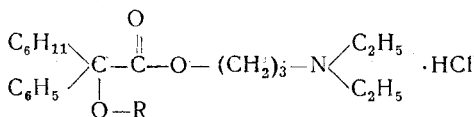


Э. В. ВЛАСЕНКО

ПОИСКИ НОВЫХ ХОЛИНЕРГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ СРЕДИ ПРОИЗВОДНЫХ ЗАМЕЩЕННОЙ УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

На кафедре фармакологии I Ленинградского медицинского института им. И. П. Павлова была обследована серия препаратов, синтезированных Э. Р. Багдасарян в лаборатории О. Л. Мнджояна в Институте тонкой органической химии АН Армянской ССР. Исследования были направлены на поиски активных соединений среди производных диэтиламинопропиловых эфиров α -алкоксифенилциклогексилуксусной кислоты и основывались на сопоставлении активности исследуемых соединений с уже известными холинолитиками. По сравнению с последними испытываемые соединения имели более тяжелые радикалы в кислотной и спиртовой части молекулы:



$\text{R} = -\text{CH}_3, \dots, -\text{C}_7\text{H}_{15}$

Обе части молекулы соединялись тремя метильными группами [1—3, 8—10, 12, 14—18, 21, 22, 27]. Исследуемые соединения представляли собой хлористоводородные соли, так как в соответствии с литературными данными активность хлоргидратов в большинстве случаев значительно выше, чем у других солей того же гомологического ряда [12, 20]. Все препараты являлись третичными аминами и могли легко проникать через гематоэнцефалический барьер в богатые липидами структуры ЦНС. В литературе имеются указания о том, что активность холинолитиков зависит от величины алкильного радикала [25, 26], но недостаточно точно выяснена степень этой зависимости. Имеются некоторые данные, свидетельствующие о том, что удлинение цепочки алкильного радикала приводит вначале к усилению холинолитической активности, а затем к значительному ослаблению (причем никотинолитический эффект преобладает над мускаринолитическим) [13, 25, 26, 29]. В связи с этим было интересно узнать, как изменится холинолитическая активность исследуемых соединений и их изомеров при утяжелении алкильного радикала от группы $-\text{CH}_3$ до $-\text{C}_7\text{H}_{15}$.

Результаты опытов и их обсуждение. Основной задачей работы явилось определение центральных холинолитических свойств испытываемых соединений. Кроме того, определялось влияние указанных веществ на периферическую нервную систему.

Воздействие соединений на Н-холинореактивные системы соматиче-

ских мышц изучалось в опытах на наркотизированных уретаном кошках. С этой целью периферический отрезок перерезанного седалищного нерва раздражался стимулами оптимальной и пессимальной частоты (5—40—100 стим/сек.) посредством погруженных электродов. Ответные биопотенциалы икроножной мышцы отводились иглоьчатыми электродами. После усиления (усилитель переменного тока УБП-01) они регистрировались электронным осциллографом ЭНО-1. Препараты вводились внутривенно в дозах 1—5—10 мг/кг. В этих опытах не было обнаружено существенного сдвига в сторону большей или меньшей частоты, что свидетельствует об отсутствии у исследуемых препаратов курарепоподобной активности. На протяжении почти 20 мин. ответные биопотенциалы в основном не изменили ни своей амплитуды, ни латентного периода по сравнению с контролем (рис. 1). Для проверки в конце некоторых опытов внутривенно вводился прокурар (0,25 мг/кг), который в течение 25—35 сек. вызывал блок мионевральной передачи.

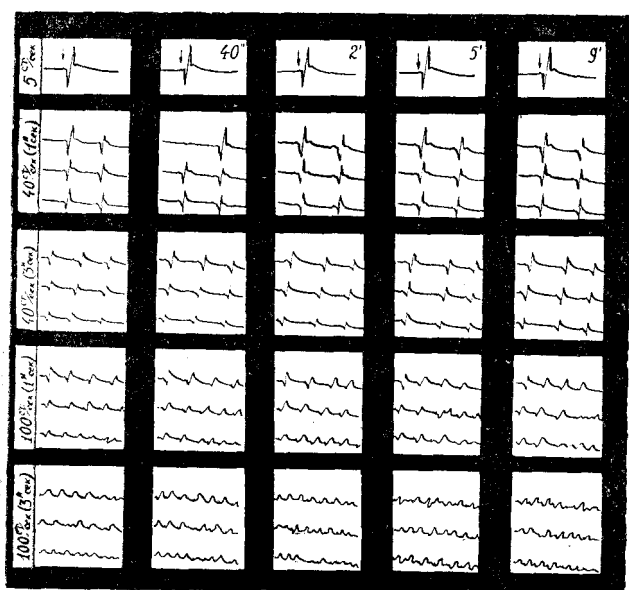


Рис. 1. Влияние третичных аминов на никотиночувствительные структуры соматических мышц (икроножная мышца кошки). Регистрация биопотенциалов при раздражении периферического конца перерезанного седалищного нерва стимулами различной частоты: 5—40—100 стим/сек. Записывались 1-я и 3-я сек. раздражения через 40 сек., 2, 5 и 9 мин. Исследовался препарат с радикалом — C_3H_7 в дозе 10 мг/кг при внутривенном введении.

О действии препаратов на проводимость в верхнем шейном ганглии кошки судили по изменению величины сокращения мигательной перепонки глаза при раздражении преганглионарного волокна симпатического нерва [20]. Препараты испытывались в дозах 0,1—1—5—10 мг/кг при внутривенном введении. В этих опытах кривая оптимальной и пессимальной частоты не выявила заметной ганглиоблокирующей активности препаратов (рис. 2). Дыхание и артериальное давление, а также реакция мигательной перепонки на адреналин на фоне действия веществ сущест-

венно не изменились. Это свидетельствует о том, что испытуемые соединения не оказывают прямого влияния на периферические адренергические системы.

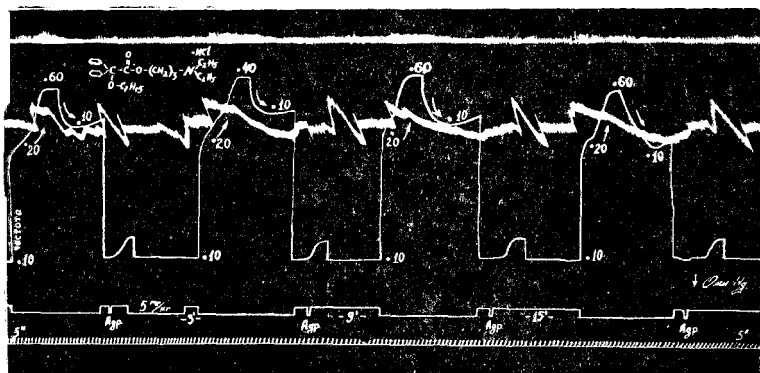


Рис. 2. Влияние третичных аминов на никотиночувствительные структуры вегетативных ганглий (передний верхний шейный симпатический узел кошки). Опыт на наркотизированной уретаном кошке. Сверху вниз: дыхание, артериальное давление, тонус мигательной перепонки глаза, отметка раздражения преганглионарного симпатического волокна стимулами различной частоты, внутривенное введение адреналина (10 мкг) и препарата с радикалом — C_7H_{15} в дозе 5 мг/кг, отметка времени.

Для выяснения действия препаратов на мускариновые рецепторы использовался метод регистрации сокращений изолированной кишки крысы на вводимый стимулятор (ацетилхолин) [31]. Кроме того, для скрининга активных соединений использовалась методика, предложенная Ю. Г. Бобковым (в печати). На кимограмме регистрировались амплитуды сокращений изолированной кишки крысы, вызванные добавлением в питательную жидкость разных концентраций ацетилхолина (рис. 3). За основу брался раствор ацетилхолина в концентрации $4 \cdot 10^{-7}$ г/мл, вызывающий максимальную контрактуру, который последовательно разводился в 2, 4 и 8 раз. От этих концентраций получали контроль. Затем в ванночку добавляли испытуемый препарат и через 1,5 мин. максимальную концентрацию ацетилхолина, после чего кишка промывалась и добавлялся следующий препарат и т. д. В конце опыта опять регистрировалась амплитуда сокращений кишки при добавлении разных концентраций ацетилхолина. Для исследования 10 препаратов требовалось около 60 минут. В наших опытах изучаемые соединения испытывались в концентрациях 10^{-9} , 10^{-8} и 10^{-7} г/мл. Результаты опытов представлены на рис. 4. Наиболее активным оказалось соединение с радикалом — CH_3 .

В других опытах (на тех же тест-объектах) мы попытались выяснить тип антагонизма препаратов с М-холинореактивными системами. С этой целью использовалась методика построения кривой «концентрация — действие». Суть экспериментов заключалась в том, чтобы определить преодолимость холинорецепторов холинолитиками. Если более высокие

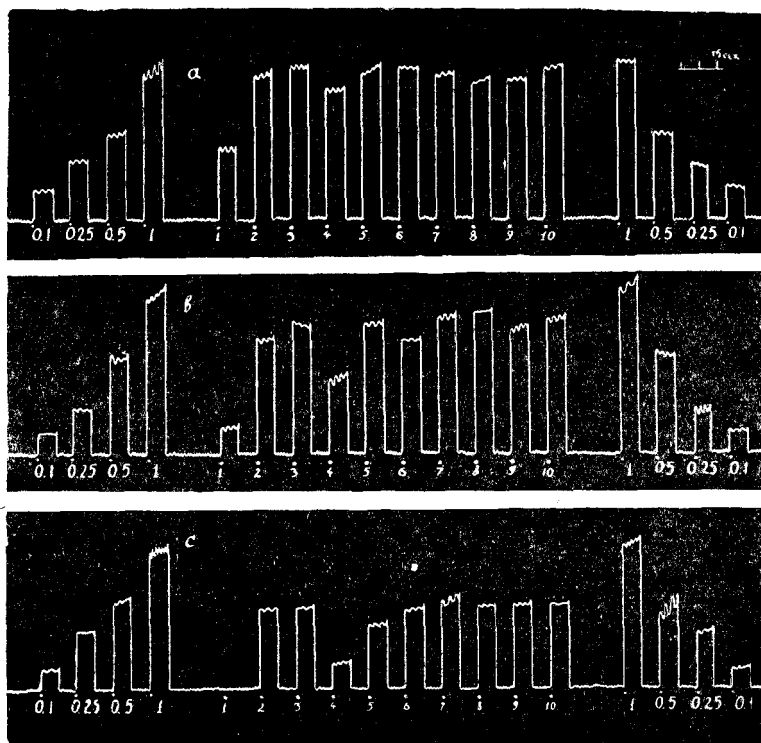


Рис. 3. Влияние испытуемых соединений на мускариночувствительные структуры. Изолированная кишка крысы. (а), (b), (с) — опыты с ацетилхолином на фоне действия препаратов в концентрациях 10^{-9} , 10^{-8} и 10^{-7} г/мл соответственно. Цифрами 1—0,5—0,25—0,1 обозначены концентрации ацетилхолина (контроль) после разведения концентрации $4 \cdot 10^{-7}$ г/мл в 2—4 и 8 раз. Цифры на кимограммах от 1—10—исследуемые препараты в порядке увеличения молекулярного веса.

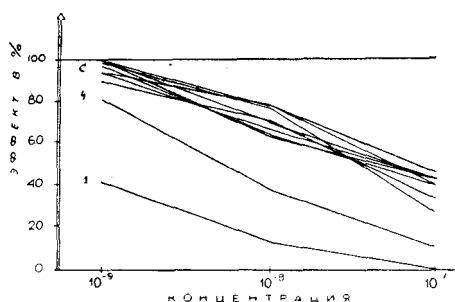


Рис. 4. Изолированная кишка крысы. Кривые «концентрация—действие» ацетилхолина на фоне действия соединения с радикалом CH_3 . (О) — контроль агониста (ацетилхолина). (1) и (3) — препарат в концентрации $1 \cdot 10^{-9}$ М и $3 \cdot 10^{-9}$ М. Цифры на кривых — кумулятивные дозы агониста в контроле (О) и на фоне действия антагонистов.

концентрации агониста (ацетилхолина) полностью снимают литический эффект антагониста (холинолитика), в этом случае можно говорить о конкурентном характере взаимодействия. При этом кривые «концентрация—действие» проходят параллельно контрольной прямой, кото-

рая получена от одного ацетилхолина (на рис. 5 обозначена О), и отмечается сдвиг в сторону более высоких концентраций. Если высота ацетилхолинового максимума на фоне холинолитика сохраняется, имеет

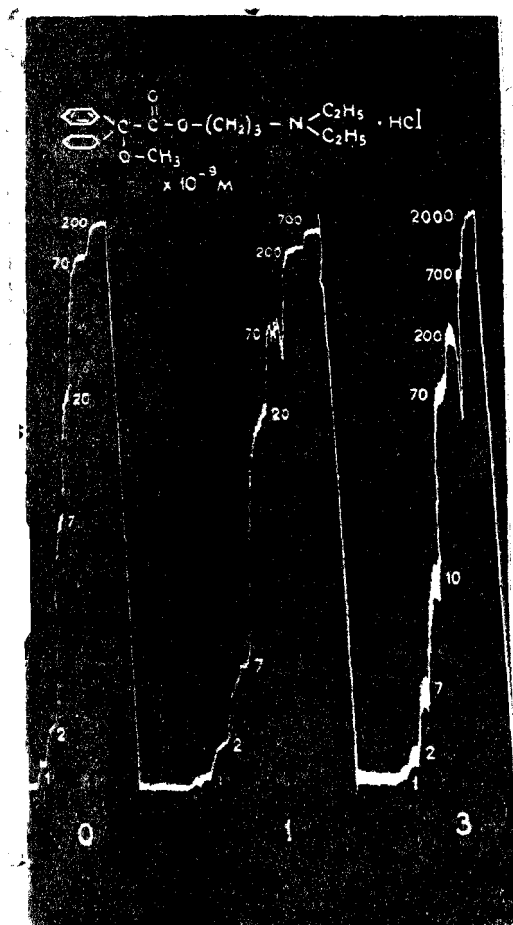


Рис. 5. Предупреждение развития максимальной ацетилхолиновой контрактуры холинолитиками в разведении 10^{-9} , 10^{-8} и 10^{-7} г/мл. (1) — препарат с радикалом— CH_3 , (4) — препарат с радикалом— $\text{C}_3\text{H}_7\text{-iso}$, (С) — остальные соединения.

место конкурентный антагонизм между химическими соединениями и холинореактивными системами. В тех случаях, когда невозможно преодолеть антагонизм между холинолитиком и ацетилхолином, наблюдается пологий сдвиг кривых в сторону высоких концентраций. Высота ацетилхолинового максимума уже не достигается, что представляет собой случай неконкурентного антагонизма [25, 28, 30, 31]. В наших опытах наблюдался случай преодолимости антагонизма между холинолитиками и ацетилхолином, что свидетельствует о конкурентном характере взаимоотношений (рис. 6). Расчеты построения кривой «концентрация—действие» представлены в табл. 1. Данные величины pA_2 —отрицательный логарифм молярной концентрации холинолитика, характеризующий степень сродства препарата к холинорецепторам, приведены в табл. 2. Как

видно из таблицы, величина $ра_2$ соединения с радикалом $—CH_3$ равна 8,84 (средние данные из 10 опытов), что в основном приближается к такому классическому холинолитику, как атропин. В остальных случаях наблюдался спад холинолитической активности по мере утяжеления алкильного радикала.

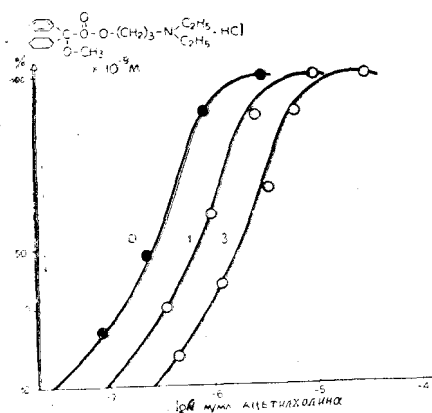


Рис. 6. Конкурентный антагонизм. Кривые „концентрация—действие“ для агониста (ацетилхолина, обозначен О) и для препарата с радикалом $—CH_3$ в концентрации $1 \cdot 10^{-9}$ М и $3 \cdot 10^{-9}$ М (обозначены 1 и 3). По оси ординат — амплитуды сокращений изолированного отрезка кишки крысы, выраженные в процентах; по оси абсцисс — отрицательные логарифмы молярных концентраций агониста (ацетилхолина).

Данная методика представляет в большей мере теоретическую ценность и служит для выяснения интимного механизма действия препарата с доказанным антагонизмом по отношению к выбранному агонисту.

Токсичность соединений выяснялась на белых мышах (самцах) весом в 18—21 г при внутрибрюшинном способе введения. LD_{50} вычислялось по способу Беренса и Беренса-Шлоссера [6]. Испытывался весь ряд соединений. Наименее токсичными оказались соединения с радикалами $—CH_3$, $—C_3H_7$ и $—C_4H_9$ (табл. 1).

На моделях никотиновых и ареколиновых судорог на белых мышах [7, 23] изучалось центральное холинолитическое (противосудорожное) действие препаратов. Оценка холинолитического эффекта производилась в баллах в зависимости от продолжительности ареколинового тремора: более 20 мин.—5 баллов, 15—20 мин.—4 балла и т. д., отсутствие тремора—0 баллов. При подкожном введении ареколина в дозе 25 мг/кг тремор продолжался 25—30 мин. и оценивался в 5 баллов. Как видно из табл. 2, все изучаемые соединения обладают М-холинолитической активностью и не предупреждают никотиновых судорог. Наиболее активным оказалось соединение с радикалом $—C_3H_7$, ED_{50} которого вычислено по методу Литчфильда и Уилкоксона [6]. Средние данные известных холинолитиков (по данным Денисенко [11]) и препарата с радикалом $—C_3H_7$ приводятся в табл. 3. Взятый для сравнения амизил в наших опы-

Таблица 1

Расчеты для построения кривой „концентрация—действие“ препарата с радикалом — CH_3 . Интегральные количества (изолированная кишка крысы)

Приито ацетилхолина моль/м	Кумулятивные дозы ацетилхолина	Количество ацетилхолина моль/ванночку (моль/10 мл)	Количество ацетилхолина в ванночке (моль/мл)	Ig C моль/мл ацетилхолина	Процент сокращения отрезка кишки от ацетилхолинового максимума (контроль)	Процент сокращения отрезка кишки от ацетилхолинового максимума	
						препарат в концентрации 1·10 ⁻⁹ моля	препарат в концентрации 3·10 ⁻⁹ моля
0,1·10 ⁻⁶	1	1·10 ⁻⁷	1·10 ⁻⁸	—8	4,2	0	0
0,2·10 ⁻⁶	2	3·10 ⁻⁷	3·10 ⁻⁸	8,478 = —7,522	8,5	4,2	2,8
0,07·10 ⁻⁵	7	10·10 ⁻⁷ = 1·10 ⁻⁶	1·10 ⁻⁷	—7	25	8,5	4,7
0,2·10 ⁻⁵	20	30·10 ⁻⁷ = 3·10 ⁻⁶	3·10 ⁻⁷	7,478 = —6,522	48	34,2	18
0,07·10 ⁻⁴	70	100·10 ⁻⁷ = 1·10 ⁻⁵	1·10 ⁻⁶	—6	90	60	39
0,2·10 ⁻⁴	200	300·10 ⁻⁷ = 3·10 ⁻⁵	3·10 ⁻⁶	6,478 = —5,522	100	88,5	68,5
0,07·10 ⁻³	700	1·000·10 ⁻⁷ = 1·10 ⁻⁴	1·10 ⁻⁵	—5	—		91
0,2·10 ⁻³	2.000	3·00·10 ⁻⁷ = 3·10 ⁻⁴	3·10 ⁻⁵	5,478 = —4,522	—		100

Таблица 2

Степень сродства препарата к холинорецепторам

Радикалы	Молекулярный вес	ЛД 50	Центральное действие		Периферическое действие					
			на II-холинореактивные системы, никотиновые судороги	на М-холинореактивные системы, ареколиновый тремор в баллах 1,5 мг/кг	на М-холинореактивные системы, изолированная кишка крысы	на Н-холинореактивные системы		на адренорецепторы мигательной перепонки	Противогистаминная активность, смертельная доза (доза препарата в мг/кг)	Анализаторная активность, время действия (доза препарата в мг/кг)
						Соматические мышцы 1—10 мг/кг	Вегетативные ганглии 1—10 мг/кг			
— CH_3	398,04	181	Не эффект.	3	8,84	Не эффект.	Не эффект.	Не эффект.	1/5—7	5/5
— C_2H_5	412,07	173	"	4	7,32	"	"	"		
— C_3H_7	426,00	183	"	0	7,25	"	"	"		
— C_3H_7	426,00	161	"	2,5	7,22	"	"	"		
— C_4H_9	440,13	180	"	3	8,65	"	"	"		
— C_4H_9	440,13	165	"	4	6,18	"	"	"	1/3—5	15/5
— C_5H_{11}	454,16	160	"	5	6,30	"	"	"		
— C_5H_{11}	454,10	167	"	5	6,44	"	"	"		
— C_6H_{13}	468,13	161	"	5	6,75	"	"	"		
— C_7H_{15}	482,22	158	"	5	6,91	"	"	"		
Амизил*	363,9	98	"	0	8,9	"	"	"		
Атропин	325,0									
Этизин										
Морфин	333,2								3—4/ 3—5	30/5

* Доза амизила 1,45 мг/кг.

тах предупреждал ареколиновый тремор в дозе 1,45 мг/кг, что согласуется с данными Денисенко в доверительных границах.

После выделения наиболее активных соединений в дальнейшем более детально исследовались только эти препараты (с радикалами $-\text{CH}_3$ и $-\text{C}_3\text{H}_7$).

На 12 морских свинок изучалась противогистаминная активность препаратов. Гистамин вводился в дозе 5 мг/кг подкожно и вызывал гибель животных в течение 28—30 мин. Активность соединений сравнивалась с этизином, который в дозе 3—5 мг/кг (внутрибрюшинно) предупреждал гибель животных от введения 3—4 смертельных доз гистамина. Было установлено, что препараты с радикалами $-\text{CH}_3$ и $-\text{C}_3\text{H}_7$ обладают антигистаминной активностью (табл. 3).

Т а б л и ц а 3

Средние эффективные дозы веществ, выявленные в опытах на мышах с предупреждением ареколиновых судорог*, и препарата $\text{C}=\text{C}_3\text{H}_7$

Препарат	М. вес	LD_{50}	ED_{50} с доверительными границами	Терапевтическая широта $\text{LD}_{50} : \text{ED}_{50}$
Глицин	383	118	$0,58 \div 0,13$	203
Метамизил	377	95	$0,8 \div 0,19$	118
Амизил	363	98	$1,6 \div 0,22$	61
$= -\text{C}_3\text{H}_7$	425	183	$1,48 \div 0,07$	123

* Данные Денисенко (11).

В опытах на белых мышах изучалось анальгезирующее действие веществ по методу Хафнера [24]. Как видно из табл. 2, у исследованных соединений отмечается определенная анальгезирующая активность.

В ы в о д ы

1. Производные диэтиламинопропиловых эфиров α -алкоксифенилциклогексилуксусной кислоты являются конкурентными М-холинолитиками.

2. Наиболее активным центральным холинолитическим действием обладает препарат с алкильным радикалом $-\text{C}_3\text{H}_7$.

3. Наиболее активным периферическим холинолитическим эффектом обладает соединение с радикалом $-\text{CH}_3$.

4. Соединения малотоксичны и не вызывают существенных изменений со стороны дыхания и артериального давления.

5. Исследованные препараты обладают некоторой противогистаминной и анальгезирующей активностью.

Кафедра фармакологии 1 Ленинградского
медицинского института,
Институт тонкой органической химии
АН АрмССР

Поступило 29.VII 1967 г.

Է. Վ. ՎԼԱՍԵՆԿՈ

**ԽՈՒՐՆՈՒՄՆԻ ԵՄ ՄԻԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՐՈՇՈՒՄՆԵՐԸ ՔԱՅԱԽԱԹՎԻ
ԵՌՓՈԽԱՐԿՅԱԼ ԱՇԱՆՑՅԱԼՆԵՐԻ ՇԱՐՔՈՒՄ**

Ա մ ֆ ո ֆ ու մ

Սույն հոդվածը նվիրված է ալկոբսիֆենիլցիկլոհեքսիլ քաղախաթթվի ամինոէսթերների ֆարմակոլոգիական ազդեցության անալիզին: Առնետների անշատած ազիբի հատվածի, ինչպես նաև արեկոլինային դոզի մոդելի վրա ցույց է տրված այդ միացությունների կենտրոնական և ծայրամասային Մ-խոլինոլիտիկ ազդեցությունը: Նրանք բոլորովին դուրկ են կենտրոնական ու ծայրամասային Ն-խոլինոլիտիկ ազդեցությունից: Այդ միացությունների տոքսիկականությունը և ցավազրկման հատկությունն ուսումնասիրված են սպիտակ մկների վրա:

Ուսումնասիրված հոմոլոգիական շարքում կենտրոնական ու ծայրամասային խոլինոլիտիկ ակտիվությունը առավելապես արտահայտված է այն միացությունների մոտ, որոնց թթվային մասի ալկոբսի ռադիկալը $-C_3H_7$ և $-CH_3$ խումբ է պարունակում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Авакян В. М. Известия АН АрмССР (биол. науки), 14, 9, 73—82, 1961.
2. Аничков С. В., Беленький М. Л. Фармакол. и токсикол., 16, 1, 5—10, 1953.
3. Аничков С. В. В сб.: Новые лекарственные средства в эксперименте и клинике. Тр. Ленинградского сан-гиг. института, Л., 37, 5—14, 1958.
4. Артемьев В. С. Автореферат дисс. на соискание уч. ст. канд. м. н., Л., 1955.
5. Барлоу Р. Введение в химическую фармакологию, изд. И. Л., М., 1959.
6. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта, Л., 1963.
7. Голяховский Н. В. Фармакол. и токсикол., 11, 1, 8—11, 1948.
8. Гусева Е. А., Квитка Н. Я. и др. Фармакол. и токсикол., 4, 426—433, 1965.
9. Денисенко П. П. Вестник АМН СССР, 3, 48—58, 1962.
10. Денисенко П. П. В сб.: Фармакология новых седативных средств и их клиническое применение. Медгиз, Л., 87—94, 1962.
11. Денисенко П. П. Центральные холинолитики. Изд. Медицина, М., 1965.
12. Зеймаль Э. В. В сб.: Физиологическая роль ацетилхолина и изыскание новых лекарственных веществ, Л., 79—107, 1957.
13. Либерман С. С. Фармакол. и токсикол., 6, 19, 10—17, 1956.
14. Либерман С. С. и Илюченко Р. Ю. Фармакол. и токсикол., 24, 4, 432—436, 1961.
15. Магазаник Л. Г. Фармакол. и токсикол., 24, 5, 441—448, 1961.
16. Михельсон М. Я. В сб.: Химия и применение фосфорорганических соединений. Тр. I конференции, изд. АН СССР, 285—300, 1957.
17. Михельсон М. Я. и Магазаник Л. Г. (Michelson M. J., Magazanik L. G.) Physiol. Bohemosov., II, 1:6—13, 1962.
18. Мнджоян А. Л. и Авакян В. М. Известия АН АрмССР (биол. науки), 12, 9, 3—10, 1959.
19. Соколова И. А. В сб.: Физиологическая роль ацетилхолина и изыскание новых лекарственных веществ, 122—125, 1957.

20. Харкевич Д. А. Гауглениарные средства, Медгиз, 1962.
21. Ariens E. I., Van Rossum J. P. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 110, 275—991, 1957.
22. Bovet D., Bovet-Nitti F. Ed. Karger S. A. Bale, 1948.
23. Bovet D., Longo V. G. *J. Pharmacol.*, 109, 1, 22—30, 1951.
24. Haffer F. *Dtsch. med. wscr.*, 55, 731, 1929.
25. Jacobsen S., Sonne E. *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, 2, 135—147, 1955.
26. Jacobsen S., Sonne E. *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, 310—320, 1955.
27. Longo J. P., Luduena, Tullar B. F., Lands A. M. *J. Pharmacol. and Exptl. Therap.*, 117, 1, 29—38, 1956.
28. Mergroth W. R., Lemis R. E., Kuhn W. Z. *J. Pharmacol. et Exptl. Therap.*, 146, 3, 353—358, 1964.
29. Michich E., Prino G., Bonacina F. *Formaco. ed. Scient*, 2, 907—917, 1957.
30. Schild H. O. In: *Symposium on drug antagonism, Pharmacol., Rev.*, 9, 242—246, 1957.
31. Van Rossum J. M. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 143, 3—4, 299—330, 1963.