

## **Изучение мембранотропных свойств лекарственных веществ и их производных для поиска и скрининга новых лекарственных веществ**

**Иванов Л.В., Орлова И.В.**

*Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств», Харьков, Украина*

Известно, что фармакологическая активность многих лекарственных веществ (ЛВ) (местные анестетики, антиаритмические вещества, антиоксиданты, ноотропные и др.) коррелирует с их мембранотропными свойствами, т.к. в механизме действия этих веществ средство к мембранам и их влияние на мембраны является определяющим фактором. По-видимому, в механизмах токсичности многих ЛВ неспецифическое взаимодействием их с мембранами клеток различных органов и тканей с последующим ингибированием биохимических процессов также играет существенную роль.

И, наконец, основные параметры фармакокинетики ЛВ - биодоступность ( $AUC$  и  $K_{01}$ ), объем распределения по органам и тканям ( $V_p$ ) и время удержания ЛВ в организме ( $MRT$ ) напрямую зависят от способности ЛВ взаимодействовать с мембранами тех или иных клеток организма.

Таким образом, средство ЛВ к мембранам является фундаментальным свойством, которое во многих случаях определяет фармакологическую активность, токсичность и фармакокинетику ЛВ. В то же время работ, в которых поиск и скрининг новых биологически активных веществ (БАВ) осуществлялся бы на основании скрининга мембранотропных свойств БАВ, практически нет.

Следующей важной проблемой, связанной с мембранотропными свойствами веществ и поиском новых БАВ, является вопрос о влиянии химической модификации их молекул на мембранотропные свойства, которое позволяет оценить роль той или иной химической группы молекулы БАВ в процессе взаимодействия и влияния на мембраны. Такие знания позволили бы осуществлять направленный синтез веществ с новыми фармакологическими или фармакокинетическими свойствами.

Целью работы явилось изучение мембранолипотропных свойств ряда анестетиков, карденолидов и их производных, флавоноидов, а также анализ корреляций между мембранолипотропными свойствами, фармакологической активностью и параметрами фармакокинетики этих веществ, что может быть использовано для поиска, синтеза и скрининга по мембранотропным свойствам новых БАВ и создания конкурентноспособных лекарственных веществ с заданными свойствами.

Мембранолипотропные свойства изучаемых веществ оценивали по их сродству к липосомам из фосфатидилхолина с помощью метода флуоресцентных зондов, а фармакокинетические исследования проводили для изучения корреляции между мембранолипотропными свойствами ЛВ и параметрами фармакокинетики.

#### Результаты и обсуждение.

В работе изучено сродство к липосомам ряда анестетиков, из спектров флуоресценции зонда 1,8-АНС в липосомах рассчитаны константы диссоциации  $K_d$  в обращенных координатах, которые сравнивали с данными по фармакологической активности анестетиков (см. табл. 1).

Из литературы известно, что токсичность местных анестетиков растет в ряду: новокаионамид < тримекаин < кокаин < дикаин < совкаин.

Проводниковая активность анестетиков растет в ряду: новокаионамид < кокаин < тримекаин < дикаин < пиромекаин < совкаин.

Сродство анестетиков к липосомам по нашим данным растет в ряду: новокаионамид < тримекаин < дикаин < пиромекаин < совкаин.

Таким образом, для местных анестетиков наблюдается хорошая корреляция между фармакологической активностью, токсичностью и мембранолипотропными свойствами.

Изучали сродство к липосомам карденолидов и их производных. Добавление сердечных гликозидов к липосомам приводило к уменьшению флуоресценции зонда вследствие его вытеснения из мембраны в воду молекулами сердечного гликозида. Уменьшение флуоресценции зонда

пропорционально средству изучаемых веществ к липосомам. Для дигоксина  $K_d$  составляла  $1.6 \cdot 10^{-4}$  М (см. табл.1).

Сродство сердечных гликозидов к липосомам уменьшалось в ряду: корельборин > эризимин > строфантин > дигитоксин > конваллятоксин > дигоксин. В то же время биологическая активность (мг/кг на кошках) сердечных гликозидов падала в ряду: эризимин > конваллятоксин > корельборин > строфантин > дигоксин > дигитоксин. Проведен анализ схожести этих рядов с учетом известного факта. ингибирования Na,K-АТФазы (интегральный мембранный белок) сердечными гликозидами,

Таблица 1

Константы диссоциации ряда лекарственных веществ с липосомами

Лекарственное вещество	$K_d$ (М)
Новокаинамид	$6 \cdot 10^{-4}$
Тримекаин	$1.25 \cdot 10^{-4}$
Дикаин	$1.0 \cdot 10^{-4}$
Пиромекин	$5.4 \cdot 10^{-5}$
Совкаин	$1.8 \cdot 10^{-5}$
Дигоксин	$1.6 \cdot 10^{-4}$
Конваллятоксин	$1.0 \cdot 10^{-4}$
Тринитроконваллятоксин	$5.0 \cdot 10^{-5}$
Аймалин-строфантин-бромид	$1.4 \cdot 10^{-4}$
17- $\alpha$ - Аймалин-строфантин-бромид	$2.5 \cdot 10^{-4}$
Анаприлин	$1.25 \cdot 10^{-4}$

В ГНЦЛС было синтезировано новое антиаритмическое и кардиотоническое средство, полученное полусинтетическим путем из алкалоида аймалина и сердечного агликона строфантина, соединенных сложноэфирной связью - АСБ. Изучали сродство АСБ, аймалина и строфантина к липосомам и сравнительную фармакокинетику АСБ и аймалина. Добавление к липосомам аймалина и АСБ приводило к увеличению флуоресценции зонда вследствие

увеличения положительного заряда мембран липосом при связывании этих веществ с мембраной (Рис. 1).

Сродство АСБ к липосомам выше, чем у аймалина, т.к. остаток строфантидина в молекуле АСБ предоставляет дополнительные точки связывания с фосфолипидами мембран. Изучение фармакокинетики АСБ на крысах при внутривенном введении в дозе 20 мг/кг показало, что кинетическая кривая описывается биекспоненциальным уравнением:  $C(t) = 6,61 \cdot e^{-8,701t} + 2,51 \cdot e^{-0,329t}$ . Рассчитаны фармакокинетические параметры для АСБ:  $T^{\alpha}_{0,5} = 4,8$  мин;  $T^{\beta}_{0,5} = 2,11$  ч., которые свидетельствуют о нахождении АСБ в крови животных в течение более чем 2 часов.

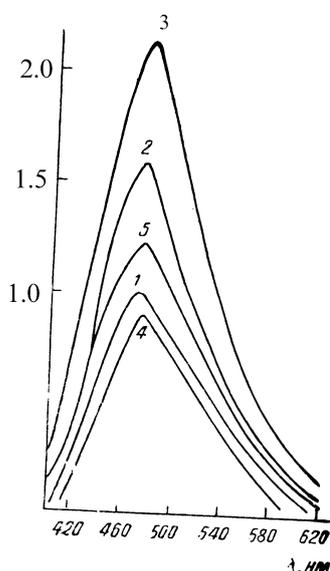


Рис. 1 Спектры флуоресценции зонда в липосомах: 1-контроль; 2 - 17- $\alpha$  АСБ; 3-АСБ; 4-строфантин, 5-аймалин.

Полученные данные свидетельствуют о том, что АСБ остается в организме более продолжительное время по сравнению с аймалином, т.к. при внутривенном введении последнего мышам в дозе 10 мг/кг время полувыведения  $T_{0,5}$  составляло 15, 8 мин (данные литературы). Таким образом, введение в молекулу аймалина остатка строфантидина приводит к увеличению мембранотропности АСБ, что в свою очередь приводит

Изучение изомера АСБ - 17 $\alpha$ -АСБ, у которого лактонное кольцо находится за плоскостью молекулы ( $\alpha$  положение) показало, что его сродство к липосомам заметно меньше, чем у АСБ (табл. 1 и рис. 1). При этом его токсичность падала в несколько раз по сравнению с АСБ: ЛД<sub>50</sub> для АСБ имела 130 мг/кг и 820 мг/кг для 17- $\alpha$  АСБ. Уменьшение мембранотроп-

ных свойств этих веществ вследствие изменения конформации их молекул коррелировало с их токсическими свойствами.

В ГНЦЛС было получено производное конваллятоксина - тринитроконваллятоксин (ТНК), обладающее коронарорасширяющим и кардиотоническим действием. Введение трех нитрогрупп в молекулу конваллятоксина привело к увеличению сродства ТНК к липосомам в 2 раза (табл. 1). В то же время опыты с использованием кальцийхлорчувствительного флуоресцентного зонда - хлортетрациклина показали, что введение ТНК в липосомы приводит к уменьшению связывания йонов кальция липосомами, что согласуется с данными о коронарорасширяющем действии ТНК.

Изучали сродство ряда флавоноидов различной структуры - агликонов и гликозидов флавоноидов к мембранам липосом. Сродство флавоноидов к липосомам росло в ряду: кверцетин < мирицетин < гиперозид < стаханоацизид. Анализ мембранотропных свойств ряда флавоноидов позволил объяснить двухфазный характер их фармакокинетических кривых.

Определены закономерности и зависимости между структурой флавоноидов, их мембранотропными свойствами, влиянием на текучесть мембран и параметрами фармакокинетики. Так, увеличение сродства к мембранам флавоноидов гликозидов (гиперозид, стаханоацизид) по сравнению с агликонами (кверцетин и мирицетин) сопровождается увеличением их влияния на текучесть липидов мембран клеток ткани сосудов (гиперозид, стаханоацизид, ликвиритин), а также увеличением времени удержания в организме и объема распределения по сравнению с агликонами.

Таким образом, мембранолипотропные свойства ЛВ чувствительны к изменениям структуры и конформации молекул, замены тех или иных химических групп в молекулах ЛВ и могут эффективно использоваться для поиска, синтеза и скрининга новых лекарственных веществ.