармакологічного скринінгу наведені в табл. 1.

Проведені дослідження на тваринах підтвердили комп'ютерний прогноз і виявили наявність у синтезованих речовин протисудомних властивостей. За показником тяжкості судомної реакції майже всі сполуки мають протисудомну дію в порівнянні з контролем. До факторів, що позитивно впливають на прояв протисудомної активності в ряду похідних 1-бензил-1,2,3-триазол(1H)-4,5-дикарбонової кислоти, можна віднести: наявність трифторметильної групи у 3-му положенні та присутність хлору в 2-му положенні.

Для приведення тяжкості судомної активності, вивченої в умовах експерименту, до показників, що можна порівняти, нами була розрахована середня тяжкість судомної реакції ($A_{ср}$) для всіх синтезованих речовин. Отримані показники були прологарифмовані, та результати наведені в табл. 2. Наступним етапом було обчислення фізико-хімічних параметрів молекул похідних 1-бензил-1,2,3-триазол(1H)-4,5-дикарбонової кислоти комп'ютерним методом за допомогою

ТАБЛИЦЯ 2

**Фізико-хімічні властивості та середня важкість судомної реакції похідних
1-бензил-1,2,3-триазол(1H)-4,5-дикарбонової кислоти**

Сполука	Молекулярна маса, Мп	Молекулярна рефракція, см ³ ±0,5 Mref	Молярний об'єм, см ³ ± 7,0 Mv	Пара-хор, см ³ ± 8,0, P	Індекс рефракції±0,05 Iref	Поверхневий натяг дин/см ± 7,0, St	Густина, г/см ³ ± 0,1, D	Здатність до полярної заці, см ³ ± 0,5 * 10 ⁻²⁴ Polar	Ліпофільність logP	Середня важкість судомної реакції у балах A _{сер}	logA
1	246.21	62.26	167.3	470.2	1.666	62.3	1.47	24.68	-0.02	2.91	0.46
2	260.25	66.68	182.5	501.3	1.651	56.8	1.42	26.43	0.44	3.39	0.53
3	260.25	66.68	182.5	501.3	1.651	56.8	1.42	26.43	0.44	3.47	0.54
4	260.25	66.68	182.5	501.3	1.651	56.8	1.42	26.43	0.44	3.30	0.52
5	274.27	71.29	198.6	539.9	1.636	54.5	1.38	28.41	0.97	3.19	0.50
6	280.66	66.86	176.6	499.1	1.681	63.6	1.58	26.50	0.58	3.09	0.49
7	225.61	66.21	171.3	494.6	1.699	69.3	1.64	26.24	0.58	3.53	0.10
8	314.22	67.01	197.5	524.2	1.593	49.6	1.59	26.56	0.55	3.09	0.52
9	251.19	61.48	164.9	465.9	1.668	63.6	1.60	24.37	0.03	3.30	0.49
10	325.11	69.82	179.9	513.8	1.703	66.5	1.80	27.67	0.75	3.20	0.51

програми ACD/Labs [10]. Результати розрахунків також наведені в табл. 2.

Залежність тяжкості судомної реакції від параметрів молекулярної будови була розрахована нами за допомогою програми STATISTICA [1]. Середня важкість судомної реакції в балах A_{сер} та її логарифм співставлялись із середніми показниками фізико-хімічних параметрів кожної сполуки.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При статистичній обробці результатів медико-біологічних досліджень при аналізі вибірки довжиною в 10 випадків статистично достовірними вважаються показники коефіцієнта кореляції, більші за 0,426 (p ≤ 0,05) [7]. Аналіз даних статистичної обробки результатів свідчить про те, що не виявлено значних кореляцій показника середньої тяжкості судомної реакції з фізико-хімічними властивостями речовин. Логарифмування показника середньої тяжкості судомної реакції впливає на величину коефіцієнта кореляції, поліпшуючи отримані результати. Логарифм середньої важкості судомної реакції корелює з двома параметрами: молекулярною масою (коефіцієнт кореляції становить 0,53992 при p ≤ 0,05) (рис. 1) та поверхневим натягом (коефіцієнт кореляції становить 0,6370 при p ≤ 0,05) (рис. 2). Такі сполучення коефіцієнтів кореляції та показників значущості показують, що всі співвідношення є статистично

значущими; наведені графіки та їх математичні вирази залежності є достовірними [1].

За допомогою програми STATISTICA виявлено параболічний характер кореляційної залежності логарифму середньої судомної реакції від молекулярної маси та поверхневого натягу. Молекулярна маса — це параметр, що практично не залежить від температури, густини та агрегатного стану молекули, що робить його одним з найбільш перспективних.

Поверхневий натяг — найважливіша термодинамічна характеристика поверхні поділу фаз (тіл), яка визначається міжмолекулярними взаємодіями та структурою поверхневого шару. Поверхневий натяг є дуже важливим показником, оскільки від нього залежать такі фізико-хімічні величини, як капілярний тиск, крайовий кут змочування, адсорбція ПАР, стан адсорбційного шару, електрокапілярний ефект, довжина капілярних волокон та ін. Виходячи із цього, очевидно, що такі фармакокінетичні властивості, як ліпофільність, гідрофобність, розчинність, також прямо чи зворотно залежать у розчинах від поверхневого натягу, який має за основу некомпенсовану взаємодію між молекулами, що утворюють поверхневий шар. Густина рідини в цьому шарі менша, ніж усередині. Молекули поверхневого шару перебувають на більших відстанях одна від одної, ніж молекули всередині рідини, тому їх потенціальна енергія більша, ніж в інших молекул. Це призводить до появи збиткової вільної енергії у молекул поверхневого шару речовини, яка впливає не тільки на інші фізико-хімічні пара-

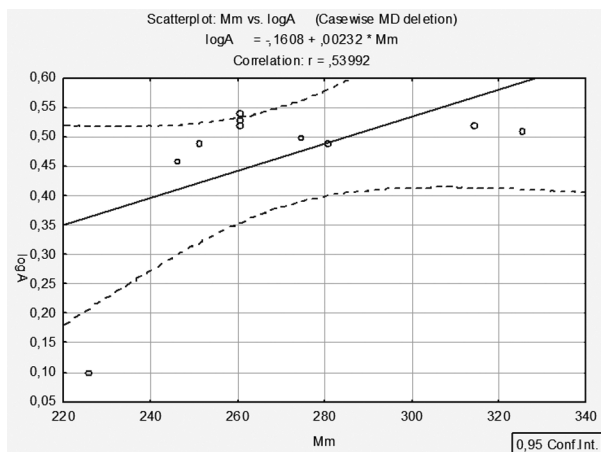


Рис. 1. Залежність логарифму середньої тяжкості судомної реакції від молекулярної маси в ряду похідних 1-бензил-1,2,3-триазол(1Н)-4,5-дикарбонової кислоти.

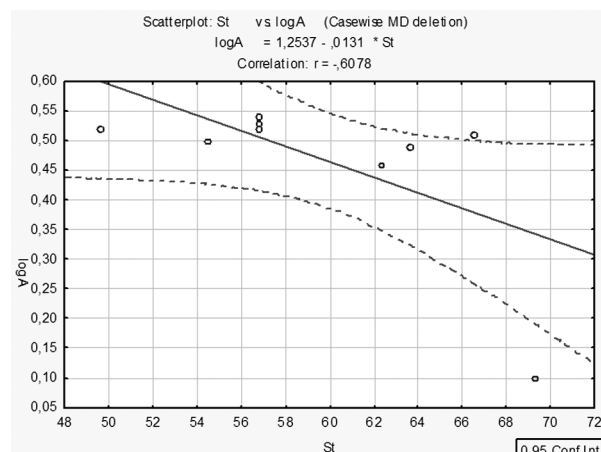


Рис. 2. Залежність логарифму середньої судомної реакції від поверхневого натягу в ряду похідних 1-бензил-1,2,3-триазол(1Н)-4,5-дикарбонової кислоти.

метри, а і на біологічну активність речовини в цілому. За даними літератури, вже встановлена кореляційна залежність між поверхневим натягом та наркотичною дією деяких речовин [10]. Існує багато методів для експериментального визначення поверхневого натягу, але оскільки цей показник є дуже чутливим до присутності навіть найменшої кількості домішок, то вимірювання за допомогою різних методів дають дуже різні результати. Ось чому ми вважаємо, що розрахунковий метод визначення поверхневого натягу є більш простим та оптимальним, оскільки використовує адитивний метод і не вимагає додаткової апаратури, а також дозволяє розрахувати показник для речовин, які ще не синтезовані.

На жаль, у досліджуваному ряду сполук рівень кореляції є невисоким, що значною мірою знижує прогностичність названих кореляційних співвідношень [1].

ВИСНОВКИ

Проведені дослідження на тваринах підтвердили комп'ютерний прогноз і виявили наявність у синтезованих речовин протисудомних властивостей на моделі аудіогенних судом. Розраховано фізико-хімічні параметри та проведено кореляційний аналіз з метою виявлення залежності величини середньої судомної реакції від фізико-хімічних властивостей у групі похідних 1-бензил-1,2,3-триазол(1Н)-4,5-дикарбонової кислоти. Встановлено, що найбільш значущими показниками для прояву протисудомної активності в досліджуваній групі є молекулярна маса та поверхневий натяг.

ЛІТЕРАТУРА

1. Боровиков В.П. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. — СПб.: Питер, 2001. — 656 с.
2. Георгіянц В.А., Перехода Л.О., Плис С.В. Синтез та дослідження 1-бензил-1,2,3-триазол(1Н)-4,5-дикарбонових кислот // Вісник фармації. — 2005. — №2 (42). — С. 3-6.
3. Георгіянц В.А., Перехода Л.О., Плис С.В. Синтез, фізико-хімічні та фармакологічні дослідження 1-бензил-1,2,3-триазол-(1Н)-4,5-дикарбонових кислот // «Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України»: мат. VI Національного з'їзду фармацевтів України, 28-30 вересня 2005 р., м. Харків. — С. 71-72
4. Георгіянц В.А., Перехода Л.О., Плис С.В., Глущенко А.В. Цілеспрямований синтез потенційних протисудомних засобів серед похідних 1-заміщених-1,2,3(1Н)-триазолу // II Міжнародна науково-практ. конф. (12-13 жовтня 2006 р.): зб. «Створення, виробництво, стандартизація та фармакоеконімічні дослідження нових лікарських засобів та біологічно активних добавок». — Х.: Видво НФаУ, 2006. — С. 11.
5. Георгіянц В.А., Перехода Л.О., Плис С.В., Глущенко А.В. Сучасні підходи до цілеспрямованого пошуку антиконвульсантів в ряду похідних 1-заміщених-1,2,3-триазолів (1Н). В кн. «Клінічна фармація в Україні»: мат. VII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 15-16 листопада, 2007. — С. 22.
6. Воронина Т.А., Неробкова Л.Н. Методические указания по изучению противосудорожной активности фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: Ремедиум, 2005. — С. 138-146.
7. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. — К.: Морион, 2000. — 320 с.

8. Poroikov V., Akimov D., Shabelnikova E., Filimonov D. Top 200 medicines: can new actions be discovered through computer-aided prediction? // SAR and QSAR in Environmental Research. — 2001. — №12 (4). — P. 327-344.
9. ibmc.msk.ru/PASS/PASSASS.html
10. <http://ru.wikipedia.org>

Л.А.Перехода, В.А.Георгиянц. Экспериментальное определение корреляции «структура — противосудорожная активность» в ряду производных 1-бензил-1,2,3-триазол(1H)-4,5-дикарбоновой кислоты. Харьков, Украина.

Ключевые слова: корреляция, физико-химические параметры, противосудорожная активность, 1,2,3-триазол.

Проведены фармакологические исследования противосудорожной активности ранее синтезированных производных 1-бензил-1,2,3-триазол(1H)-4,5-дикарбоновой кислоты на модели аудиогенных судорог у крыс. Все производные 1-бензил-1,2,3-триазол(1H)-4,5-дикарбоновой кислоты проявляют противосудорожное действие. Компьютерным методом с помощью программы ACD/Labs были рассчитаны физико-химические параметры молекул. Полученные результаты и показатель средней тяжести судорожной реакции были подвергнуты корреляционному анализу. Установлено, что в ряду производных 1-бензил-1,2,3-

триазол(1H)-4,5-дикарбоновой кислоты наиболее значимыми являются корреляции противосудорожной активности с молекулярной массой и поверхностным натяжением.

L.A.Perekhoda, V.A.Georgiyants. Experimental definition of correlation «structure — anticonvulsant activity» of the derivatives of 1-benzyl-1,2,3-triazol(1H)-4,5-dicarboxylates. Kharkiv, Ukraine.

Key words: correlation analysis, physical and chemical parameters, anticonvulsant activity, 1,2,3-triazol.

Pharmacological researches anticonvulsant activity before synthesized derivatives of 1-benzyl-1,2,3-triazol(1H)-4,5-dicarboxylates on model of audiogene seigers at rats was conducted. The results of studying an pharmacological activity have shown that the compounds synthesized are perspective anticonvulsants. By a calculation computer method by the ACD/Labs program the phisico-chemical parameters of the derivatives 1-benzyl-1,2,3-triazol(1H)-4,5-dicarboxylates have been calculated. The received results and anticonvulsant activity have been subjected the correlation analysis. It is established that among of the derivative 1-benzyl-1,2,3-triazol(1H)-4,5-dicarboxylate there are correlations anticonvulsant activity with molecular weight and superficial tension.

Надійшла до редакції 10.04.2011 р.