

Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизма их действия

© Коллектив авторов, 2006

Э. П. Серебряков¹, Г. М. Жданкина¹, Г. В. Крышталь¹, А. Н. Орехов²,
В. В. Тертов², Л. В. Филатова²

АНТИАТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА 4-(2,6-ДИМЕТИЛГЕПТИЛ)- И 4-(2,6,10-ТРИМЕТИЛУНДЕЦИЛ)БЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ И ИХ АМИДОВ

¹ Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, Москва (ИОХ РАН);

² Институт экспериментальной кардиологии МЗ РФ, Москва (ИЭК МЗ РФ)

Синтезированы и протестированы *in vitro* два полиольных и два N-(β-аминоэтил)амида 4-(2,6-диметилгептил)бензойной кислоты (I), а также два полиольных амида (2,6,10-триметилундецил)бензойной кислоты (II). Эти амиды не снижают накопления избыточного холестерина в культуре гладкомышечных клеток (КГМК) из склеротической бляшки аорты, хотя полиольные амиды кислоты I тормозят биосинтез белка в этой культуре. В гомогенате печени человека (ГПЧ) амиды кислоты I ускоряют катализируемый холестеринэстеразой гидролиз холестерилпальмитата. Кислота I проявляет антиатеросклеротические свойства как в КГМК, так и в ГПЧ, а кислота II и ее амиды в обеих системах неэффективны.

Указанные в заглавии кислоты и иные аропреноидные кислоты с насыщенной нор-полипренильной цепью, а также их бифильные амиды эффективно нормализуют содержание “общего холестерина” ($\text{Chol}_2 = \text{ChOH} + \text{ChOCOAlk}$, где ChOH – холестерин, ChOCOAlk – сложные эфиры холестерина с жирными кислотами) в плазме крови крыс, получавших холестериновую диету [1]. Механизм их антиатеросклеротического действия не выяснен.

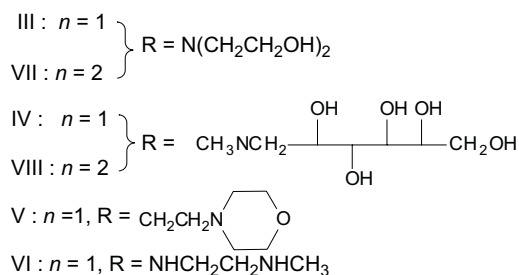
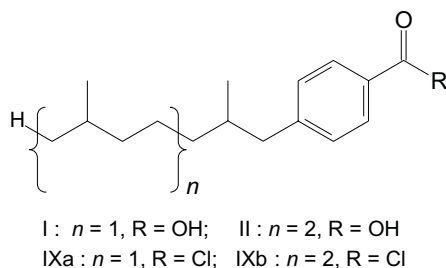
Используя разработанный ранее удобный путь синтеза аропреноидных кислот [2, 3], мы получили из 4-(2,6-диметилгептил)бензойной кислоты I новые полигидроксильные амиды (III, IV) и (β-аминоэтил)амиды (V, VI), а из 4-(2,6,10-триметилундецил)бензойной кислоты II — известный амид VII (см. [3]) и глюкамид VIII. Целью данной работы было изучить действие этих соединений на культуру гладкомышечных клеток склерозированной аорты человека [4, 5] и катализируемый холестеринэстеразой печени человека (ХЭПЧ) гидролиз эфиров холестерина (ChOCOAlk) *in vitro* [6, 7]. Ожидалось, что сопоставление полученных *ex*

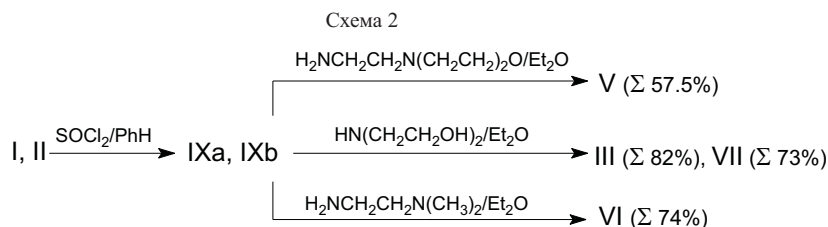
vivo результатов с данными о влиянии аропреноидных кислот и амидов на содержание Chol_2 в плазме крови крыс поможет пониманию механизмов терапевтического действия этих аропреноидов (см. схему 1).

Синтез бифильных амидов. Рацемические ди-(β-гидрокси)этиламиды III и VII, (β-морфолино)этиламид V и (β-диметиламино)этиламид VI получали, превращая кислоты I и II в соответствующие хлорангидриды (IXa или IXb), которые без дальнейшей очистки обрабатывали соответствующим амином в сухом Et₂O (см. схему 2).

Более гидрофильные N-метил-D-глюкамиды IV и VIII (смесь соответственно двух или четырех диастереомеров) получали по аналогии с методикой [8], обрабатывая кислоту I или II этилхлороформатом в присутствии пиридина, а затем прибавляя образовавшийся смешанный ангидрид (Xa или Xb) к N-метил-D-глюкамину. В отличие от методики [8], при обработке реакционной массы во избежание потерь бифильного глюкамида VIII кислотную водную фазу нейтрализовали сухим K₂CO₃ (см. схему 3).

Схема 1





Влияние кислот (I, II) и амидов (III – VIII) на содержание внутриклеточного холестерина и синтез белка в первичной культуре гладкомышечных клеток из атеросклеротических бляшек аорты. В отличие от кислоты I, бифильные амиды II – V не снижают содержания внутриклеточного Chol_2 в культуре склерозированных клеток аорты. При этом полигидроксильные амиды III, IV и аминокамиды V, VI различаются по характеру их влияния на синтез клеточного белка в культуре. В концентрации 10^{-4} моль/л амиды III и IV снижают включение ^{14}C -лейцина в гладкомышечные клетки соответственно на 38 и 47%, не вызывая их гибели, тогда как аминокамиды V и VI цитотоксичны, что проявляется в резком уменьшении числа клеток в культуре за время инкубации и в изменении их формы.

При пероральном введении кислот I или II крысам последняя снижает содержание холестерина в плазме крови сильнее, чем кислота I (соответственно на 28 и 21% от контроля) [1]. При моделировании же гиполипемического эффекта *in vitro* в культуре клеток аорты эффективное снижение уровня Chol_2 вызывает только кислота I. Кислота II в малых концентрациях неэффективна, а в концентрации 10^{-4} моль/л проявляет цитотоксический эффект. Так же слабо влияние кислоты II на синтез внутриклеточного белка (см. табл. 1).

Сходная ситуация наблюдается при сравнении амидов III, IV и VII, VIII. Описанные ранее [1] амиды кислоты I снижают содержание Chol_2 в плазме крови на 17 – 18% (данных о соответствующей активности амидов кислоты II нет). В культуре клеток аорты биосинтез внутриклеточного белка ингибируют лишь амиды III, IV, а эффекты амидов VII и VIII статистически неотличимы от контроля (табл. 1).

Расхождение эффектов кислот I и II или их амидов в опытах *in vivo* и *in vitro*, вероятно, обусловлено разной биохимией и топологией путей реализации антиатерогенного эффекта в интактном организме. Поскольку в случае кислоты I и её нейтральных амидов III и IV результаты опытов в культуре клеток аорты не противоречат данным [1] о влиянии этой кислоты и её бифильных амидов на содержание Chol_2 в плазме крови живых крыс, можно предположить, что антиатерогенный

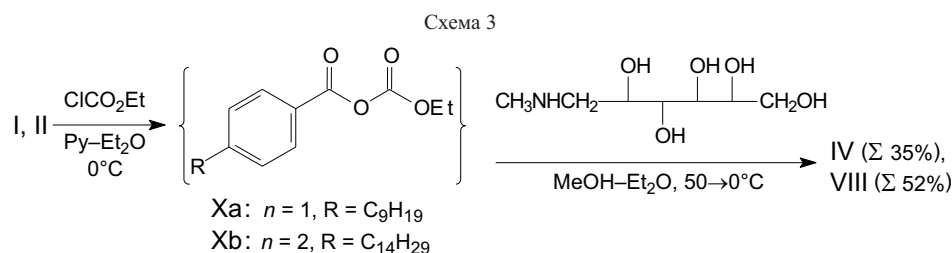
эффект этих соединений связан с прямым торможением ферментов в системах биосинтеза свободного холестерина (ChOH) и/или клеточного белка.

Влияние кислот I, II и их амидов III – VI, VIII на эффективность катализируемого ХЭПЧ гидролиза $[\text{}^3\text{H}, \text{}^{14}\text{C}]$ -холестерилпальмитата. Медикаментозная терапия атеросклероза с помощью статинов сопровождается параллельным угнетением биосинтеза Q_{10} и зависящих от него метаболических процессов, что приводит к развитию серьезных патологий [9 – 11]. Более щадящим вариантом представляется оптимизация соотношения “ Chol_2 в плазме крови/ ChOH во фракции липопротеинов высокой плотности (ЛВП)” до ~3,5 [12, 13]. Этого можно достичь, регулируя скорость гидролиза ChOCOAlk в липопротеинах крови путём повышения активности холестеринэстеразы.

Недавно установлено [14], что некоторые ациклические изопреноидные кислоты эффективно активируют ХЭПЧ *in vitro*. Поэтому способность аропреноидов I и II активировать ХЭПЧ интересна не только в аспекте их механизма действия, но и с точки зрения зависимости активности фермента от структуры его изопреноидного активатора.

Способность кислот I и II ускорять ферментативный гидролиз ChOCOAlk определяли по упрощенной методике Стокке (сравни [6, 7]), используя сумму ХЭПЧ, остающихся в цитоплазматическом экстракте печени человека после отделения фракции ядер и клеточных осколков. Контролируемый ХЭПЧ гидролиз изотопно-меченого холестерилпальмитата проводили при pH 6,0 (на пике гидролитической активности ХЭПЧ). Активность ХЭПЧ определяли по количеству ChOH , образовавшегося за время инкубации субстрата с гомогенатом печени, и количеству оставшегося $\text{ChOCO}^n\text{C}_{15}\text{H}_{31}$ (нмоль/мкг белка $\times \text{ч}^{-1}$) в отсутствие и в присутствии аропреноидных кислот I и II ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л). Результаты представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, кислота I и четыре ее бифильных амида значимо (в ~2 – 2,5 раза, $p < 0,05$) ускоряют катализируемый ХЭПЧ гидролиз $\text{ChOCO}^n\text{C}_{15}\text{H}_{31}$. В то же время кислота II и ее N-метил-d-глюкамид VIII не оказывают статистически значимого влияния на гид-



ролитическую активность ХЭПЧ (возможно, в случае кислоты II происходит слабое торможение гидролиза). Итак, расхождение антиатерогенных свойств кислот I и II *in vitro* проявляется и в этом биотесте.

Экспериментальная химическая часть

ГЖХ-анализы выполнены на приборе ЛХМ-8 МД-5 (колонка $1,4 \times 0,003$ м, стекло; 5% SE-30 на хроматоне N-AW-DMCS; пламенно-ионизационный детектор; газ-носитель – N_2). ТСХ-анализ: пластины Silufol с твердым слоем SiO_2 , проявитель – пары I_2 . Колоночная хроматография: силикагель L (40 – 100 мкм, Чехия). ПМР-спектры (все — для растворов в $CDCl_3$) сняты на приборах “Bruker WM-250” и “Bruker AM-300” (250 и 300 МГц). Кислота I (т.пл. 73 – 74 °С, иглы из $MeOH-H_2O$) получена по способу [15]; получение кислоты II и её амида VII описано в работе [3]. Амиды III-VIII получены с использованием аминов, приобретенных у фирм Fluka (Швейцария) и Astos (Бельгия).

Амиды III, V, VI. К раствору кислоты I (1,26 г, 5,1 ммоль) в 8 мл абс. PhH добавили 0,45 мл перегнанного $SOCl_2$ (0,76 г, 6,2 ммоль) и смесь кипятили 45 мин под закрытым от влаги ($CaCl_2$) холодильником. Летучие продукты отогнали в роторном испарителе (60 °С (баня)/25 мм) до постоянного веса остатка, остаток (хлорангидрид IXa) разбавили абс. Et_2O до общего объёма 9,0 мл. Раствор распределили поровну в три колбы; 3 мл раствора IXa соответствуют 0,42 г (1,69 ммоль) исходной кислоты I. В охлаждаемые льдом колбы (0 ± 2 °С) при быстром перемешивании (магнитная мешалка, 1500 об/мин) добавляли из пипетки соответственно, 0,32 мл диэтанолamina (0,35 г, 3,33 ммоль), 0,45 мл N-(2-аминоэтил)морфолина (0,44 г, 3,43 ммоль) или 0,35 мл N-метил-1,3-пропилендиамина (0,30 г, 3,41 ммоль). Реакционные смеси перемешивали 30 мин, контролируя полноту процесса с помощью метода ТСХ. Избыток амина удаляли соляной кислотой (1 N, 3×2 мл). Кислую водную фазу в случае диола III промывали насыщенными водными растворами $NaHCO_3$ и $NaCl$, а в случае аминокамидов V и VI её нейтрализовали сухим K_2CO_3 и промывали рассолом. Экстракты нейтрализованных водных фаз экстрагировали перегнанным Et_2O , объединяли их с соответствующими нейтральными органическими фазами, сушили ($MgSO_4$), и упаривали в вакууме (50 °С/10 мм) до постоянного веса остатков. Хроматографией на колонке SiO_2 (элюент — $MeOH/$ сухой $CHCl_3$, 5:95) выделяли амиды III, V или VI в виде однородных по данным ТСХ, бесцветных вязких масел. Судя по спектрам ПМР, они свободны от примесей веществ иной структуры.

N-Ди-(β-гидроксипропило)этил[4-(2,6-диметилгептил)]-бензамид (III). Выход 202 мг (35,4%). Спектр ПМР (δ, м.д.): 0,85 (д, 3H, J 6,7 Гц); 0,87 (д, 6H, J 6,7 Гц); 1,3 – 1,5 м.д. (м, 6H); 1,55 – 1,90 (м, 2H); 2,35 (ушир. дд, 1H, $ArCH_2CH$); 2,65 (ушир. дд, 2H, CH_2N); 3,20 – 4,0 (м, 6H, $NCH_2 + 2CH_2OH$), 3,63 (с, ~1H, OH); сигнал накладывается на предшествующий мульти-

плет; 5,15 (ушир. с, ~1H, OH ... O=C); 7,22 (В-часть A_2B_2 системы, 2H, J 9 Гц); 7,83 (А-часть A_2B_2 системы, 2H, J 9 Гц).

N-(β-Морфолино)этил[4-(2,6-диметилгептил)]-бензамид (V). Выход 503 мг (82%). Спектр ПМР (δ, м.д.): 0,80 (д, 3H, J 6,7 Гц); 0,86 (д, 6H, J 6,7 Гц); 1,2 – 1,5 м.д. (м, 6H); 1,55 – 1,90 (м, 2H); 2,35 – 2,85 м.д. (перекрывающиеся мультиплеты, 6H, $ArCH_2CH$ и NCH_2); 3,4 – 3,7 м.д. и 3,6 – 3,85 м.д. (частично перекрывающиеся мультиплеты в соотношении 1:2, 6H, NCH_2 и CH_2O); 6,73 м.д. (ушир. с, 1H, $NHCO$); 7,2 м.д. (В-часть A_2B_2 системы, 2H, J 9 Гц); 7,65 м.д. (А-часть A_2B_2 системы, 2H, J 9 Гц).

Таблица 1
Влияние кислот I и II и их амидов на содержание клеточного ChOH и синтез клеточного белка в культуре гладкомышечных клеток из аорты человека.

Вещество	Концентрация (моль/л)	Содержание ChOH (µг/мг белка клеток)	Включение ^{14}C -лейцина (dpm/мг белка клеток)
I	10^{-6}	103 ± 6	Не исследовалось
	10^{-5}	97 ± 5	
	10^{-4}	80 ± 4 (*)	
	0 (контроль)	106 ± 5	
III	10^{-6}	75 ± 4	–
	10^{-5}	74 ± 6	979 ± 22
	10^{-4}	82 ± 4	625 ± 21 (*)
	0 (контроль)	72 ± 3	1016 ± 70
IV	10^{-6}	91 ± 3	–
	10^{-5}	85 ± 5	803 ± 35
	10^{-4}	96 ± 6	463 ± 42 625 ± 21 (*)
	0 (контроль)	91 ± 6	878 ± 41
V	10^{-6}	102 ± 9	–
	10^{-5}	92 ± 4	834 ± 21
	10^{-4}	Цитотоксичная концентрация	Цитотоксичная концентрация
	0 (контроль)	91 ± 6	878 ± 41
VI	10^{-6}	94 ± 9	–
	10^{-5}	89 ± 8	809 ± 14
	10^{-4}	Цитотоксичная концентрация	Цитотоксичная концентрация
	0 (контроль)	91 ± 6	878 ± 41
II	10^{-6}	68 ± 2	–
	10^{-5}	75 ± 2	971 ± 40
	10^{-4}	Цитотоксичная концентрация	Цитотоксичная концентрация
	0 (контроль)	72 ± 3	1016 ± 70
VII	10^{-6}	–	–
	10^{-5}	66 ± 4	983 ± 45
	10^{-4}	78 ± 8	Цитотоксичная концентрация
	0 (контроль)	72 ± 3	1016 ± 70
VIII	10^{-6}	–	–
	10^{-5}	69 ± 4	729 ± 19
	10^{-4}	Цитотоксичная концентрация	Цитотоксичная концентрация
	0 (контроль)	72 ± 3	878 ± 42

* Значимое отличие от контроля ($p < 0.05$).

N-(β-Диметиламино)этил[4-(2,6-диметилгептил)]-бензамид (VI). Выход 400 мг (74%). Спектр ПМР (δ, м.д.): 0,83 (д, 3H, J 6,7 Гц); 0,87 (д, 6H, J 6,7 Гц); 1,2 – 1,5 м.д. (м, 6H); 1,55 – 1,90 (м, 2H); 2,25 м.д. (с, 6H, N(CH₃)₂); 2,5 м.д. (м, 2H, J 7 Гц, NCH₂); 3,5 м.д. (к, 2H, J 7 Гц, NCH₂); 6,8 м.д. (ушир. с, 1H, NHCO); 7,2 м.д. (В-часть A₂B₂ системы, 2H, J 9 Гц); 7,7 м.д. (А-часть A₂B₂ системы, 2H, J 9 Гц).

N-Метил-D-глюкамиды IV и VIII. К охлаждаемому льдом (0 ± 2 °С) раствору 1 ммоль кислоты I (248 мг) или кислоты II (318 мг) в смеси абс. Et₂O (1,0 мл) и сухого пиридина (103 мг, 1,3 ммоль) при быстром перемешивании прибавляли 0,14 мл EtOCOSl (123 мг, 1,13 ммоль) и перемешивали 10 мин. Раствор образовавшегося смешанного ангидрида (Ха или Хб) и суспензию [РуН]Cl разделяли на пористом стеклянном фильтре, колбу ополаскивали порцией абс. Et₂O (1,0 мл), которой затем промыли осадок [РуН]Cl на фильтре. Эфирный раствор Ха или Хб поступал в предварительно приготовленный (65 °С, 0,5 ч) раствор 195 мг N-метил-D-глюкамина (1 моль) в 1,5 мл абс. MeOH; во время прикапывания температуру метанольного раствора поддерживали при 50 °С. Смесь реактантов в метанольно-эфирной среде оставляли на 1 ч при 20 – 25 °С, а затем на 12 ч в холодильнике (4 °С). Надосадочную жидкость декантировали с тонкой пленки кристаллов ([РуН]Cl и остаточный N-метил-D-глюкамин) и концентрировали в роторном испарителе. Аморфный остаток растворяли в абс. Et₂O (2,0 мл), раствор промывали 1 N раствором HCl (2 × 0,5 мл). Кислую водную фазу нейтрализовали насыщенным водным раствором NaHCO₃ (при получении амида IV) или сухим K₂CO₃ (при получении амида VIII), а органическую фазу промывали насыщенным раствором NaCl, сушили (MgSO₄), фильтровали и упаривали в вакууме до постоянного веса. Хроматографией на колонке SiO₂ (элюент — MeOH/сухой CHCl₃, 5:95) выделяли амиды IV или VIII в виде однородной по данным ТСХ, бесцветной твердой пены. Спектры

ПМР не содержали сигналов от веществ с иной структурой.

N-(D-глюко-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)-N-метил[4-(2,6-диметилгептил)]бензамид (IV). Выход 68 мг (35%). Спектр ПМР (δ, м.д.): 0,85 (д, 3H, J 7 Гц); 0,89 (д, 6H, J 7 Гц); 1,3 – 1,5 м.д. (м, 6H); 1,5 – 1,9 (м, 2H); 2,35 – 2,6 (м, 2H, ArCH₂CH); 2,83 (с, 3H, O=CNCCH₃); 3,12 (м, 2H, O=CNCCH₂); 3,4 – 4,05 (м, 6H, CH₂OH + 4CHOH), 3,8 (с, ~1H, OH; сигнал накладывается на предшествующий мультиплет); 4,75 (ушир. с, ~1H, OH ... O=C); 5,6 – 6,3 (шир. с, 3H, 3 OH); 7,22 (В-часть A₂B₂ системы, 2H, J 9 Гц); 7,78 (А-часть A₂B₂ системы, 2H, J 9 Гц).

N-(D-глюко-2,3,4,5,6-пентагидроксигексил)-N-метил[4-(2,6,10-триметилундецил)]бензамид (VIII). Выход 257,4 мг (52%). Спектр ПМР (δ, м.д.): 0,89 (д, 3H, J 7 Гц); 0,92 – 0,96 (узк. м, 9H, J 7 Гц); 1,3 – 1,9 м.д. (м, 14H; 6CH₂ + 2CH); 2,35 – 2,6 (м, 2H, ArCH₂CH); 2,83 (ушир. с, 3H, O=CNCCH₃); 3,18 (м, 2H, O=CNCCH₂); 3,42 – 4,0 (м, 6H, CH₂OH + 4CHOH), 4,25 (с, ~1H, OH); 4,75 (ушир. с, ~1H, OH ... O=C); 5,8 – 6,5 (ушир. с, 3H, 3 OH); 7,19 (В-часть A₂B₂ системы, 2H, J 8 Гц); 7,73 (А-часть A₂B₂ системы, 2H, J 8 Гц).

Экспериментальная биологическая часть

Опыты в культуре гладкомышечных клеток аорты. Культуру субэндотелиальных гладкомышечных клеток, выделенных из атеросклеротических бляшек аорты человека, готовили по методикам [4, 16]. Биоматериал, полученный в разное время при вскрытии тела не госпитализированных жертв острого инфаркта миокарда (мужчины в возрасте от 45 до 60 лет), обрабатывали через 2 – 3 ч после наступления смерти. Участки внутренней выстилки аорты, при макроскопическом исследовании которых не выявлялось посторонних патологических изменений, инкубировали 3 – 4 ч с коллагеназой (Type VII, Sigma, США), гладкомышечные клетки в лизате идентифицировали по характерному взаимодействию с моноклональными антителами NHF 35 ([17]), и культивировали на среде, содержащей плазму эмбриональной крови теленка (10%), глутамин и антисептик. Соединения I – VIII прибавляли в первичную 7-дневную культуру в концентрациях 10⁻⁴ М, 10⁻⁵ М и 10⁻⁶ М. Инкубацию проводили при 37 °С в течение 24 ч, клетки отделяли и промывали культуральной средой, и по известной методике [4] определяли внутриклеточный Chol_Σ. На этой же культуре изучали влияние соединений II – VI и VIII на интенсивность синтеза клеточного белка, которую определяли по включению [¹⁴C]-лейцина (Amersham, Англия) по аналогии с методикой [4].

Гидролиз [³H,¹⁴C]-холестерилпальмитата в присутствии холестеринэстеразы in vitro. Биопсии печени были взяты у трех пациентов, перенесших операции в брюшной области под общим наркозом. Морфологическое исследование и микроскопический анализ не выявили патологических изменений тканей печени. Кусочек печени с удаленной капсулой (100 мг) растирали в гомогенизаторе с раствором сахарозы

Таблица 2

Влияние кислот I, VIII и амидов II – V, IX на гидролиз изотопно-меченого холестерилпальмитата in vitro в присутствии холестеринэстеразы печени человека^a.

Вещество (1 · 10 ⁻⁴ моль/л)	Активность ХЭПЧ (нмоль/мг белка/ч) ^b	Прирост активности ХЭПЧ (% от контроля)
I	25,4 ± 1,2 (*)	~149
III	27,8 ± 1,0 (*)	~173
IV	20,2 ± 0,5 (*)	~98
V	33,2 ± 1,1 (*)	~225
VI	23,2 ± 1,8 (*)	~127
II	8,8 ± 0,7	
VIII	11,0 ± 1,4	
Контроль	10,2 ± 0,3 нмоль/мг белка/ч	100 ± 2,9

^a Во всех опытах инкубация проводилась при pH 6.0 и 37 °С.

^b Средне-арифметический результат трех определений со стандартной ошибкой измерения.

(*) Значимое отличие от контроля (p < 0.05).

(0,25 моль × л⁻¹), к которому добавляли 0,1 N фосфатный буфер с рН 6,0 из расчета 1 мл буфера на 100 мг печени. Надосадочную фракцию (цитоплазматический экстракт) отделяли от фракции ядер и остатков клеточных мембран центрифугированием (4000 об × мин⁻¹) и хранили при – 18 °С.

Растворы [7-³H]- и [4-¹⁴C]-холестерилпальмитата (Amersham, Англия) в гексане (25 мкл) смешивали с гомогенатом (50 мкл) и фосфатным буфером (50 мкл) и встряхивали в вортексе до образования тонкой эмульсии. К ней прибавляли раствор одного из аропреноидов I – VIII в фосфатном буфере (рН 6) до конечной концентрации активатора 1 × 10⁻⁴ моль·л⁻¹. Инкубацию (37 °С, 1 ч), проводившуюся в тампонируемых пробирках, прерывали добавлением калий-боратного буфера (рН 10) и нескольких капель 4-хлормеркурфенилсульфоновой кислоты.

Продукты инкубации, ChOH и ChOCOⁿC₁₅H₃₁, экстрагировали гексаном (3 мл на 1 мл инкубата), экстракты концентрировали в вакууме, остатки хроматографировали на пластинах с SiO₂, элюируя смесью гексан–Et₂O–AcOH (85:12:3). Зону ChOCOⁿC₁₅H₃₁ и зону ChOH экстрагировали гексаном в вортексе (1 мин) и центрифугировали (4000 об × мин⁻¹). Экстракт декантировали, упаривали до 0,5 мл и добавляли во флаконы со сцинтиллятором ЖС-8. Количество образовавшегося ChOH и остаточного ChOCOⁿC₁₅H₃₁ определяли на жидкостном сцинтилляционном спектрометре РАСВЕТА II (ЛКВ, Финляндия).

Статистическую обработку данных проводили по t-критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Аропреноидная кислота I и её амиды III и IV в предельной концентрации (1 × 10⁻⁴ М) не цитотоксичны и проявляют статистически значимые антиатеросклеротические эффекты в двух (из трех использованных) биотестах *in vitro*. Их “дигидроизопренологи” — кислота II и амиды VII, VIII, в отличие от известных опытов *in vivo*, не оказывают антиатеросклеротического действия ни в одном из рассматриваемых биотестов. Соединения I и III, IV интересны как активаторы ХЭПЧ — потенциальные регуляторы холестерина гомеостаза в плазме крови.

ANTIATHEROSCLEROTIC PROPERTIES OF 4-(2,6-DIMETHYLHEPTYL)- AND 4-(2,6,10-TRIMETHYLUNDECYL)BENZOIC ACIDS AND THEIR AMIDES

E. P. Serebryakov¹, G. M. Zhbankina¹, G. V. Kryshchal¹, A. N. Orekhov², V. V. Tertov², and L. V. Filatova²

¹ Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow;

² Institute of Experimental Cardiology, Russian Cardiological Scientific and Practical Center, Ministry of Public Health, Moscow, Russia

Two amides with polyol-rich moieties and two other analogs with N-(β-aminoethyl) groups, all derived from 4-(2,6-dimethylheptyl)benzoic acid (I), and two polyol amides derived from 4-(2,6,10-trimethylundecyl)benzoic acid (II) were synthesized and tested for antiatherosclerotic activity *in vitro*. None of the amides prevented excessive accumulation of cholesterol in the culture of smooth muscle cells (SMCs) raised from aorta sclerotic plaque, although polyol amides from acid I inhibited protein synthesis in this cell culture. In human liver homogenates (HLHs) all amides obtained from acid I accelerated the cholesterol esterase-catalyzed hydrolysis of cholesteryl palmitate. Acid I displays antiatherosclerotic effects in both SMC and HLH assays, while acid II and its amides proved ineffective in either of these test systems.

Работа выполнена на средства Государственной программы поддержки ведущих научных школ РФ (гранты Президента РФ № 00-15-97347 и № НШ-1802.2003.3), комплексной программы приоритетных научных исследований Президиума РАН на 2001-2002 и 2003 – 2005 годы, а также по Государственному контракту № 41.1.1.401 с Минпромнауки РФ (2002 – 2004 гг.).

С глубоким уважением и благодарностью чтим память важного участника этой работы — Владимира Викторовича Тертова, талантливого российского ученого в области кардиологии и медицинской биохимии.

ЛИТЕРАТУРА

1. K. Nakamoto, T. Suzuki, S. Abe, et al., *Eur. Pat. Appl.* EP 0194693 A1 (1986); *Chem. Abstr.*, **111**, 57300 (1989).
2. Г. В. Крышталь, Г. М. Жданкина и Э. П. Серебряков, *Изв. АН. Сер. хим.*, № 5, 910 – 913 (1993).
3. Г. В. Крышталь, Г. М. Жданкина и Э. П. Серебряков, *Изв. АН. Сер. хим.*, № 12, 2126 – 2129 (1993).
4. A. N. Orekhov, V. V. Tertov, S. A. Kudryashov, et al., *Atherosclerosis*, **60**(1), 101 – 110 (1986).
5. A. N. Orekhov, *Am. J. Cardiol.*, **66**(21), 231–281 (1990).
6. K. T. Stokke, *Biochim. Biophys. Acta*, **270**(1), 156 – 166 (1972).
7. K. T. Stokke, *Biochim. Biophys. Acta*, **280**(2), 156 – 166 (1972).
8. J. E. K. Hildreth, *Biochem. J.*, **207**(2), 363 – 366 (1982).
9. K. Folkers, P. Langsjoen, R. Willis, et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, **87**(22), 8931 – 8934 (1990).
10. A. Palomaki, K. Malminiemi, and T. Metsa-Ketela, *FEBS Lett.*, **410**(2/3), 254 – 258 (1997).
11. B. Wong, W. C. Lumma, A. M. Smith, et al., *J. Leukoc. Biol.*, **69**(6), 959 – 962 (2001).
12. S. H. Taylor, *Am. J. Cardiol.*, **57**, 2G-8G (1987).
13. P. A. Zemel and J. R. Sowers. *Am. J. Cardiol.*, **66**(21), 71 – 121 (1990).
14. Э. П. Серебряков, Г. В. Крышталь, Г. М. Жданкина и др., *Хим.-фарм. журн.*, **40**(1), 23 – 28 (2006).
15. G. D. Gamalevich, E. P. Serebryakov, and A. L. Vlasjuk, *Mendeleeev Commun.*, No. 1, 8 – 9 (1998).
16. A. N. Orekhov, V. V. Tertov, I. D. Novikov, et al., *Exp. Mol. Pathol.*, **42**(1), 117 – 137 (1985).
17. T. Tsukada, D. Tippens, D. Gordon, et al., *Am. J. Pathol.*, **126**(1), 51 – 60 (1987).

Поступила 18.04.05