

ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ХИНАЗОЛИН-4(3H)-ОНА С ГУАНИДИНОВЫМ ЗАМЕСТИТЕЛЕМ У КРЫС С ОККЛЮЗИЕЙ ОБЩИХ СОННЫХ АРТЕРИЙ

*А.В. Борисов^{2,5}, Е.В. Волотова¹, А.А. Озеров^{3,4}, Д.В. Куркин², Д.А. Бакулин²,
Е.Е. Абросимова¹, Л.Е. Бородинкина¹, Ю.А. Смольнякова¹*

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Волгоград

¹кафедра фармакологии и фармации Института НМФО,

²лаборатория фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС,

³кафедра фармацевтической и токсикологической химии;

ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», Волгоград

⁴лаборатория медицинской химии,

⁵лаборатория патоморфологии

Аннотация. В ряду производных хиназолин-4(3H)-она выделено 2 вещества: VMA-13-15 (N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]гуанидин) и VMA-13-17 (N-[2-[6-бром-4-оксо-3(4H)-хиназолинил]ацетил]гуанидин), при терапевтическом введении которых выживаемость и неврологическое состояние животных с двусторонней окклюзией общих сонных артерий (ОСА) были лучше, чем в контрольной группе. Также через 72 часа после ОСА на фоне введения данных соединений уровень мозгового кровотока и выраженность реакций мозговых сосудов на введение стимулятора и блокатора синтеза оксида азота были выше. Соединения VMA-13-15 и VMA-13-17 являются перспективными для дальнейшего изучения их терапевтического потенциала при нарушениях мозгового кровообращения.

Ключевые слова: хиназолин-4(3H)-он, ишемия головного мозга, психоневрологический дефицит.

CEREBROPROTECTIVE ACTIVITY OF QUINAZOLINE-4(3H)-ONE DERIVATIVES WITH A GUANIDINE SUBSTITUENT IN RATS WITH BILATERAL COMMON CAROTID ARTERY OCCLUSION

*A. V. Borisov^{2,5}, E. V. Volotova¹, A. A. Ozerov^{3,4}, D. V. Kurkin², D. A. Bakulin²,
E. E. Abrosimova¹, L. E. Borodkina¹, J. A. Smolnyakova¹*

FSBEI HE "Volgograd State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Volgograd

¹Department of pharmacology and pharmacy of Institute of continuing medical and pharmaceutical education;

²laboratory of pharmacology of cardiovascular drugs of the scientific center for innovative drugs;

³Department of pharmaceutical and toxicological chemistry;

SBI "Volgograd Medical Research Center", Volgograd

⁴laboratory of medicinal chemistry,

⁵laboratory of pathomorphology

Abstract. From derivatives of quinazolin-4 (3H) -one, 2 substances were isolated: VMA-13-15 (N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]propionyl]guanidine) and VMA-13-17 (N-[2-[6-bromo-4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]acetyl]guanidine). With the therapeutic administration of the compounds, the survival rate and neurological condition of animals with bilateral occlusion of the common carotid arteries were better than in the control group. Also 72 hours after surgery and treatment, the level of cerebral blood flow and the severity of the reactions of cerebral vessels to the introduction of a stimulant and a blocker of nitric oxide synthesis were higher. Compounds VMA-13-15 and VMA-13-17 are promising for further study of their therapeutic potential in cerebrovascular accidents.

Keywords: quinazoline-4(3H)-one, brain ischemia, neurological deficit.

Острые и хронические нарушения мозгового кровообращения (НМК) являются одной из основных причин преждевременной смертности и потери трудоспособности.

Целью фармакотерапии НМК является препятствие или замедление повреждения ткани мозга,

морфологическое, метаболическое и функциональное восстановление нейронов и/или их окружения. Препараты, оказывающие вазодилатирующий, антиагрегантный, антиоксидантный или антигипоксический эффекты, могут ускорить восстановление, но их эффективность остается недостаточной [1].

Хиназолинон представляет собой гетероциклическое химическое соединение. Эта структура считается привилегированной в медицинской химии и выступает в качестве фармакофора, то есть обладает совокупностью стерических и электронных свойств, необходимых для обеспечения оптимальных супрамолекулярных взаимодействий с биологическими мишенями. Среди производных хиназолинона можно выделить идела-лисиб (блокирует P110δ, дельта-изоформу фермента фосфоинозитид-3-киназы), метаквалон и его производные хлороквалон, дипроквалон, этаквалон и др. (увеличивают активность рецепторов ГАМК в головном мозге и нервной системе) [6]. Также различные синтетические производные хиназолина оказывают кардио- и нейропротекторные [2], антибактериальные [4], противовирусные [7] и иммуностропные [9] эффекты.

Гуанидины представляют собой группу органических соединений, имеющих общую функциональную группу с общей структурой (R1p2N) (R3p4N) C = N-R⁵. Центральной связью в этой группе является имин, а группа структурно связана с амидинами и мочеви-нами. Физиологические эффекты гуанидина сводятся к усилению высвобождения ацетилхолина после нерв-ного импульса, замедлению скорости деполяризации и реполяризации мембран миоцитов. Примерами гуанидинов являются аргинин, триазабициклодец-ен, сакситоксин и креатин. Гуанидиновый компонент является частью большого количества лекарственных средств и биологически активных веществ: произ-водные ацилгуанидина (амилорид, бензамил, BIT225, карипорид, гуанфацин, римепорид, UR-AK49), би-гуанид и его производные (алексидин, бисбигуанид, буформин, хлоргексидин, хлорпрогуанил, метформин, мороксидин, фенформин, фенилбигуанид, поли-аминопропил бигуанид, полигексанид, прогуанил), алкалоиды (бареттин, бростолицин), нитрогуанидины (инсектициды – клотианидин, динотефуран, имида-клоприд, тиаметоксам) и др. [8].

Обозначенное выше свидетельствует о перспек-тивности исследований производных хиназолинона и гуанидина, поскольку объединение этих структур позволит получить вещества с различной биологичес-кой активностью, в том числе с церебропротекторной.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

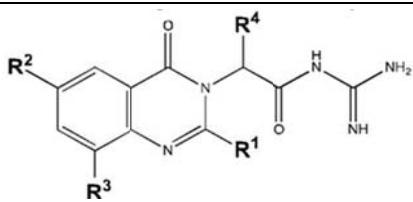
Изучить церебропротекторную активность произ-водных хиназолин-4(3H)-она при остром нарушении мозгового кровообращения, вызванном двусторонней окклюзией общих сонных артерий.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 99 беспородных крысах-самцах (240–260 г, 5–6 мес.) (ФГУП «Питом-ник лабораторных животных «Рапполово»). Живот-ные находились в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пище. Порядок со-держания и обращения с лабораторными животными соответствовали требованиям надлежащей лабора-торной практики (ГОСТ 33215-2014 и 33216-2014), Приказу МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверж-дении правил надлежащей лабораторной практики» и был одобрен Региональным исследовательским эти-ческим комитетом Волгоградской области (протокол № 2086-2016 от 09.12.2016 г.).

Нарушения мозгового кровообращения модели-ровали одномоментной перевязкой общих сонных артерий (ОСА) (хлоралгидрат, 400 мг/кг, в/б). Иссле-дуемые вещества вводили в дозах, указанных в табл., за 30 мин до перевязки ОСА (в объеме 0,1 мл на 100 г массы животного, в/б), затем каждые 24 часа, в тече-ние 3 дней. Группе ложнооперированных (ЛО) живот-ных (n = 10) воспроизводили все этапы операции без непосредственной окклюзии общих сонных артерий. Группа ишемия + плацебо (n = 16) в качестве лечения получала физиологический раствор.

Структура изучаемых гуанидиновых производных хиназолин-4(3H)-она и характеристика опытных групп

						
Шифр соединения	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	Доза, мг/кг	Животных в группе, n
VMA-13-10	H	H	H	H	2,5	12
VMA-13-15	H	H	H	CH ₃	2,5	9
VMA-13-16	CH ₃	H	H	H	2,5	12
VMA-13-17	H	Br	H	H	3,5	12
VMA-13-21	H	Br	H	CH ₃	2,5	10
VMA-13-22	H	Br	Br	H	2	10
VMA-13-23	H	Cl	H	H	3	8

Церебропротекторное действие веществ оценивали по их влиянию на выживаемость, динамику неврологических нарушений (шкала McGraw) через 6, 12, 24, 48 и 72 ч после ОСА. Через 72 ч также оценивали двигательную и исследовательскую активности (в тесте «Открытое поле»), а также когнитивную функцию в тестах: «Условная реакция пассивного избегания» (УРПИ) и «Экстраполяционное избегание» (ТЭИ), обучение в которых проводили за сутки до моделирования ишемии [3].

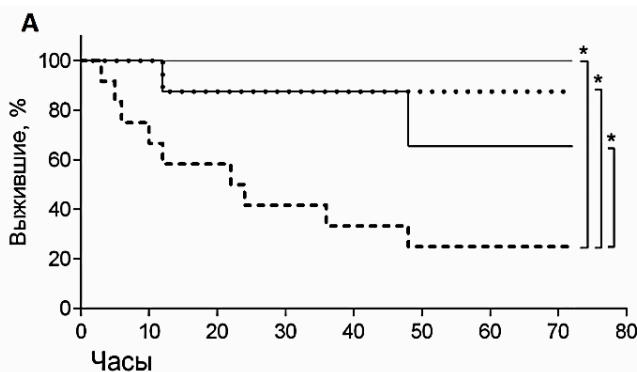
Учитывая зависимость уровня мозгового кровообращения от функционального состояния эндотелиальной системы, на 4-е сутки после ОСА, проводили регистрацию мозгового кровотока (МК) в бассейне средней мозговой артерии с использованием полиграфа МР150 и модуля для лазер-доплеровской флоуметрии LDF100С (Biopac Systems, США). Далее оценивали функциональное состояние эндотелия

по относительному изменению скорости МК при стимуляции (ацетилхолин, 0,01 мг/кг, в/в), затем при блокаде (нитро-L-аргинин, 10 мг/кг, в/в) синтеза оксида азота [5].

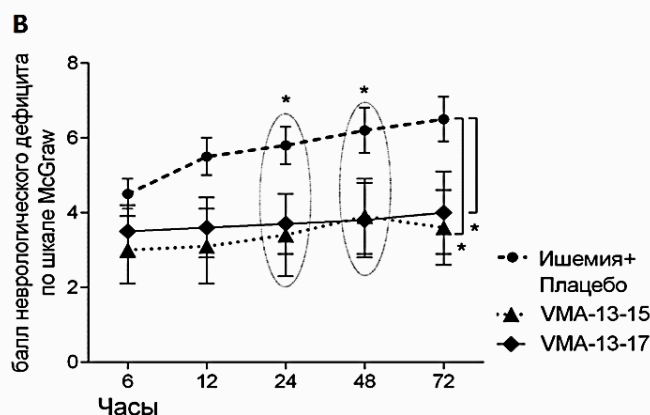
Статистическую обработку данных выполняли в STATISTICA 12.5, с применением критериев Шапиро – Уилка, Краскела – Уоллиса, Дана и хи-квадрат. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее высокая выживаемость животных наблюдалась после лечебно-профилактического введения соединений VMA-13-15 и VMA-13-17 (рис. 1А, Б). Через 72 ч после ОСА в этих группах выжило соответственно 89 и 75 % животных, а в группе ишемия + плацебо – 31 %.



Группы животных	Выживаемость животных после ОСА	
	48 ч	72 ч
ЛО	100*	100*
Ишемия+Плацебо	40	31
VMA-13-10	58	25
VMA-13-15	88	89*
VMA-13-16	75	67
VMA-13-17	83*	75*
VMA-13-21	50	50
VMA-13-22	50	50
VMA-13-23	75	63



Группы животных	Средний балл неврологического дефицита после ОСА		
	6 ч	48 ч	72 ч
Ишемия+Плацебо	4,5 ± 0,4	6,2 ± 0,6	6,5 ± 0,6
VMA 13-10	4,2 ± 0,9	6,2 ± 1,2	7,6 ± 1,2
VMA 13-15	3 ± 0,9	3,9 ± 1,0*	3,6 ± 1*
VMA 13-16	3,1 ± 1	4,2 ± 1,1	4,5 ± 1,3
VMA 13-17	3,5 ± 0,7	3,8 ± 1,0*	4 ± 1,1*
VMA 13-21	3,3 ± 0,9	5,9 ± 1,4	5,5 ± 1,5
VMA 13-22	4,1 ± 1,1	5,6 ± 1,5	5,6 ± 1,5
VMA 13-23	5 ± 1,1	4,5 ± 1,3	4,7 ± 1,5

*Достоверно по отношению к группе ишемия + плацебо ($p < 0,05$).

Рис. 1. Влияние производных хиназолина на выживаемость (А, Б) и динамику неврологического дефицита по шкале McGraw (В, Г) у животных при необратимой окклюзии общих сонных артерий (ОСА):

А – кривая выживаемости; Б – количество выживших животных через 48 и 72 ч после ОСА; В – динамика нарастания неврологического дефицита, Г – балл неврологического дефицита животных через 6, 48 и 72 часа после ОСА;

ЛО – ложнооперированные животные

Через 12 часов, после моделирования НМК неврологический дефицит в группах, получавших VMA-13-15 и VMA-13-17, был статистически значимо меньше, чем у животных группы ишемия + плацебо (рис. 1В, Г).

Менее выраженные неврологические нарушения отмечали и у животных, которым перед двусторонней перевязкой общих сонных артерий вводили соединение VMA-13-16 (с метильным заместителем

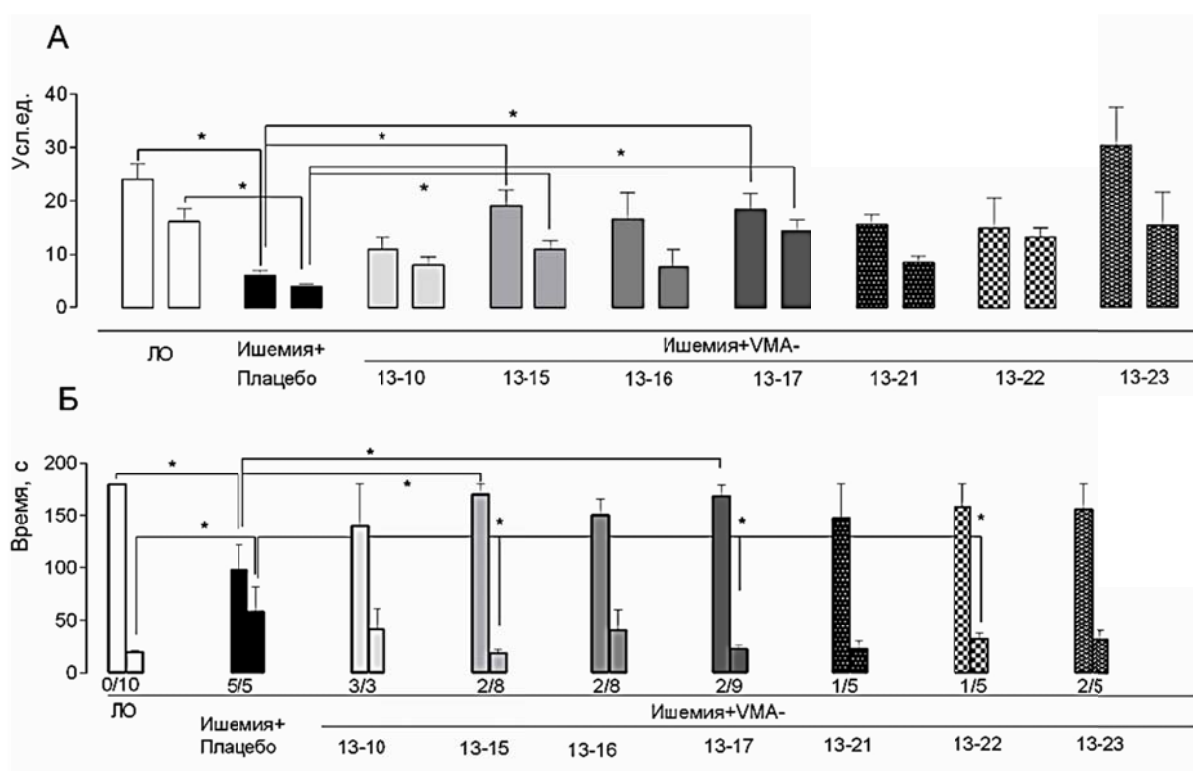
в положении R¹) и соединение VMA-13-23 (с хлорным заместителем в положении R²).

В тесте «Открытое поле» и у животных группы ишемия + плацебо отмечали низкую двигательную и исследовательскую активности. У животных, которым перед ОСА вводили соединения VMA-13-15 и VMA-13-17, VMA-13-16 и VMA-13-23, регистрируемые показатели в открытом поле были статистически значимо выше, чем у животных группы плацебо (рис. 2А).

Ишемия головного мозга, вызванная гипоперфузией после двусторонней перевязки общих сонных артерий, вызывает стойкие нарушения когнитивной функции. Через 72 часа после окклюзии оценивали сохранение рефлекса пассивного избегания в тесте УРПИ и экстраполяционного избегания от аверсивной среды в тесте ТЭИ.

Представленные на рис. 2Б результаты свидетельствуют, что через 3 суток после двусторонней окклюзии сонных артерий у животных, которым вводили соединения VMA-13-15 и VMA-13-17, сохранился памятный след об рациональном поведении в аверсивной среде. Так, в тесте УРПИ из 8 выживших после ОСА животных, которым вводили соединение VMA-13-15 только 2 зашли в темный отсек и через больший латентный период. Из 9 выживших животных, получавших соединение VMA-13-17, также зашло в темный отсек только 2.

В тесте ТЭИ все животные, которым вводили соединения VMA-13-15 или VMA-13-17 в течение более короткого времени нашли решение задачи экстраполяционного избегания, то есть поднырнули под нижний обрез цилиндра и выбрались из воды.



*Достоверно по отношению к группе ишемия + плацебо ($p < 0,05$).

Рис. 2. Двигательная и исследовательская активность (А), латентный период подныривания (ЛП) в ТЭИ и ЛП захода в темный отсек в тесте УРПИ (Б) у животных через 72 ч после ОСА:

ЛО – ложнооперированные животные; двигательная активность – сумма пересеченных квадратов, первые столбики (А); исследовательская активность – сумма заглядываний в норки и стоек, вторые столбики (А); ЛП в УРПИ – латентный период захода в темный отсек, первые столбики (Б); ЛП в ТЭИ – латентный период решения экстраполяционной задачи, вторые столбики (Б); цифрами обозначено количество зашедших в темный отсек УРПИ / общее количество выживших животных

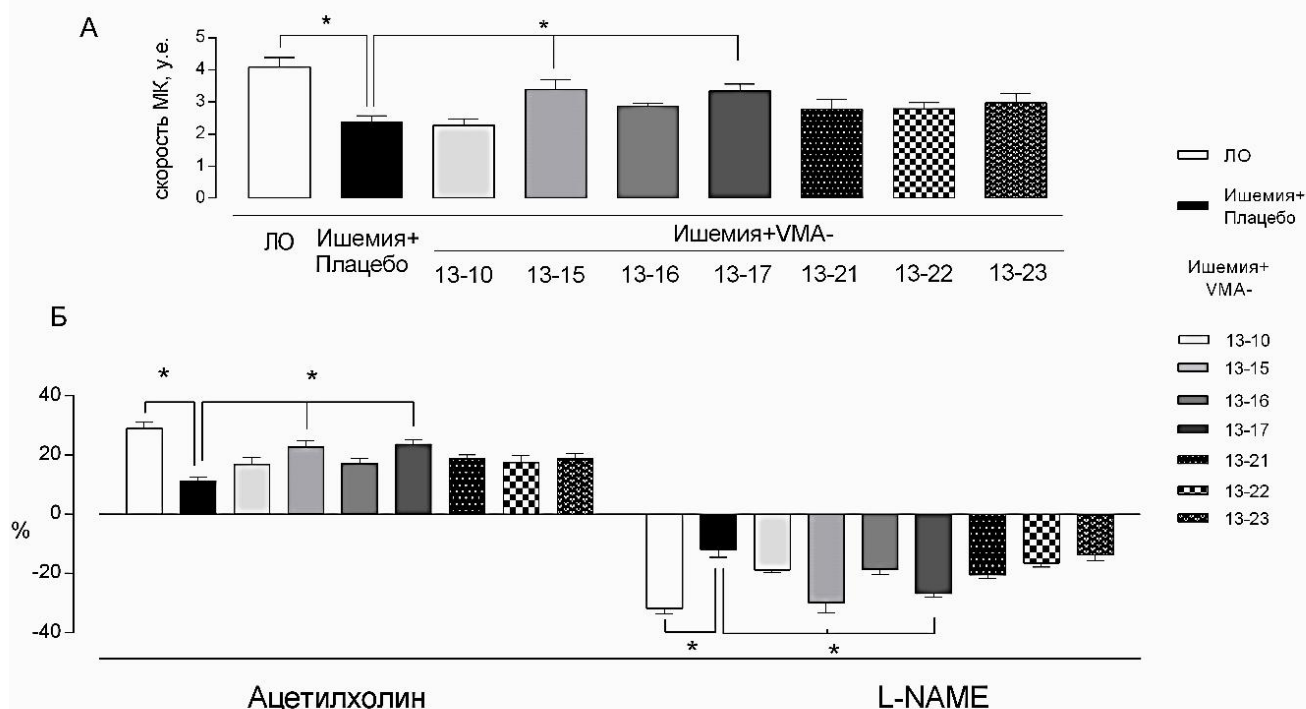
Отмеченное церебропротективное действие исследуемых производных хиназолин-4(3H)-она может быть связано с их влиянием на мозговое кровообращение и вазодилатирующую функцию эндотелия. Поэтому на 4-е сутки после ОСА у животных, в проекции средней мозговой артерии, определяли

уровень мозгового кровотока и реакцию мозговых сосудов на введение модификаторов активности эндотелиальной NOS.

У животных, которым перед ОСА вводили соединения VMA-13-15 или VMA-13-17, уровень мозгового кровотока был на 43,3 и 47,7 % выше относительно

группы ишемия + плацебо (рис. 3А); также наблюдали больший прирост кровотока в ответ на введение как

ацетилхолина, так и большее его падение на фоне введения нитро-L-аргинина (рис. 3Б).



*Достоверно по отношению к группе ишемия + плацебо ($p < 0,05$).

Рис. 3. Влияние производных хиназолин-4(3H)-она на уровень мозгового кровотока (МК) и его изменение при модификации синтеза NO у животных через 72 ч после окклюзии ОСА:
ЛО – ложнооперированные животные, у. е. – мл/мин/100 г ткани ГМ

По результатам исследования наиболее благоприятным направлением структурной модификации базового соединения VMA-13-10 является введение дополнительных заместителей в положение R² хиназолиновой гетероциклической системы и в положение R⁴ боковой цепи, при этом вопрос о природе таких заместителей остается открытым.

Таким образом, профилактическое введение (до моделирования ОСА) производных хиназолин-4(3H)-она, соединения VMA-13-15 с метильным заместителем в положении R⁴ или VMA-13-17 с атомом брома в положении R², достоверно повышали выживаемость животных, улучшали мозговой кровоток и вазодилатирующую функцию эндотелия, снижали выраженность психоневрологических нарушений у выживших животных.

Менее выраженное церебропротективное действие оказывали вещества: VMA-13-17 с дополнительным атомом брома в положении R³ (VMA-13-22) и с метильным заместителем в положении R⁴ (VMA-13-21).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение церебропротективных свойств у новых производных хиназолин-4(3H)-она у животных с двусторонней окклюзией сонных артерий позволило

выделить два соединения, значительно снижающих выраженность неврологических нарушений, улучшающих эндотелийзависимую вазодилатацию и мозговое кровообращение, что свидетельствует о перспективности дальнейших исследований церебропротекторного действия соединений VMA-13-15 и VMA-13-17.

ЛИТЕРАТУРА

1. Клинические рекомендации по ведению больных с ишемическим инсультом и транзиторными ишемическими атаками / под ред. проф. Л.В. Стаховской. – М.: МЕДпресс-информ, 2017. – 208 с.
2. Петров В.И., Тюренков И.Н., Озеров А.А. и др. Патент на изобретение RU 2622638 C1. Производные хиназолин-4(3H)-она, обладающие нейро- и кардиопротекторной активностью. – 19.06.2017. – Заявка № 2016129010 от 14.07.2016.
3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
4. Саотруева М.А., Цибилова А.А., Габитова Н.М. и др. Противомикробная активность нового производного хиназолина VMA-13-03 // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2020. – Т. 83, № 8. – С. 24–28.
5. Тюренков И.Н., Воронков А.В. Методический подход к оценке эндотелиальной дисфункции в эксперименте //

Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 71, № 1. – С. 49–51.

6. Jafari E., Khajouei M.R., Hassanzadeh F., et al. Quinazolinone and quinazoline derivatives: recent structures with potent antimicrobial and cytotoxic activities // *Res Pharm Sci.* – 2016. – Vol. 11(1). – P. 1–14.

7. Paramonova M.P., Khandazhinskaya A.L., Ozerov A.A., et al. Synthesis and antiviral properties of 1-Substituted 3-[ω-(4-Oxoquinazolin-4(3H)-yl)alkyl]uracil Derivatives // *Acta Naturae.* – 2020. – Vol. 12 (3). – P. 134–139.

8. Sączewski F., Balewski Ł. Biological activities of guanidine compounds, 2008–2012 update // *Expert Opin Ther Pat.* – 2013. – Vol. 23 (8). – P. 965–995.

9. Tsibizova A.A., Ozerov A.A., Novikov M.S., et al. Synthesis and immunotropic activity of new quinazoline derivatives in mice // *Pharm Chem J.* – 2021. – Vol. 54. – P. 1008–1011.

REFERENCES

1. Klinicheskie rekomendacii po vedeniju bol'nyh s ishemicheskimi insul'tom i tranzitornymi ishemicheskimi atakami. [Clinical guidelines for the management of patients with ischemic stroke and transient ischemic attacks]. L.V. Stakhovskaya (ed.). Moscow, MEDpress-inform Publ., 2017. 208 p. (In Russ.; abstr. in Engl.).

2. Petrov V.I., Tyurenkov I.N., Ozerov A.A. et al. Patent na izobretenije RU 2622638 C1. Proizvodnyye khinazolin-4(3N)-ona, obladayushchiye neyro- i kardioprotektoynoy aktivnost'yu. [Invention patent RU 2622638 C1. Quinazolin-4(3H)-one derivatives with neuro- and cardioprotective activity]. 19.06.2017. Application No. 2016129010 dated July 14, 2016. (In Russ.; abstr. in Engl.)

3. Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' 1 [Guidelines for preclinical trials of medicinal products. Part 1]. Moscow, Grif i K Publ., 2012. 944 p. (In Russ.; abstr. in Engl.).

4. Samotrueva M.A., Tsibizova A.A., Gabitova N.M., et al. Protivomikrobnaya aktivnost' novogo proizvodnogo hinazolina VMA-13-03 [Antimicrobial activity of new quinazoline derivative VMA-13-03]. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija* [Russian journal of experimental and clinical pharmacology], 2020, no. 8, pp. 24–28. (In Russ.; abstr. in Engl.).

5. Tyurenkov I.N., Voronkov A.V. Metodicheskij podhod k ocenke jendotelial'noj disfunkcii v jeksperimente [A new methodological approach to the experimental estimation of endothelial dysfunction]. *Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija* [Russian journal of experimental and clinical pharmacology], 2008, no. 1, pp. 49–51. (In Russ.; abstr. in Engl.).

6. Jafari E., Khajouei M.R., Hassanzadeh F., et al. Quinazolinone and quinazoline derivatives: recent structures with potent antimicrobial and cytotoxic activities. *Res Pharm Sci*, 2016, no. 11 (1), pp. 1–14.

7. Paramonova M.P., Khandazhinskaya A.L., Ozerov A.A., et al. Synthesis and antiviral properties of 1-Substituted 3-[ω-(4-Oxoquinazolin-4(3H)-yl)alkyl]uracil Derivatives. *Acta Naturae*, 2020, no. 12(3), pp. 134–139.

8. Sączewski F., Balewski Ł. Biological activities of guanidine compounds, 2008–2012 update. *Expert Opin Ther Pat*, 2013, no. 23 (8), pp. 965–995.

9. Tsibizova A.A., Ozerov A.A., Novikov M.S., et al. Synthesis and immunotropic activity of new quinazoline derivatives in mice. *Pharm Chem J*, 2021, no. 54, pp. 1008–1011.

Контактная информация

Бакулин Дмитрий Александрович – к. м. н., доцент кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: mbfdoc@gmail.com