

УДК 615.216:595.324:547.854

## ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ БЛОКАДА ЛОКОМОТОРНЫХ МЫШЦ УРАЦИЛСОДЕРЖАЩИМИ ТЕТРААЛКИЛАММОНИЕВЫМИ ИНГИБИТОРАМИ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ

© 2005 г. В. В. Зобов, К. А. Петров, А. А. Аслямова, Л. А. Березинский, В. Д. Акамсин,  
И. В. Галяметдинова, В. С. Резник

Представлено академиком А.И. Коноваловым 01.07.2004 г.

Поступило 14.07.2004 г.

Отношение миорелаксантных и смертельных доз ониевых ингибиторов холинэстераз характеризует избирательность их влияния на локомоторные мышцы и соответствующий уровень “фармакологической безопасности” ( $LD_{50}/ED_{50}$ ). Эта избирательность в наибольшей мере выражена у оксазила и в наименьшей – у подавляющего большинства ингибиторов холинэстераз [1] при общей неудовлетворительно низкой длительности специфического действия. Отсюда очевидна актуальность поиска путей повышения избирательности их действия холинэстераз.

В предыдущих исследованиях [2, 3] среди тетраалкиламмониевых производных 6-метилурацила, ориентированных на “периферический анионный пункт” ацетилхолинэстеразы (АХЭ; КФ 3.1.1.7), были выявлены вещества, демонстрирующие ряд биохимических аномалий. Среди них: 1) избирательная, прогрессирующая во времени, ингибирующая активность в отношении АХЭ ( $k^0 = 7.6 \cdot 10^8 - 3.5 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ мин}^{-1}$ ); 2) необратимое ингибирование препаратов АХЭ теплокровных и обратимое ингибирование препаратов АХЭ холоднокровных. Наличие или отсутствие аномалий зависит от структуры аммониевых и N-гетероциклических фрагментов молекул, а также от того, с каким из атомов азота урацилового цикла связан бензильдиэтилпентиламмониевый фрагмент [3].

Указанные выше особенности взаимодействия тетраалкиламмониевых производных 6-метилурацила с холинэстеразами разных групп животных (*in vitro* [3]) ставят вопрос о том, в какой мере они реализуются на уровне целого организма (мышцы, дафнии *in vivo*).

Вещества 1–4 (табл. 1) в виде водных растворов вводились внутрибрюшинно (в/б) нелинейным белым мышам обоего пола массой  $19.0 \pm 2.0$  г, а так-

же апплицировались на стандартной лабораторной культуре дафний *Daphnia magna* в возрасте  $18 \pm 6$  ч [4], что позволяло определять уровень “экологической безопасности” веществ. В качестве показателей токсичности были среднесмертельные дозы ( $LD_{50}$ , мыши, 72 ч наблюдений) и концентрации ( $LK_{50}$ , дафнии, 48 ч наблюдений).

В качестве показателей миорелаксантной активности были среднеэффективные ( $ED_{50}$ ) дозы в функциональном тесте “бег на третбане” (Nihon Kohden; 1 км/ч) [5], а также скорость развития и максимальная длительность миорелаксантного эффекта (развитие последнего в условиях функциональной нагрузки является одним из основных и высоковоспроизводимых симптомов действия антихолинэстеразных средств [1]). Вещества вводили за 5 мин до начала выполнения физической нагрузки. Критерием миорелаксантной эффективности веществ служила неспособность предварительно тренированных к бегу мышей выполнять бег на третбане в течение 30 мин. Аналогичной процедуре определения  $LD_{50}$ ,  $LK_{50}$  и  $ED_{50}$  были подвергнуты антихолинэстеразные препараты сравнения (прозерин, оксазил, BW284c51).

Обработку результатов исследования проводили методом вариационной статистики с использованием *t*-критерия Стьюдента, а также с помощью программы ToxCalc<sup>TM</sup> v.5.0.23E (USA). Результаты экспериментов представлены в табл. 1 и 2

Из данных табл. 1 следует, что в экспериментах на мышцах вещества 1–4 соответствуют категории “высоко-токсичных” [6]; на дафниях вещества демонстрируют до 7 порядков меньшую токсичность, чем их фосфорилированные аналоги [7], соответствуя категории “малотоксичных” веществ ( $LK_{50} > 10.0$  мкМ/л) [8].

Несмотря на то, что в субсмертельных дозах вещества 1–4 вызывали у кроликов симптом склонения головы, характерный для действия курареподобных средств, в общей картине отравления доминировало холиномиметическое гипер-

**Таблица 1.** Параметры биологической активности тетраалкиламмониевых производных 6-метилурацила

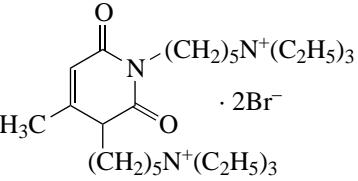
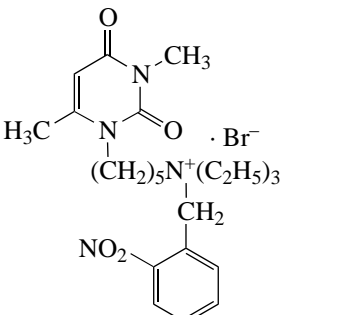
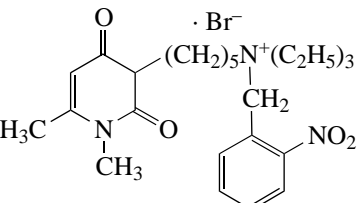
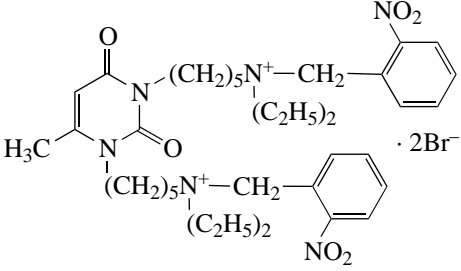
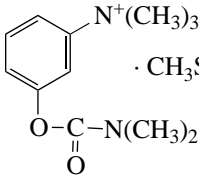
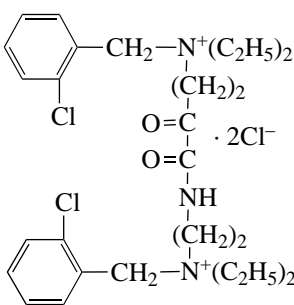
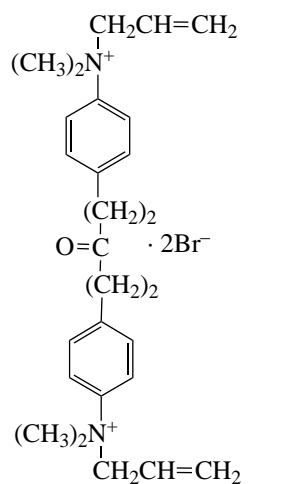
Вещество	Токсичность		Эффективность, ЭД <sub>50</sub> , мышь (в/б; тест "бег на третбане"), мкМ/кг (n = 32)	ЛД <sub>50</sub> /ЭД <sub>50</sub>
	ЛК <sub>50</sub> , <i>D. magna</i> , мкМ/л (n = 90)	ЛД <sub>50</sub> , мышь, в/б, мкМ/кг (n = 24)		
(1) 	935.00*#&	1.69 <sup>#</sup>	0.37 <sup>#&amp;</sup>	4.57 <sup>#&amp;</sup>
(2) 	58.91* <sup>#</sup> 50.35–68.92	6.03* <sup>#&amp;</sup> 5.34–6.82	0.30 <sup>#</sup> 0.27–0.34	20.10* <sup>#&amp;</sup> 16.37–23.83
(3) 	64.29* 54.03–76.51	2.61* <sup>#</sup> 2.31–2.95	0.12* <sup>#&amp;</sup> 0.11–0.13	21.75* <sup>#&amp;</sup> 18.39–25.11
(4) 	18.71* <sup>#&amp;</sup> 15.33–22.82	1.17 <sup>#&amp;</sup> 1.04–1.31	0.03* <sup>#&amp;</sup> 0.03–0.04	39.00* <sup>#&amp;</sup> 34.33–43.67
 Прозерин	2.70 <sup>#&amp;</sup> 2.21–3.29	1.53 <sup>#</sup> 1.34–1.74	0.39 <sup>#</sup> 0.34–0.45	3.92 <sup>#</sup> 3.11–4.73

Таблица 1. Окончание

Вещество	Токсичность		Эффективность, ЭД <sub>50</sub> , мышь (в/б; тест "бег на третбане"), мкМ/кг (n = 32)	ЛД <sub>50</sub> /ЭД <sub>50</sub>
	ЛК <sub>50</sub> , D. magna, мкМ/л (n = 90)	ЛД <sub>50</sub> , мышь, в/б, мкМ/кг (n = 24)		
 <p>Оксазил</p>	119.30* 97.79–145.54	8.77* <sup>&amp;</sup> 7.69–10.00	0.09* <sup>&amp;</sup> 0.08–0.10 Длительность эффекта 1 ч	97.44* <sup>&amp;</sup> 71.88–123.08
 <p>BW284c51</p>	100.56* 82.43–122.69	2.12 <sup>#</sup> 1.86–2.42	0.21 <sup>#</sup> 0.18–0.24 Длительность эффекта 2 ч	10.10 <sup>#</sup> 8.07–12.13

Примечание. Различия статистически значимы ( $p < 0.05$ ) по отношению к прозерину (\*), оксазилу (<sup>#</sup>), BW284c51 (<sup>&</sup>).

возбуждение с последующей миорелаксацией конечностей.

Вещества 2–4 в отличие от вещества 1, прозерина и BW284c51 демонстрируют нехарактерную для ингибиторов холинэстераз относительно высокую избирательность блокирующего действия в отношении локомоторных мышц, что отражается на параметре ЛД<sub>50</sub>/ЭД<sub>50</sub> = 20.0–40.0 (см. табл. 1). Миорелаксационный эффект при действии веществ 1–4 развивается в пределах 5 мин после введения, однако его продолжительность существенно различается. Так, для вещества 2 (неизбирательный ингибитор АХЭ [3]) характерно длительное действие (1–2 сут), тогда как для его изомера (вещество 3; избирательный ингибитор АХЭ [3]) характерен скоротечный эффект (< 1 ч). Длительность действия их бисчетвертичного аналога (вещество 4; избирательный ингибитор АХЭ [3]; лабораторный шифр "№ 547") достигает 5 сут (см. табл. 1), однако для триэтилпентиламмониевого аналога

(вещество 1; неизбирательный ингибитор АХЭ [3]) характерен скоротечный эффект (< 1 ч).

Отмечена зависимость глубины и длительности избирательного поражения локомоторной функции животных веществами 2, 4 от интенсивности движений ("use-dependent effect"). Так, даже легкая физическая нагрузка на третбане провоцировала у животных сильный тремор, переходящий в судорожные подергивания конечностей, исключающие их координированную локомоторную активность до 5 сут. При этом животные сохраняли все основные рефлексы и жизнь.

Примечательно, что относительно высокие значения ЛД<sub>50</sub>/ЭД<sub>50</sub> (> 10.0) характерны для веществ 2–4, в спектре активности которых присутствуют как выраженная антихолинэстеразная (проявляется в малых дозах), так и курареподобная симптоматика (проявляются в субсмертельных дозах). Аналогичные симптоматика и высокий пока-

затель  $LD_{50}/ED_{50}$  отмечаются у известного антихолинэстеразного средства с холинолитическим компонентом действия оксазила, который, однако, имеет малую длительность миорелаксантного эффекта (табл. 1).

Характерно также, что в группу “фармакологически безопасных” ( $LD_{50}/ED_{50} > 10.0$ ) структур попадают как избирательные (вещества 3, 4) [3], так и неизбирательные ингибиторы АХЭ (вещество 2 [3] и оксазил [1]). С другой стороны, как избирательный (BW284c51), так и неизбирательные ингибиторы АХЭ (вещество 1 [3] и прозерин [1]) имеют низкие показатели  $LD_{50}/ED_{50}$  ( $< 10.0$ ; табл. 1). Эти факты могут говорить о несводимости проблемы “фармакологической безопасности” ингибиторов холинэстераз только лишь к различиям в фармакодинамических свойствах веществ. Возможно, различия в “факторах надежности” нервно-мышечной передачи в мышцах разного функционального типа (диафрагма/локомоторные) создают благоприятные условия для реализации взаимопротивоположных фармакодинамических эффектов веществ 2–4 (антихолинэстеразного/холинолитического), что и приводит к облегчению работы одних мышц (дыхательных) и блокаде других (локомоторных) с последующим избирательным и длительным выключением локомоторной функции

Полученные данные свидетельствуют о важной роли 6-метилурацилового фрагмента, а также характера циклических заместителей при тетраалкиламмониевых фармакофорах в обеспечении дополнительного прироста избирательности действия лигандов как на препаратах АХЭ *in vitro* [2, 3],

так и на целых животных (*in vivo*). Это позволяет рассматривать новые вещества в качестве перспективного класса ингибиторов холинэстераз, одновременно сочетающих в себе свойства повышенной “фармакологической” ( $LD_{50}/ED_{50} > 10.0$ ) и “экологической” безопасности ( $LC_{50} > 10.0$  мкг/л).

Работа поддержана грантами РФФИ (регион) 03–04–96215 и Президента РФ “Ведущая научная школа” НШ–1063.2003.4.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Прозоровский В.Б., Саватеев Н.В.* Неантихолинэстеразные механизмы действия антихолинэстеразных средств. Л.: Медицина, 1976. 160 с.
2. *Резник В.С., Аникиенко К.А., Курочкин В.К. и др.* // ДАН. 1998. Т. 362. № 1. С. 68–70.
3. *Аникиенко К.А., Бычихин Е.А., Курочкин В.К. и др.* // ДАН. 2001. Т. 376. № 6. С. 818–822.
4. *Фомин Г.С.* Вода. Контроль химической, бактериальной и радиационной безопасности по международным стандартам. М.: Протектор, 1995. С. 410–458.
5. *Бобков Ю.Г., Виноградов В.М., Катков В.В. и др.* Фармакологическая коррекция утомления. М.: Медицина, 1984. 208 с.
6. *Саноцкий И.В., Уланова И.П.* Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений. М.: Медицина, 1975. С. 55–59.
7. *Зобов В.В., Березинский Л.А., Резник В.С., Акамин В.Д.* // Хим.-фарм. журн. 2002. Т. 36. № 11. С. 21–22.
8. Сборник нормативно-методических документов по обращению с отходами производства и потребления. Прил. 1. М.: Логус, 1996. С. 67–68.