

А. Л. МНДЖОЯН, М. Г. АМАДЯН, Э. А. ШИРИНЯН, С. Т. ЦОВЬЯНОВА

ВЛИЯНИЕ ЭЗЕРИНА И ПРОЗЕРИНА НА АКТИВНОСТЬ ХОЛИНЭСТЕРАЗ В РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛАХ МОЗГА И СЕРДЦА КРЫС. I

Для выяснения механизма действия лекарственных веществ и целенаправленного синтеза большое значение имеет их способность проникать через гемато-энцефалический барьер (ГЭБ). Вопрос о центральном действии соединений, содержащих в своей молекуле четвертичный атом азота, до настоящего времени не разрешен. Начиная с работ Крум-Брауна и Фразера [23] накопилось много данных, показывающих, что перевод третичного азота в четвертичный ведет к ослаблению или исчезновению прямого центрального действия этих соединений [1, 5, 11, 21, 24, 28].

В литературе имеется немало фактов, свидетельствующих о центральном действии соединений, содержащих в своей молекуле четвертичный атом азота [14—18].

В последние годы появились прямые доказательства проникновения прозерина в мозг. Под влиянием прозерина снижается активность ХЭ в мозгу крыс и морских свинок [8, 9, 19, 27].

Исходя из приведенных данных, целью настоящего исследования явилось изучение в опытах *in vivo* и *in vitro* действия эзерина и прозерина, содержащих в своей молекуле третичный и четвертичный атом азота, на суммарную активность ХЭ в различных отделах мозга и сердца крыс.

Имея ввиду, что эзерин и прозерин используются при лечении двигательных и вегетативных расстройств, их влияние на активность ХЭ изучалось в отделах мозга, входящих в состав кожно-двигательного анализатора крыс: в коре больших полушарий (корковый конец кожно-двигательного анализатора), в зрительных буграх, продолговатом мозгу и гипоталамусе, как высшем вегетативном центре. Из периферических органов была избрана мышечная ткань сердца.

Материал и методика. Опыты проведены на 135 белых крысах обоего пола весом 180—250 г.

Активность суммарной ХЭ—истинной АХЭ (КФ, 3.1.1.7, ацетилгидролаза ацетилхолина) и ложной ХЭ (КФ, 3.1.1.8, ацилгидролаза ацилхолинов) определялась колориметрическим методом Хестрина [26] в модификации Бонтинга [20].

Испытуемые препараты вводили внутривенно в дозе 0,05 мк/кг в 1 мл дистиллированной воды. В контрольных опытах животным вводили дистиллированную воду. После введения указанных препаратов у крыс наблюдалось учащение дыхания и сердечных сокращений. Крыс забивали декапитацией через 15, 30, 45, 60 мин после инъекции эзерина и через 15, 30, 45, 60, 90 мин, 2, 3 и 24 часа после введения прозерина.

В каждой серии было поставлено по 5—6 опытов.

Активность ХЭ в опытных пробах выражали в процентах, контроль принят за 100%.

Результаты опытов и их обсуждение. Поскольку в доступной литературе мы не нашли сведений о детальном распределении активности ХЭ в различных отделах мозга крыс, свое исследование мы начали с разработки этого вопроса. На рис. 1 представлены средние данные, характеризующие распределение суммарной активности ХЭ в различных отделах мозга и сердца в норме у половозрелых крыс.

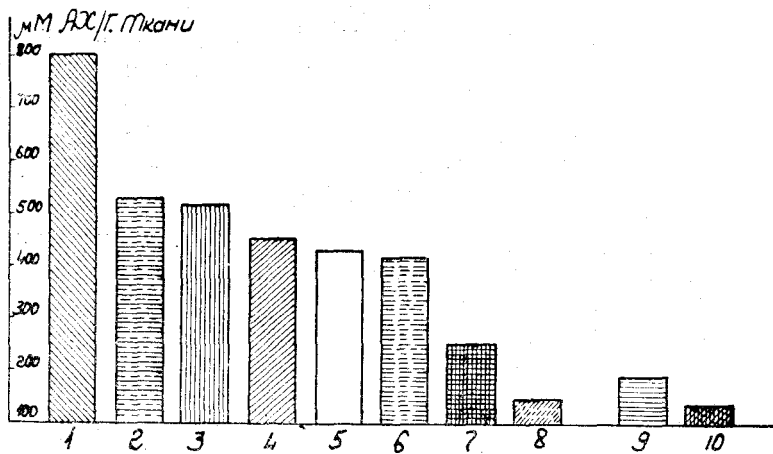


Рис. 1. Активность ХЭ в различных отделах мозга и сердца крыс. По оси абсцисс — слева направо: верхние бугры четверохолмий, гипоталамус, продолговатый мозг, нижние бугры четверохолмий, зрительный бугор, варолиевый мост, кора больших полушарий, кора мозжечка, предсердие, желудочки (1—10). По оси ординат — активность ХЭ (в мкМ гидролизованного АХ 1 г ткани за час).

Активность ХЭ исследуемых гомогенатов выражена в микромолях (мкМ) расщепленного ацетилхолина 1 г ткани за час.

Из результатов 15 опытов этой серии следует, что уровень активности ХЭ в нервной ткани примерно в три раза больше, чем в миокарде (исключение составляет кора мозжечка). Наивысшая активность фермента наблюдается в верхних буграх четверохолмий (804 мкМ/г), намного ниже она в гипоталамусе и в продолговатом мозгу (528 и 518 мкМ/г). В нижних буграх четверохолмий, в зрительных буграх и в варолиевом мосту активность ХЭ меньше (соответственно 451, 429 и 417 мкМ/г), чем в упомянутых отделах мозга. Наименьшая активность фермента обнаружена в коре мозжечка (143 мкМ/г), в коре больших

полушарий она примерно в два раза выше (253 мкМ/г). Активность ХЭ в миокарде распределена также неравномерно: в предсердиях больше, чем в желудочках (соответственно 191 и 132 мкМ/г).

Полученные данные в основном находятся в соответствии с литературными и опубликованными нами ранее данными [2, 4, 12, 22, 25], согласно которым характер распределения активности ХЭ в одноименных отделах мозга у животных разных видов является приблизительно одинаковым и снижается от филогенетически более древних образований (продолговатый мозг) к филогенетически более новым (кора больших полушарий) — исключение составляет кора мозжечка. Найденные нами величины о неравномерном распределении активности ХЭ в различных отделах миокарда также соответствуют данным других авторов [13, 17].

Из табл. 1 видно, что антихолинэстеразный препарат эзерин в дозе 0,05 мг/кг тормозит активность ХЭ во всех исследуемых отделах мозга и сердца крыс через 15 мин после внутрибрюшинного введения, особенно в коре больших полушарий (на 61%), в зрительных буграх (на 45%), в гипоталамусе (на 37%); в продолговатом мозгу и в миокарде желудочков — в наименьшей степени (соответственно на 33 и 34% по отношению к норме, контроль принят за 100%). Действие эзерина на активность ХЭ ослабляется к 30 и 45 мин, а через 60 мин активность фермента восстанавливается до нормы. Эти результаты согласуются с опубликованными нами ранее данными [2, 3], согласно которым эзерин в дозе 0,05 мг/кг при внутривенном введении проявляет избирательное тормозящее действие на активность ХЭ в различных клеточных образованиях кожно-двигательного анализатора и в гипоталамусе кроликов. Сходные результаты степени торможения активности ХЭ и продолжительности действия эзерина в мозгу крыс и кошек получены также другими исследователями [10, 27].

В отличие от эзерина, прозерин (табл. 1) в дозе 0,05 мг/кг оказывает наиболее сильное торможение активности ХЭ через 45 мин после внутрибрюшинного введения. В мозгу активность фермента восстанавливается до исходного уровня через 2 часа, а в миокарде — 24 часа. Прозерин угнетает активность ХЭ миокарда в большей степени, чем в мозговой ткани. Таким образом, прозерин оказывает избирательное тормозящее действие на активность ХЭ в исследуемых отделах мозга, сходное с таковым при введении эзерина. Через 45 мин после введения прозерина наибольшее торможение активности ХЭ наблюдается в коре больших полушарий (на 52%), в зрительных буграх и в гипоталамусе — на 31%, а в продолговатом мозгу — на 25%. В миокарде активность ХЭ в этом случае угнетена на 60% (от контрольного уровня). Эти данные подтверждают результаты исследований других авторов [9, 19, 27], свидетельствующих о том, что прозерин угнетает активность ХЭ мозга крыс и морских свинок.

Любопытно отметить, что прозерин, в отличие от эзерина, тормозит активность ХЭ в миокарде в большей степени, чем в мозгу. Этот факт согласуется с литературными данными об усилении периферического

Таблица 1

Влияние эзерина и прозерина на активность ХЭ в различных отделах мозга и сердца крыс в разные сроки после внутрибрюшинного введения ($M \pm m$)

Время умерщвления животного после введения препарата, в мин и часах	Эзерин 0,05 мг/кг					Прозерин 0,05 мг/кг				
	кора больших полушарий	зрительный бугор	гипоталамус	продолговатый мозг	миокард желудочков	кора больших полушарий	зрительный бугор	гипоталамус	продолговатый мозг	миокард желудочков
15 мин.	$61 \pm 0,9$	$45 \pm 1,3$	$37 \pm 1,5$	$34 \pm 1,3$	$33 \pm 1,0$	$39 \pm 0,9$	$22 \pm 1,2$	$25 \pm 1,4$	$11 \pm 1,0$	$38 \pm 1,7$
30 мин.	$35 \pm 0,7$	$41 \pm 1,8$	$31 \pm 1,6$	$34 \pm 1,7^*$	$29 \pm 1,4$	$44 \pm 1,6$	$29 \pm 1,6$	$27 \pm 1,0$	$15 \pm 0,9$	$45 \pm 1,8$
45 мин.	$17 \pm 1,6^*$	$24 \pm 0,8^*$	$21 \pm 1,1$	$15 \pm 1,2$	$22 \pm 1,1$	$52 \pm 1,1$	$31 \pm 2,1$	$31 \pm 2,2$	$25 \pm 1,6$	$60 \pm 1,5$
60 мин.	$5 \pm 1,3$	$0 \pm 1,5$	$4 \pm 2,8$	$2 \pm 2,0$	$5 \pm 1,3$	$48 \pm 1,0$	$31 \pm 1,9$	$25 \pm 2,5$	$23 \pm 1,4$	$52 \pm 2,0$
90 мин.						$44 \pm 0,6$	$28 \pm 1,4$	$23 \pm 1,1$	$21 \pm 1,1$	$48 \pm 1,7$
2 часа						$9 \pm 2,2$	$10 \pm 2,2$	$6 \pm 2,9$	$0 \pm 2,0$	$48 \pm 2,4$
3 часа						$0 \pm 1,2$	$0 \pm 0,9$	$0 \pm 1,2$	$4 \pm 2,4$	$43 \pm 1,3$
24 часа						$0 \pm 1,1$	$0 \pm 0,8$	$0 \pm 1,3$	$4 \pm 2,2$	$3 \pm 1,5$

M — средние величины торможения активности ХЭ в % к контролю.

$P < 0,01$ (во всех случаях торможения)

* $P < 0,05$.

эффекта и ослаблении центрального при переводе третичного азота в четвертичный [5, 11, 28]. Торможение активности ХЭ под влиянием эзерина и прозерина в исследуемых отделах мозга выражено в разной степени: оно сильнее в коре больших полушарий, в зрительных буграх и в гипоталамусе; в продолговатом мозгу активность фермента снижается в меньшей степени. Избирательное действие указанных препаратов, по-видимому, не может быть поставлено в прямую связь с исходным уровнем активности ХЭ в том или другом отделе мозга. Сходные результаты об избирательном действии препаратов получены и нами, и другими исследователями [2, 3, 6].

Можно предполагать, что избирательное действие исследовавшихся препаратов на активность ХЭ в исследуемых отделах мозга связано с особенностями ее локализации в структурах указанных образований. На основании литературных данных можно высказать предположение, что ХЭ в вышележащих отделах мозга находится в большей мере на наружной поверхности клеточных мембран (в зоне синапсов или около них) и более доступна воздействию антихолинэстеразных препаратов, чем в нижележащих отделах мозга (продолговатый мозг), где она в основном сосредоточена во внутренних структурах тел клеток [22].

В табл. 2 представлены данные, относящиеся к воздействию эзерина и прозерина в опытах *in vitro* на активность ХЭ зрительного бугра и миокарда желудочков. Эзерин в опытах *in vitro* действует на активность ХЭ в слабых концентрациях ($1 \cdot 10^{-7}$, $1 \cdot 10^{-8}$, $5 \cdot 10^{-9}$). При этом, как и в случае с опытами *in vivo*, наблюдается более выраженное торможение активности ХЭ в зрительных буграх по сравнению с миокардом желудочков (в дозе $1 \cdot 10^{-7}$ соответственно на 84% и 62% от нормы).

Таблица 2
Влияние эзерина и прозерина в опытах *in vitro* на активность ХЭ мозга и миокарда крыс ($M \pm m$)

Препарат	Концентрация	Зрительный бугор	Миокард желудочков
Эзерин	$1 \cdot 10^{-7}$	$84 \pm 1,8$	$62 \pm 1,5$
	$1 \cdot 10^{-8}$	$51 \pm 2,0$	$40 \pm 1,4$
	$5 \cdot 10^{-9}$	$36 \pm 2,2$	$27 \pm 2,0$
	$1 \cdot 10^{-9}$	$5 \pm 1,6^*$	$4 \pm 1,6^{**}$
Прозерин	$1 \cdot 10^{-8}$	$60 \pm 1,5$	$76 \pm 1,5$
	$1 \cdot 10^{-9}$	$50 \pm 1,9$	$66 \pm 2,0$
	$1 \cdot 10^{-10}$	$41 \pm 1,8$	$54 \pm 1,6$

M — средние величины торможения активности ХЭ в % к контролю.

$P < 0,01$ (во всех случаях торможения).

* $P < 0,5$. ** $P < 0,2$.

Прозерин, в отличие от эзерина, в опытах *in vitro* действует в более слабых концентрациях ($1 \cdot 10^{-9}$, $1 \cdot 10^{-10}$). Под влиянием прозерина ак-

тивность фермента тормозится в большей степени в миокарде, чем в мозгу (в дозе $1 \cdot 10^{-9}$ соответственно на 66% и на 50%).

Таким образом, обнаружена количественная неравномерность распределения активности ХЭ в головном мозгу и в миокарде половозрелых крыс. Наиболее высокая активность фермента найдена в верхних буграх четверохолмий, наименьшая—в коре мозжечка и коре больших полушарий. Активность ХЭ в предсердиях выше, чем в миокарде желудочков.

Эзерин и прозерин в дозе 0,05 мг/кг при внутривнутреннем введении оказывают сходное по своему характеру избирательное тормозящее действие на активность ХЭ в исследуемых отделах мозга. Наибольшее торможение активности фермента наблюдается в коре больших полушарий и вышележащих отделах мозга, наименьшее—в продолговатом мозгу.

Прозерин, в отличие от эзерина, в опытах *in vivo* и *in vitro* угнетает активность ХЭ миокарда в большей степени, чем в мозговой ткани.

Институт тонкой органической химии
АН АрмССР

Поступило 30.IX 1969 г.

Ա. Լ. ՄՆԶՈՅԱՆ, Մ. Գ. ԱՄԱՂՅԱՆ, Է. Ա. ՇԻՐԻՆՅԱՆ, Ս. Տ. ՄՈՎՅԱՆՈՎԱ

ԷԶԵՐԻՆԻ ԵՎ ՊՐՈԶԵՐԻՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՈՒՂԵՂԻ ՏԱՐԲԵՐ
ՀԱՏՎԱԾՆԵՐԻ ԵՎ ՍՐՏԱՄԿԱՆԻ ԽՈՒՐԴԵՐՈՒԹՅՈՒՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Հետազոտվել է էզերինի և պրոզերինի ազդեցությունը 0,05 մգ/կգ դոզայով ներորոտված առաջին սրտկուծից հետո տարբեր ժամանակներում առնետների ուղեղի զանազան հատվածների և փորոքների սրտամկանի խոլինէսթերազային (Խէ) ակտիվության վրա: Ուսումնասիրվել է նաև նշված պրեպարատների ազդեցությունը *in vitro* փորձերում առնետների տեսողական թմբերի և սրտամկանի Խէ ակտիվության վրա:

Պարզվել է, որ նորմայում առնետների ուղեղի տարբեր շրջանները և սրտամկանը միմյանցից տարբերվում են ֆերմենտի ակտիվության մակարդակով: Բոլորից շատ Խէ ակտիվությունը նկատվել է վերին քառաբլուրներում, բոլորից քիչ՝ ուղեղիկի և մեծ կիսագնդերի կեղևում:

Նշված պրեպարատներն ընտրողաբար ընկճում են հետազոտված ուղեղի հատվածների Խէ ակտիվությունը: Բոլորից շատ արգելակվում է ֆերմենտի ակտիվությունը մեծ կիսագնդերի կեղևում և ուղեղի բարձրագույն հատվածներում, բոլորից քիչ՝ երկարավուն ուղեղում: *In vivo* և *in vitro* փորձերում պրոզերինը, ի տարբերություն էզերինի, ավելի շատ արգելակում է սրտամկանի ֆերմենտի, քան ուղեղի ակտիվությունը: էզերինի առավելագույն ազդեցությունը Խէ ակտիվության արգելակման վրա ի հայտ է գալիս սրտկուծից 5 րոպե անց և վերանում է 60 րոպեի ընթացքում, իսկ պրոզերինի դեպքում՝ առավելագույն ազդեցությունը նկատվում է 45 րոպեում և անհետանում 24 ժամվա ընթացքում:

*Պրոզերինը in vitro փորձերում ազդում է ֆերմենտի ակտիվության վրա
ալիլի թուլ կոնցենտրացիայի դեպքում, քան էզերինը:*

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Александрова А. Е. Фармакол. и токсикол., **6**, 672, 1962.
2. Амадян М. Г. Изв. АН АрмССР (биол. науки), **16**, 10, 13, 1963.
3. Амадян М. Г. Изв. АН АрмССР (биол. науки), **17**, 5, 69, 1964.
4. Амадян М. Г., Ильина-Какуева Е. И. Журн. высш. нервной деятельности, **16**, 3, 514, 1966.
5. Зеймаль Э. В., Михельсон М. Я. и Рыболовлев Р. С. Физиол. роль ацетилхолина и изыскание новых лекарственных веществ, 424, Л., 1957.
6. Зеймаль Э. В. Фармакол. и токсикол. **26**, 2, 157, 1963.
7. Зеймаль Э. В., Сатрапинский Ю. Ф. Фармакол. и токсикол., **29**, 3, 281, 1966.
8. Михельсон М. Я., Рожкова Е. К. и Саватеев Н. В. Бюлл. экс. биол. и мед., **37**, 2, 7, 1954.
9. Науменко Е. В., Нестеренко Л. Н., Недбаева Н. Д. и Ильюченко Р. Ю. Бюлл. экс. биол. и мед., **61**, 3, 64, 1966.
10. Нестеренко Л. Н. Фармакол. и токсикол., **28**, 4, 414, 1965.
11. Печенкин В. А. Фармакол. и токсикол., **27**, 4, 426, 1964.
12. Покровский А. А., Пономарева Л. Г. Биохимия, **26**, 2, 276, 1961.
13. Рубель В. М. Вопр. мед. химии, **10**, 3, 238, 1964.
14. Тараховский М. Л. Бюлл. экс. биол. и мед., **43**, 1, 70, 1957.
15. Тараховский М. Л. Фармакол. и токсикол., **20**, 1, 33, 1957.
16. Тараховский М. Л. Фармакол. и токсикол., **24**, 1, 3, 1961.
17. Халимова К. М. Бюлл. экс. биол. и мед., **62**, 8, 115, 1966.
18. Чайковская Е. В. Фармакол. и токсикол., **23**, 2, 113, 1960.
19. Шумова И. А. Фармакол. и токсикол., **30**, 6, 669, 1967.
20. Bonting S. L., Featherstone R. M. Arch. of biochem. biophys., **61**, p. 89, 1956.
21. Bovet D., Longo V. G., J. pharmacol., **102**, p. 22, 1951.
22. Burgen A. S. V., Chipman L. M. Quart. J. of exper. physiol. a. cogn. sciences, **37**, p. 61, 1952.
23. Crum-Brown A. a. Fraser T. R. Trans Roy. Soc. Edinb., **25**, p. 693, 1869.
24. Dahlbom R., Edlund T., Ekstrand T., Katz A. Arch. int. pharmacodyn., **9**, p. 241, 1952.
25. Foldes F. F., Zsigmond E. K., Folds V. M., Erdös E. G. J. Neurochem., **9**, p. 559, 1962.
26. Hestrin Sh. J. biol. chem., **180**, p. 249, 1949.
27. Irwin R. L., Hein M. M. J. pharmacol. a. exper. ther., **136**, p. 20, 1962.
28. Koelle G. B., Steiner E. C. J. pharmacol. a. exp. ther., **118**, p. 420, 1956.