

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-319

**ПОИСК ПРОТОТИПОВ ЛЕКАРСТВ АНТАГОНИСТОВ NMDA- И AMPA-РЕЦЕПТОРОВ
В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ ХИНОКСАЛИНА И ПИРАЗИНОБЕНЗИМИДАЗОЛА *****SEARCH FOR DRUG PROTOTYPES FOR NMDA- AND AMPA-RECEPTOR ANTAGONISTS
AMONG QUINOXALINE AND PYRAZINOBENZIMIDAZOLE DERIVATIVES**М. Ю. Дронь¹, О. И. Барыгин¹, Д. В. Мальцев², Л. Н. Диваева³, А. А. Зубенко⁴, А. А. Спасов²¹*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург*²*Волгоградский государственный медицинский университет*³*Научно-исследовательский институт физической и органической химии**Южного федерального университета, Ростов-на-Дону*⁴*Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт, Новочеркасск*M. Yu. Dron¹, O. I. Barygin¹, D. V. Maltsev², L. N. Divaeva³, A. A. Zubenko⁴, A. A. Spasov²¹*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RAS, Saint Petersburg*²*Volgograd State Medical University*³*Research Institute of Physical and Organic Chemistry, Rostov-on-Don*⁴*North-Caucasian Zonal Scientific Veterinary Institute, Novochoerkassk*

✉ neuro.mike@yahoo.com

Аннотация

Проект посвящен скринингу блокаторов ионотропных глутаматных рецепторов в ряду производных пиразинобензимидазолов и хиноксалинов. В качестве объекта исследования были использованы пирамидные нейроны гиппокампа крыс линии Wistar. При помощи метода локальной фиксации потенциала было выявлено наиболее активное соединение — это представитель класса хиноксалина с шифром ЗДМ-15.

Abstract

The project is dedicated to screening of ionotropic glutamate receptors inhibitors among pyrazinobenzimidazole and quinoxaline derivatives. The pyramidal neurons of the hippocampus of Wistar rat brain were used for the study. With the patch clamp technique, we found the most active compound — this is a representative of the quinoxaline class with the code name ZDM-15.

Глутаматергическая система является главным компонентом нервной системы человека, который ответствен за реализацию процессов возбуждения, благодаря этим процессам осуществляется подавляющее число физиологических функций тела [1]. Логично, что такой широкий функциональный диапазон задействован и при различных патофизиологических состояниях мозга, при этом не всегда отклонения в работе глутаматергической системы являются превалирующими, вовлекаясь при этом, казалось бы, самым незначимым, косвенным образом [2]. Так, при эпилепсии, глутаматергическая система вносит значимый вклад в манифестацию и течение болезни на молекулярном уровне [3], в то время как при болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона и боковом амиотрофическом склерозе патологические изменения в работе глутаматергической системы являются однозначными, но при этом охарактеризованными в недостаточной мере, что позволяет лишь говорить о патологическом модулирующем вкладе при запуске и последующем развитии нейродегенеративных процессов [4]. Поиск соединений-ингибиторов ионотропных глутаматных рецепторов мог бы помочь в решении вопросов, связанных с разбалансировкой работы глутаматергической системы.

В сотрудничестве с НИИ ФОХ ЮФУ нами была проведена оценка ингибирующей активности производных хиноксалина и пиразинобензимидазола. Хиноксалиндионы являются известными конкурентными антагонистами AMPA-рецепторов (NBQX, DNQX), в то время как другие производные хиноксалина ингибируют NMDA-рецепторы, взаимодействуя с сайтом связывания глицина [5, 6]. Производные бензимидазола также обладают ингибирующей активностью в отношении NMDA-рецепторов [7]. Таким образом, выбор соединений именно этих химических классов является оправданным с позиций существующих научных литературных данных.

* Исследование проведено с использованием оборудования центра коллективного пользования Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН в рамках государственного задания № 075-00264-24-00.

© М. Ю. Дронь, О. И. Барыгин, Д. В. Мальцев, Л. Н. Диваева, А. А. Зубенко, А. А. Спасов, 2024

Острый эксперимент включал в себя приготовление пипеточного, срезного и клеточного растворов, а также приготовление переживающих срезов головного мозга крыс-самцов линии Wistar 14 дней жизни. Срезы гиппокампа подвергались вибродиссоциации [8], запись интегральных токов осуществлялась методом пэтч-кламп в конфигурации целая клетка, режим фиксации потенциала. Осуществлялась аппликация агонистов (100 μM NMDA и 10 μM глицина для NMDA-рецепторов; 100 μM каината для КН-AMPA-рецепторов) и предполагаемых антагонистов NMDA- и КН-AMPA-рецепторов пирамидальных нейронов CA1 зоны гиппокампа. Для скрининга использовались производные хиноксалина ЗДМ-4, ЗДМ-15 [9] и пиазинобензимидазола ЗДМ-2, ЗДМ-28, ЗДМ-29, ЗДМ-31. Формулы данных соединений, синтезированных в лаборатории органического синтеза НИИ ФОХ ЮФУ, представлены на рисунке. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы Origin 6.0. Данные представлены в виде «среднее \pm стандартное отклонение», рассчитанное на основании как минимум 4 экспериментов. В работе использовался протокол подачи агониста в контроле и коаппликации с соединениями в эксперименте.

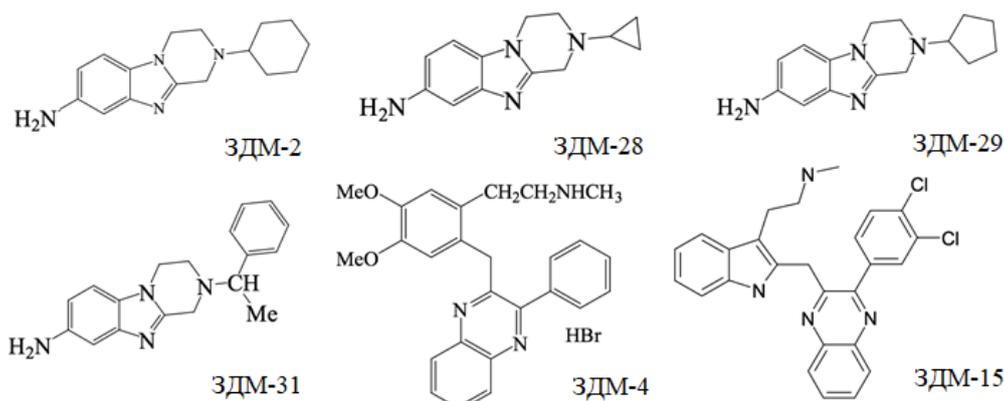


Таблица описывает полученные нами результаты скрининга в двух концентрациях: 10 и 100 μM . Две вышеуказанные скрининговые точки достаточно хорошо дают представление о том, как сильно развивается эффект исследуемых веществ в отношении ионотропных глутаматных рецепторов, преследуемых задачей скрининга. Пиазинобензимидазольный кор с заместителями циклогексила, циклопропила, циклопентила и фенилэтила не оказал выраженного ингибирующего эффекта на ионотропные глутаматные рецепторы. Производное хиноксалина ЗДМ-4 также не проявило выраженной активности, однако ингибирующая активность второго производного ЗДМ-15 значительно возросла.

Результат скрининга. Процент ингибирования интегральных токов NMDA- и КН-AMPA-рецепторов производными хиноксалина и пиазинбензимидазола в концентрациях 10 и 100 μM

Шифр	Ингибирование NMDAR, %		Ингибирование КН-AMPA, %	
	10 μM	100 μM	10 μM	100 μM
ЗДМ-2	0	45 \pm 6,4	0	17 \pm 3,7
ЗДМ-4	15 \pm 3,4	50 \pm 5,6	0	40 \pm 3,3
ЗДМ-15	82 \pm 8,5	100	35 \pm 5,0	83 \pm 11
ЗДМ-28	10 \pm 3,7	85 \pm 8,9	0	11 \pm 3,9
ЗДМ-29	0	61,5 \pm 5,1	0	5 \pm 2,3
ЗДМ-31	8,5 \pm 1,7	51 \pm 3,9	0	19,5 \pm 3,6

Таким образом, нами было найдено соединение ЗДМ-15, активно ингибирующее NMDA-рецепторы. Дополнительно была отмечена невысокая ингибирующая активность данного соединения при действии на КН-AMPA-рецепторы. Обнаружение новых антагонистов ионотропных глутаматных рецепторов способствует разработке препаратов для терапии эпилепсии, депрессии и ряда нейродегенеративных заболеваний.

Литература

1. Niciu M. J., Kelmendi B., Sanacora G. Overview of glutamatergic neurotransmission in the nervous system // Pharmacology Biochemistry and Behavior. 2012. Vol. 100. № 4. P. 656-664.

2. Sanacora G. et al. Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders // *Nature reviews Drug discovery*. 2008. Vol. 7. № 5. P. 426–437.
3. Rogawski M.A. Revisiting AMPA receptors as an antiepileptic drug target: revisiting AMPA receptors as an antiepileptic drug target // *Epilepsy currents*. 2011. Vol. 11. № 2. P. 56–63.
4. Chazot P.L. The NMDA receptor NR2B subunit: a valid therapeutic target for multiple CNS pathologies // *Current medicinal chemistry*. 2004. Vol. 11. № 3. P. 389–396.
5. Randle J.C. et al. Quinoxaline derivatives: structure-activity relationships and physiological implications of inhibition of N-methyl-D-aspartate and non-N-methyl-D-aspartate receptor-mediated currents and synaptic potentials // *Molecular pharmacology*. 1992. Vol. 41. № 2. P. 337–345.
6. Pellegrini-Giampietro D.E. et al. Quinoxalines interact with the glycine recognition site of NMDA receptors: studies in guinea-pig myenteric plexus and in rat cortical membranes // *British journal of pharmacology*. 1989. Vol. 98. № 4. P. 1281.
7. Sun L. et al. Characterization of Two Novel N-Methyl-D-aspartate Antagonists: EAA-090 (2-[8, 9-Dioxo-2, 6-diazabicyclo [5.2. 0] non-1 (7)-en-2-yl] ethylphosphonic Acid) and EAB-318 (R- α -Amino-5-chloro-1-(phosphonomethyl)-1H-benzimidazole-2-propanoic Acid Hydrochloride) // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2004. Vol. 310. № 2. P. 563–570.
8. Vorobjev V.S. Vibrodissociation of sliced mammalian nervous tissue // *Journal of neuroscience methods*. 1991. Vol. 38. № 2–3. P. 145–150.
9. Zubenko A.A. et al. New route to bioactive 2-(hetero) arylethylamines via nucleophilic ring opening in fused 7-acyl-2, 3-dihydroazepines // *Mendeleev Communications*. 2020. Vol. 30. № 1. P. 28–30.