

### Раздел 3 Клинические и экспериментальные работы

*П.П. Исаев, В.А. Николаевский, М.П. Алексюк, К.М. Резников*

#### **МЕСТНОАНЕСТЕЗИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ И МЕЗОМЕРНЫЙ ЭФФЕКТ В РЯДУ МЕТОКСИПРОИЗВОДНЫХ 2'-ДИЭТИЛАМИНОЭТОКСИ-3-ФЕНИЛПРОПИОФЕНОНА**

*ВГМА им. Н.Н.Бурденко, ВПУ, ВТИ*

**Резюме.** Показаны экспериментальные данные исследования ряда синтезированных местных анестетиков. До сих пор не было известно только сходство структуры и усиления антиаритмических свойств после изменения структуры аминокислотной цепи в блоках Na<sup>+</sup>-каналов. Мы доказали, что введение одного бензольного кольца в 1-2-3-положение метоксигруппы или изменение алифатической цепи приводит к изменениям фармакологической активности.

Изучая связь между структурой и эффектом лекарства, необходимо учитывать мезомерный эффект как один из факторов, изменяющих биологическую активность карбонила и его последующее воздействие на активные центры клеточных рецепторов. В дальнейшем целесообразно проводить прямые химические расчеты электронной структуры анализируемых лекарств и местных анестетиков, демонстрирующих одинаковый эффект. Это позволит нам количественно оценить структуру активного центра рецептора в биомембране и ввести новые критерии биологической потенции прогнозирования анестетиков.

**Ключевые слова:** анестетики, экспериментальные исследования, лекарственные средства.

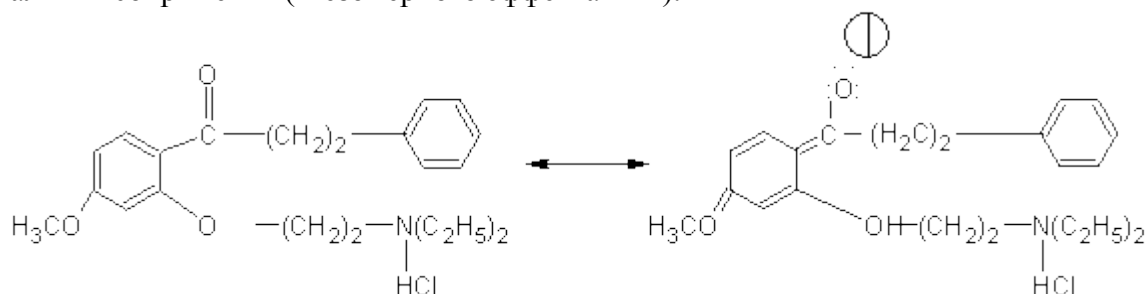
**Актуальность.** Местноанестезирующая активность метоксипроизводных 2'-диэтил-амино-этоксид-3-фенилпропиофенона сильно зависит от возможности сопряжения метоксила и карбонила (мезомерный эффект). Этот внутримолекулярный электронный эффект подтвержден УФ-спектрами, их анализом и интерпретацией. Высказано предположение, что данный эффект коррелирует с величиной биологической активности (фармакологического действия) исследуемых веществ. Определены длительность анестезии, индекс Ренье, антиаритмическая активность, LD и флуоресцеиновая проба.

Установлено, что антиаритмический индекс возрастает вместе с местноанестезирующим эффектом. Соотношение структура — активность местных анестетиков рассматривается как результат взаимодействия молекул анестетиков о рецепторами мембраны нервного волокна за счет сил Ван-дер-Ваальса, электростатического притяжения и диполь-дипольных взаимодействий [1—3]. При этом первичным механизмом местной анестезии является, по-видимому, взаимодействие фосфолипидной мембраны нервной клетки с ароматическим (липофильным) центром местного анестетика [4]. В ряду совкаин, дикаин, ксикаин, бенкаин, новокаин и анестезин найдено, что их анестезирующая активность удовлетворительно коррелирует с интенсивностью межмолекулярного взаимодействия анестетиков с карбоксильной и фосфорной группами [5]. Диполь-дипольное взаимодействие возможно у анестетиков типа эфиров и амидов ароматических кислот благодаря наличию [6] карбонила, атом кислорода которого является донором электронов, что было подтверждено на примере диэтиламиноэтиловых эфиров паразамещенных бензойных кислот. Отметим, что установленные особенности электронной структуры наиболее активного члена исследуемого ряда указывают на некоторый общий механизм проявления местноанестезирующих свойств, так как аналогичные перестройки в электронных оболочках можно предполагать в ряду кислот-аминозамещенных парааминобензойной

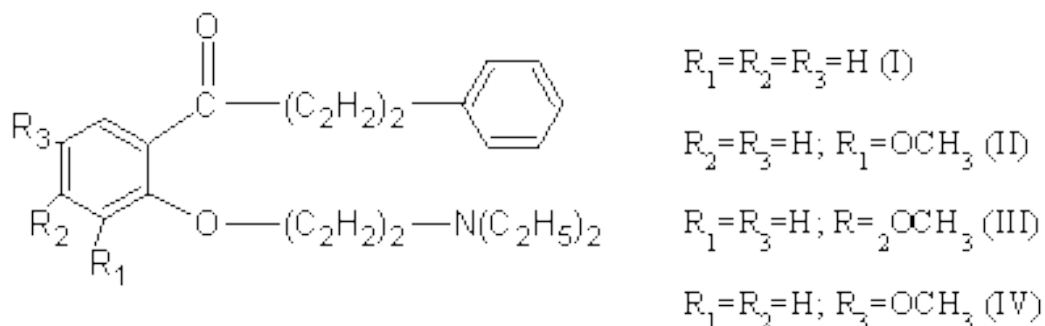
кислоты. Особенно важно, “квазихиноидные” структуры, по-видимому образуются и при наличии слабых электронных эффектов типа эффекта сверхсопряжения, что можно предполагать из сравнения местноанестезирующей активности, спектров и электронной структуры лидокаина и тримекаина.

**Материал и методы исследования.** Физиологические эксперименты выполнены на 270 белых мышах массой 18—20 г и 50 кроликах серой масти массой 2,5—3,2 кг, 80 белых крысах массой 180—200 г. Поверхностная анестезия исследована на роговице глаза кроликов по методу Ренье—Валета. Активность препаратов оценивалась по методу Ренье с учетом наступления и длительности анестезии. Кроме того, для оценки повреждающего действия растворов соединений проводилась флуоресцеиновая проба. В качестве соединений сравнения анестезирующей активности использованы пиромекаин и тримекаин [10], а антиаритмический индекс определялся по отношению к лидокаину [11]. Синтез веществ был осуществлен через производные 4-оксикумарина [12]. Аконитиновую аритмию изучали на нелинейных бодрствующих крысах. Исследуемые вещества и аконитин вводили внутривенно с интервалом в 1 мин. Острую токсичность LD50 определяли на белых беспородных мышах методом пробит-анализа [13] и на белых беспородных крысах по Ван-дер-Вердену при внутривенном введении препаратов. LD рассчитывали по методу Литчфилда—Уилкоксона [14]. Спектры снимались в водных растворах на спектрофотометре Spesord.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Анализ полученных в экспериментах на животных данных показывает, что исследованный ряд анестетиков не относится ни к сложноэфирному, ни к амидному типу местных анестетиков. Имеющийся в соединении карбонил является кетонным и характер его поляризации может меняться в зависимости от наличия сопряжения ( мезомерного эффекта M<sup>+</sup> ):



В исследованном ряду соединений при других положениях электронодонорной метоксильной группы и карбонила их сопряжение ( мезомерия ) невозможно. Взаимодействие с липофильной частью мембраны здесь неизменно, так как бетта-фенилэтильный фрагмент не менялся. Изменение структуры этого фрагмента приводит к изменениям в свойствах гораздо менее резким [15], чем меняющееся положение метоксила в фениле, сопряженном с карбонилем:



Приведенные выше сведения о структурных модификациях молекул в исследованном ряду соединений согласуются с результатами экспериментальных исследований антиаритмической активности, приведенными в таблице.

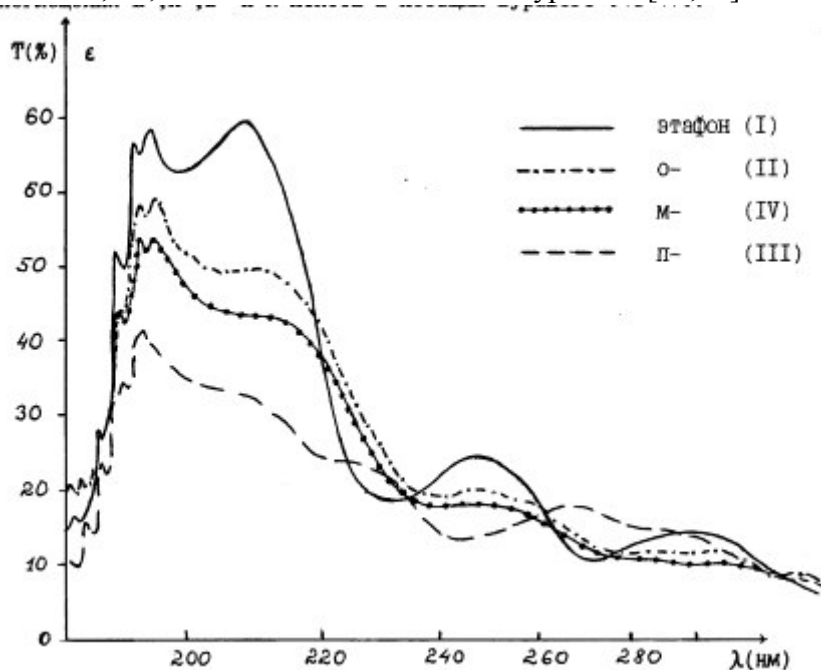
Таблица

## Характеристика производных 2\*-диэтиламиноэтокси-3-фенилпропиофенона

Параметр	Препарат					
	Лидокаин	Пиромекаин	I (Этафон)	II	III	IV
Концентрация растворов препаратов	—	0,03	0,03	0,03	0,01	0,03
Индекс Ренье	—	1300±0,0	1300±0,0	918,5±77,9	1300±0,0	755,6±85,6
Длительность анестезии (мин)	—	45±0,0	68±2,1	52±4,9	100±17,4	34,5±2,7
Токсичность LD 50 (мг/кг)	39,4	300±6,5	233,5±13	320±11	185±9	180±8
Флуоресцеиновая проба	—	+++	+++	++++	+	++
Антиаритмический индекс по отношению к лидокаину	1	—	7,3	0	26,2	6,82

Как видно из таблицы, усиление анестезирующей активности происходит симбатно с антиаритмическим действием. До настоящего времени было известно лишь структурное сходство обоих классов лекарственных соединений — блокаторов Na<sup>+</sup> каналов [8], а также усиление антиаритмических свойств при изменении строения аминоалкоксильной цепи [9]. Нами показано, что введение в метоксильной группе в 1—, 2—, 3— положения I бензольного кольца, а также изменение алифатической цепочки сопровождается изменениями фармакологической активности. Так, хлоргидрат 2—[2'-гидрокси—3—(1,1—диметилпропиламино)—пропокси]бетта—фенилпропиофенон (дипрафенон) [10] вызывает предупреждение аконитиновых аритмий. Наиболее активное соединение III (см. таблицу) выделяется одновременно и по анестезирующему, и по антиаритмическому действию, превосходя лидокаин в 26 раз. Данное соединение отличается и характером УФ-спектра — батохромным сдвигом полос *π-π\** и *n-π\** проходов из-за удлинения цепи сопряжения и проявления специфических внутримолекулярных электронных эффектов (см. анализ и интерпретацию спектров).

Анализ и интерпретация спектров. Электронные спектры поглощения исследуемых веществ ближней УФ-области представлены на рисунке. Все препараты имеют по 4 полосы поглощения E-, K-, B- и R-полосы в нотации Буравого [16,17].



**Рисунок. Электронные спектры поглощения этафона и его  
о-, м-, п-метоксизамещенных**

Самые коротковолновые полосы всех четырех соединений с  $L_{\max}=198$  нм – E-полосы, которые относятся к полосам локального возбуждения в ароматическом ядре или LE-полосам (Local excitation). Данная полоса обусловлена переходом  $\pi$ -электронов из основного состояния в первое возбужденное и отвечает  $\pi$ - $\pi^*$  электронному переходу.

Переход разрешен по симметрии, о чем говорит большая интенсивность E-полос.

В бензоле эта полоса находится при  $\lambda=183$  нм и имеет коэффициент экстинкции  $\epsilon=46000$  л/(моль·см). Согласно эмпирической системе правил, разработанных Платтом [17], замещение карбоном батохромно смещает E-полосу на 5,5 нм, метоксилью — на 4,5 нм, гидроксилью — на 5 нм, которые аддитивно складываются в случае всех исследуемых веществ, обеспечивая сдвиг  $dL=15$  нм. о-, м-, п- производные этафона содержат кетонную, эфирную и метоксильную группы, откуда следует, что максимум полосы бензольного поглощения должен находиться при  $L=198$  нм, что хорошо согласуется с нашими данными.

Хорошее разрешение колебательной структуры E-полос также утверждает отнесение к полосам локальной системы, а именно к ароматическому ядру. Поведение наиболее длинноволновых колебательных максимумов E-полос, которые находятся в области 206—216 нм, является весьма информативным. В этафоне это пик с  $L=208$  нм, в о-, м-, п- производных перегиб длинноволнового края E-полосы, причем, носительная интенсивность перегиба нарастает в ряду п-, м-, о- этафон. По-видимому, такое поведение колебательного максимума обусловлено наложением K-полосы, ее коротковолнового края, на длинноволновый край E-полосы. K-полоса сильно подвержена влиянию внутримолекулярных эффектов. Эффект сопряжения в хиноидной структуре привел к тому, что K-полоса полностью проявилась в п-замещенном фенилпропиофеноне при  $L=225$  нм при минимальной интенсивности длинноволнового колебательного максимума E-полосы, что говорит о большом батохромном сдвиге K-полосы, причем этот сдвиг нарастает в ряду этафон, о-, м-, п- производное этафона, для которого K-полоса выходит из-под маскирующего края E-полосы, обеспечивая этим снижение интенсивности колебательного максимума  $L=208$  нм

Вторая коротковолновая полоса для этафона, о- и м-производных фенилпропиофенона, как уже отмечалось, находится в области спектра 208—215 нм и скрыта длинноволновым краем E-полосы поглощения этих соединений. Полностью разрешена K-полоса только для п-замещенного этафона и имеет при средней интенсивности  $L=225$  нм. Эта полоса может быть отнесена к полосам ET-типа (Electron Transition), и соответствует  $\pi$ - $\pi^*$  электронным переходам, в которых принимает участие сопряженная группа отвечающая хиноидной структуре  $\text{л}^* \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{м}^{-2}$ , как отмечали Матсен и Брауде [17], по аналогии со структурой и поведением электронного спектра поглощения бензофенона. Эта полоса может быть отнесена к электронному переходу в симметричной молекулярной системе (симметричный ряд молекулярных орбиталей, напоминающий ряд электронных уровней в гекоатриене). Этот электронный переход аналогичен достаточно интенсивным электронным переходам в бутадиене, а также в альфа-бета-ненасыщенных кетонах. Так как K-полоса проявилась только в случае паразамещенного фенилпропиофенона, можно констатировать, что данный тип полосы обладает высокой аналитичностью по отношению к внутримолекулярным взаимодействиям характеризующим мезомерный эффект и резкое нарастание сопряжения в электронной системе, а также связанные с ними химические и физиологические свойства подобных атомных агрегатов, так как столь значительные батохромные сдвиги и гиперхромные эффекты полос поглощения легко идентифицируются на стандартной спектральной аппаратуре.

Третья полоса исследуемых веществ находится в средней области спектра. Это полоса В-типа (полоса бензольного поглощения), относящаяся к полосам локального возбуждения LE-типа, и обусловленная *π-π\** электронным переходом. Максимум В-полосы поглощения этафона  $L_{\max}=248$  нм, о-, м- замещенных  $L_{\max}= 253$  нм и п-замещенного  $L_{\max}=268$  нм свидетельствует о явно выраженном батохромном сдвиге, что позволяет сделать вывод о нарастании эффекта сопряжения в молекулах в той же последовательности. Отсюда можно заключить, что поведение В-полосы подтверждает проявление мезомерного эффекта в этом же ряду веществ.

Четвертая, самая длинноволновая, широкая, бесструктурная, слабая полоса R-типа, отвечающая *n-π\** электронному переходу, при котором п-электрон не поделенной пары кислорода карбонильной группы возбуждается на соответствующий уровень ароматической системы. Данный переход соответствует миграции заряда внутри молекулярной системы. Переход запрещен по симметрии, чем объясняется слабая интенсивность R-полосы. Наличие достаточно большого внутримолекулярного взаимодействия и переноса заряда приводит к полному размыванию колебательной структуры этой полосы. R-полоса этафона полностью разрешена  $L_{\max}= 300$  нм; для о-, м-замещенных R-полоса — широкий перегиб на длинноволновом крыле В-полосы в области 280—320 нм с пониженной интенсивностью, для п- производного локальный максимум  $L_{\max}=298$  нм.

Такое поведение интенсивности R-полос поглощения говорит о том, что внутримолекулярный перенос заряда имеет значительную величину в этафоне и его п-замещенном и ослаблен в о- и м- производных. Аналогичное заключение можно сделать из анализа структурных формул этафона и хиноидной молекулярной структуры.

**Выводы.** Таким образом, при изучении связи структура — действие лекарственных препаратов следует учитывать явление мезомерии, как из факторов, формирующих биологическую активность карбонила, и его последующее воздействие на активные центры рецепторов клетки. В дальнейшем целесообразно провести прямые квантово—химические расчеты электронной структуры соединений исследуемого ряда и местных анестетиков группы сравнения, в которых проявляется найденный эффект, что позволит провести количественные оценки структуры активного центра рецепторов биологических мембран и ввести новые критерии прогнозирования биологической активности анестетиков.

#### **Литература.**

1. Прянишникова Н.Т. Анестезирующие вещества // Успехи в создании новых лекарственных средств. —М.: Медицина. 1973. —С.227—271
2. Лисункин Ю.М., Мохорт Н.А. Фармакологическое воздействие на чувствительные нервные окончания.—Киев: Здоровье. 1991. —С.106—116.
3. Buchi F., Perlla X.//Arzneimittelforsch. 1960. M.10. —S.1—10.
4. Remko M., Oizmarlk Y.//Os.farm. 1986, —Vol.35. N5.. —P.199—206.
5. Комиссаров И.В., Макарова Л.Е., Руденко Н.3. Местноанестезирующая активность и электронодонорные свойства молекул анестетиков // Фармакол.и токсикол.,1990, —Т 33, N6. 1960. —С.681—683.
6. LoTgren N. Studies on local Anesthetics Xylocalne.—Stockholm: 287 p.
7. Gallnsky M., Gearlen F.E., Perklins A.F., et al.//J.Med.Chem. 1963. —V.6. —P.320—326.
8. Гренадер А.К.//Антиаритмики — блокаторы ионных каналов. Механизмы действия и структура.—Пушино, 1987. —С.44.
9. Генденштейн Э.М., Цыбусов П.А. Дукаускайте Л.Н., Станкевичус А.П.//Бюлл.эксп.биол.и медицины. —1982. —N 11. —С.55—57
10. Николаевский В.А., Алексюк М.П. Местноанестезирующая активность производных 2'-окси—фенилпропиофенона.//Хим.—фарм.журн, N 9. —С.1079—1080.
11. Николаевский В.А., Шиелев В.П. и др. Антиаритмическая активность производных 2'-окои—3—фенилпропиофенона. //Хим.—фарм.журн, 1989. —N 12. — С.1445—1447.

12. Алексюк М.П.// Синтез некоторых коронарорасширяющих препаратов через производные 4—оксикумарина: Дис...канд.хим.наук.—Воронеж, 1969. —16 с.
13. Прозоровский В.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит — анализа кривых летальности. //Фармакол. и токсикол. 1962. —N 1. —С.115—119.
14. Van der Waerden B.L.// Arch. exp. Path. Pharmacol. 1990. —Vd.195. —S.389.
15. Ltchneid J.T., Wllooxon F. // J. Pharmacol. exp. Ther. 1949. — Vol.96, —P. 99—113.
16. Гордон А., Форд Р. Электронные спектры поглощения и испускания: ультрафиолетовая и видимая области.//Спутник химика: физико-химические свойства, методики и библиография. М.: Наука 1976. —С.235—246.
17. Матсен Ф. Электронные спектры в видимой и УФ областях спектров. // Применение спектроскопии в химии/Под ред. В.Веста; Пер.с англ. М.: Изд-во Ин. лит. 1959. — С.528—589.

*Abstract*

*Isaev P.P., Nikolaevsky V.A., Alexyne M.P., Reznikov K.M.*

**THE ACTIVITY OF LOCAL ANESTHESIA AND MESOMERIC EFFECT AMONG METHOXYCOMBINATIONS OF 2 - DIAETHYLAMINOETOXI - 3 - PHENYLPROPIOPHENON**

Experimental research data of a number of synthesized Local Anaesthetics are shown. Until now only the similarity of structure and strengthening of antiarrhythmic properties after changing aminoalcoyl chain structure in blockers of Na<sup>+</sup> channels were not known. We have proved that the introducing of one benzol ring into the 1-2-3-position of methoxy-group or changes of the aliphatic chain lead to the pharmacological activity changes.

Studying connection between the structure and the effect of the medicine one must take into consideration the mesomeric effect as one of the factors reshaping biological potency of carbonyl and its subsequent effect on the cell receptors' active centres. Later it is advisable to conduct direct -chemical calculations of electronic structure of medicines under analysis and Local Anaesthetics showing the same effect. It will let us quantitatively estimate the structure of receptor'satisfactory active centre in biomembrane and introduce the new criteria for prognosing anaesthetics' biological potency.