

СКРИНИНГ ЦИТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ 11-ДЕЗОКСИПРОСТАНОИДОВ ГРУППЫ E *IN VITRO*

О.И. Губич, М.В. Кучинская, М.В. Шолух

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

Hubich_Oksana@tut.by

Простагландины (ПГ) – группа биогенных физиологически активных производных полиненасыщенных жирных кислот, обеспечивающих поддержание нормального уровня физиологических и биохимических процессов в организме человека и высших животных [1]. Способность природного ПГЕ₁ проявлять цитопротекторную активность впервые описана в 80-х годах 20 века. Установлено, что ПГЕ₁ снижает степень повреждения печени при вирусном гепатите и действии ряда токсических агентов (ацетилгалактозамин, этанол, ацетон) [2], проявляет выраженную противоопухолевую активность [3], оказывает защитное действие на слизистую оболочку желудка при продолжительном приеме нестероидных противовоспалительных средств [4], проявляет радиопротекторную активность [5].

Ранее нами была установлена высокая цитопротекторная активность аналогов ПГ групп А и В на модели поражения гепатоцитов CCl₄ [6, 7]. Показано, что наиболее выраженным защитным эффектом обладают простаноиды, характеризующиеся наличием 2-оксо-4-аминооктенильной α- и мононенасыщенной карбоксилсодержащей ω-цепи, а также наличием атома хлора во втором положении и гетероцикла в третьем положении циклопентенонового кольца [7].

Принимая во внимание способность природного ПГЕ₁ проявлять защитные свойства *in vivo* и *in vitro*, целью настоящей работы явился поиск гепатопротекторов простаноидного типа в ряду аналогов 11-дезоксипГЕ₁ с модифицированной ω-цепью.

Методы исследования. Анализ функциональной активности простаноидов был выполнен с использованием природного 11-дезоксипГЕ₁ и 7 его синтетических аналогов: **ТЯ-227** – метиловый эфир 13,15-(3', 5'-изоксазол)-9-оксо-15-фенил-16,17,18,19,20-пентанорпростановой кислоты; **ТЯ-240** – метиловый эфир 13,15-(3',5'-изоксазол)-9-оксо-простановой кислоты; **ТЯ-246** – метиловый эфир 13-амино-13,14-дегидро-9,15-диоксопростановой кислоты; **ТЯ-239-1** – метиловый эфир 13-амино-13,14-дегидро-9,15-диоксо-15-фенил-16,17,18,19,20-пентанорпростановой кислоты; **ТЯ-263** – метиловый эфир 13,15-(7а-метокси-4-оксо-3а,4,5,6,7,7а-гексагидробензо[d]-изоксазол-3-ил)-9-оксо-16,17,18,19,20-пентанорпростановой кислоты; **ТЯ-280** – метиловый эфир 13-амино-13,14-дегидро-14-(циклогександион-2',6'-ил)-15,16,17,18,19,20-гексанорпростановой кислоты; **ТЯ-287** – метиловый эфир 13,15-(3',5'-изоксазолино)-9-оксо-15-(N-пирролидон-2''-ил)-16,17,18,19,20-пентанорпростановой кислоты. Указанные соединения были синтезированы и предоставлены для исследований Лабораторией химии простагландинов ИБОХ НАН Беларуси.

Оценка цитопротекторного действия простаноидов выполнялась на клеточной модели поражения печени, индуцированного 0,5 % CCl₄, как было описано нами ранее [6].

Результаты и их обсуждение. В контрольной серии экспериментов показано, что действие 0,5 % CCl₄ на гепатоциты печени крыс в течение 3–5 часов характеризуется нарушением проницаемости плазматических и внутриклеточных мембран, проявляющейся в утечке ЛДГ, ГДГ, кислой фосфатазы из цитозоля, митохондрий и лизосом, соответственно. Этот процесс сопровождается снижением уровня восстановленных SH-групп и значительным накоплением триеновых конъюгатов в клеточных мембранах, что хорошо согласуется с данными литературы [8]. Обработка клеток 11-дезоксипГЕ₁ в концентрациях 10⁻¹⁰–10⁻⁶ моль/л спустя 30 минут после добавления исследуемого токсиканта, вызывает развитие дозозависимого защитного эффекта. Максимальный эффект для 11-дезоксипГЕ₁ наблюдается в

концентрации 10^{-9} моль/л. Утечка ЛДГ, ГДГ и кислой фосфатазы, обусловленная действием CCl_4 , снижается в присутствии данного ПГ на 46,5; 45,9 и 20,5 %, соответственно.

Оценка цитопротекторного действия исследуемых простаноидов позволила установить наличие у большинства из них выраженного защитного действия, проявившегося в концентрации 10^{-7} моль/л (ТЯ-280, ТЯ-287, ТЯ-246), 10^{-8} моль/л (ТЯ-240) и 10^{-9} моль/л (ТЯ-227). По силе протекторного действия, оцененного по способности ПГ предотвращать утечку ЛДГ из цитозоля гепатоцитов, исследуемые соединения образуют следующий ряд активности:

ТЯ-227 > 11-дезоксипгЕ₁ > ТЯ-287 > ТЯ-240 > ТЯ-280 > ТЯ-246 > ТЯ-239 > ТЯ-263.

Аналогичные результаты были получены при анализе возможности предотвращения простаноидами выхода кислой фосфатазы – из лизосом и ГДГ – из митохондрий гепатоцитов, обработанных CCl_4 .

Таким образом, наиболее выраженным эффектом обладало соединение ТЯ-227, снижавшее цитотоксический эффект CCl_4 на 69 %. Необходимо отметить, что эффект данного аналога превышал защитное действие природного 11-дезоксипгЕ₂ более, чем на 20 %. Структурная особенность данного 11-дезоксипростаноида заключается в наличии у него фенильного радикала, соединенного в 15 положении ω -цепи с кольцом изоксазола. Действие аналогов ТЯ-287, ТЯ-280 и ТЯ-240, обладающих соответственно N-пирролидольной структурой при C_{15} , циклогександиольным радикалом при C_{14} или незамещенной ω -цепью, было выражено слабее и составило 38,1; 27 и 24,5 % к эффекту CCl_4 , соответственно. Аналоги ТЯ-239 и ТЯ-263 достоверного эффекта не проявили.

Защитное действие простаноидов коррелировало с их способностью подавлять накопление триеновых конъюгатов в мембранах обработанных CCl_4 клеток, причем в присутствии аналога ТЯ-240 уровень триеновых конъюгатов в обработанных клетках соответствовал уровню контроля.

Заключение. В ходе выполнения настоящей работы проанализирована цитопротекторная активность 8 аналогов пгЕ₁, выявлен достоверный защитный эффект экзогенного 11-дезоксипгЕ₁ и его аналогов ТЯ-227, ТЯ-287, ТЯ-240, ТЯ-280 в клеточной модели повреждения печени, индуцированного CCl_4 . Обнаружен синтетический 15-фенилсодержащий простаноид, защитное действие которого достоверно превосходит эффект природного прототипа. Реализуемое простаноидами цитопротекторное действие реализуется путем снижения свободнорадикальных процессов в клеточных мембранах гепатоцитов.

Структура данных соединений может быть взята за основу для синтеза простаноидов нового поколения, обладающих гепатопротекторной активностью.

Литература

1. Ажгихин И.С. Простагландины. – М.: Медицина, 1978. – 416 с.
2. Шульцев Г. П. Простагландины и их клиническое значение. – М.: Минздрав СССР, 1983. – 12 с.
3. Экспериментальное исследование антисекреторной и противоязвенной активности ($\pm$) 15 α -ОН-11-дезоксипгЕ₁ / З.А. Атаре [и др.] // Фармакол. и токсикол. – 1998. – № 3. – С. 64–67.
4. Antiproliferative prostaglandins activate heat shock transcription factor / C. Amici [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1992. – V.89. – P.6227–6231.
5. Биорегуляторы: синтез и применение / Под ред. акад. Ф.А. Лахвича. – Минск: Навука, 2003. – 97 с.
6. Hubich A. I., Bondar A. Y., Kastsiuk T. U., et al. Hepatoprotective action of prostaglandin A₂ analogs under CCl_4 -induced liver injury *in vitro* // Hepatol. Res. – 2007. – V.37. – № 6. – P.412–426.
7. Губич О.И., Мосиенко В.В., Гималова Ф.А. и др. Вовлеченность антиоксидантной системы, цАМФ- и Ca^{2+} -зависимых путей сигнальной трансдукции в реализации цитопротекторных свойств циклопентеноновых простаноидов группы А в условиях индуцированного CCl_4 повреждения гепатоцитов *in vitro* // Труды Бел. гос. ун-та. – 2007. – Т.2. – С.121–130.
8. Weber W.D., Boll M., Stampfl A. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model // Crit. Rev. Toxicol. – 2003. – V.33, № 2. – P.105–136.