

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

**ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
НОВЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНО N-ЗАМЕЩЕННЫХ АМИНОВ**

**TOXICOLOGICAL STUDY OF NOVEL
FUNCTIONALLY N-SUBSTITUTED AMINES**

**Г.А. Фомичева^{1*}, Е.Ю. Афанасьева¹, Д.М. Зверев², Е.Я. Борисова²,
Е.В. Арзамасцев¹, Н.Ю. Борисова², М.И. Черкашин³, А.Е. Соханенкова¹**

**G.A. Fomicheva^{1*}, E.Yu. Afanas'eva¹, D.M. Zverev², E.Ya. Borisova²,
E.V. Arzamastsev¹, N.Yu. Borisova², M.I. Cherkashin³, A.E. Sokhanenkova¹**

¹ ФГУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздравсоцразвития, Москва

² Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова

³ Институт химической физики им. Н.Н. Семенова, Москва

¹ Federation State Institution «Institute of Experimental Cardiology of Russia of the Research-and-Production Complex» at Ministry of Health and Social Development, Moscow, Russia

² M.V.Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology. Moscow, Russia

³ N.N.Semenov Institute of Chemical Physics, Moscow, Russia

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: полифункциональные амины, антиаритмические препараты, исследование токсичности, ЛД₅₀

KEY WORDS: polyfunctional amines, antiarrhythmic drugs, low toxicity, LD₅₀

РЕЗЮМЕ: Поиск лекарственных средств для лечения нарушений сердечного ритма является важнейшей задачей современной фармакологии в связи с тем, что аритмии являются основной причиной внезапной смерти при острых формах ишемической болезни сердца (ИБС), частыми осложнениями,отягощающими течение и прогноз различных заболеваний, одной из причин временной и стойкой утраты трудоспособности, ухудшения качества жизни пациентов кардиологического профиля. Различные формы аритмий, их огромная распространенность и опасность для жизни являются основными причинами, заставляющими создавать новые более эффективные и безопасные лекарственные средства для профилактики и лечения нарушений сердечного ритма. При изучении антиаритмической активности впервые синтезированных гетероалифатических аминоамидов и аминоэфиров установлено, что они малотоксичны и обладают высокой антиаритмической актив-

ностью. Некоторые соединения ряда аминоамидов показали высокую активность при нарушении сердечного ритма, вызванного ишемией миокарда, и при изучении токсичности на лабораторных животных они также были малотоксичными по показателям среднесмертельных доз (ЛД₅₀).

ABSTRACT: Searching of new antiarrhythmics is a critical goal of the present-day pharmacology, because rhythm disorders often lead to sudden death of patients with acute forms of ischemic heart disease, complicate the course and the prognosis for variety of diseases, condition temporary and total incapacitation, deteriorate health-related quality of cardiologist patient's life. Different types of arrhythmias, their prevalent rate and hazard for life are the reasons to create new effective and safe medicines for prevention and treatment of cardiac rhythm disorders. It has been established that the first time synthesized heteroaliphatic amino amides and amino ethers have low toxicity and high antiarrhythmic activity. Some compounds of the amino amide series have shown ex-

* Адрес для переписки: Фомичева Г.А.; ФГУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздравсоцразвития, лаборатория лекарственной токсикологии, 121552, Москва, 3-я Черепковская ул., д.15-а

pressed activity in the myocardial infarction-induced rhythm disorders; they were low toxic in the studies of medium-lethal doses (LD₅₀) on animal models.

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия многими авторами было показано, что нарушения сердечного ритма и лекарственные средства для их лечения представляют собой более сложную проблему, чем считалось ранее. Установлено, что антиаритмические препараты требуют индивидуального подхода при выборе схемы лечения и тщательного подбора доз, так как наиболее активные из них обладают сравнительно узким терапевтическим диапазоном и занимают место среди лекарственных средств направленного действия, применяемых в медицине. В ряде случаев, особенно при передозировке, они могут вызвать более опасные аритмии. Несмотря на имеющиеся успехи инвазивных методов лечения (имплантируемые дефибрилляторы, радиочастотная абляция и другие), они не отменяют огромной практической значимости антиаритмической фармакотерапии и необходимости ее проведения у пациентов (Фогорс, 2009). В связи с этим сохраняется актуальность создания и поиск новых более активных и менее токсичных, лишенных нежелательных побочных эффектов антиаритмических средств. Необходимы малотоксичные и длительно действующие лекарственные препараты.

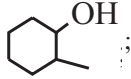
Многие известные нежелательные побочные эффекты антиаритмических лекарственных средств (гипотония, нарушение проводимости, изменения со стороны желудочно-кишечного тракта и др.) зависят от дозы препарата (Каверина и др., 1998), что ограничивает их применение. Поэтому поиск новых биологически активных соединений, обладающих высокой антиаритмической и анальгетической активностью, — актуальная задача, стоящая перед химиками-синтетиками и фармакологами.

Известно, что одним из наиболее правильных подходов к поиску новых перспективных, малотоксичных и длительно действующих лекарственных средств является исследование зависимости токсичности и активности от структуры химических веществ (Кушаковский, 1999; Метелица, 2002). В качестве исследуемых химических соединений были выбраны впервые синтезированные гетероалифатические аминоксиды (I) и аминоксиды (II) с различными заместителями при аминной, ацильной группах с переменной длиной гетероалифатической и алифатической (n = 2, 4, 6, 7) цепи между функциональными группами.



где:

R¹ = Ar, ArOCH₂;

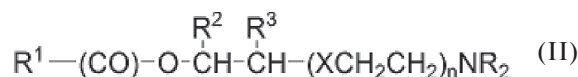
R² = H, PhNHPh, 

R³ = H, Ph;

X = O, CH₂;

n = 0, 1, 2; 

NR₂ = N(CH₃)₂, N(C₂H₅)₂;



где:

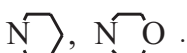
R¹ = C₆H₅, C₆H₅OCH₂, 2,4 Cl₂C₆H₃OCH₂;

R² = R³ = H;

R² + R³ = (CH₂)₄;

X = O, CH₂;

n = 0, 1, 2;

NR₂ = .

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Антиаритмические свойства веществ оценивались с использованием комплекса экспериментальных моделей нарушения сердечного ритма, в которых аритмии возникают и поддерживаются различными механизмами. При этом эффективность антиаритмического действия соединений характеризуется их способностью предотвращать развитие нарушений сердечного ритма или прекращать уже развившуюся аритмию и восстанавливать нормальный синусовый ритм.

Антиаритмические свойства изучаемых соединений сравнивали с активностью известных и широко применяющихся в клинической практике антиаритмиков. Эксперименты проведены на мышах линии BALB/c (самцы и самки, масса тела 18—20 г), крысах Wistar (самцы и самки, масса тела 180—240 г) и кроликах Шиншилла (самцы и самки, масса тела 2,5—3,5 кг) в несколько этапов.

При изучении токсичности на 1-м этапе исследуемые вещества вводили однократно внутрибрюшинно мышам линии BALB/c для определения ориентировочных показателей ЛД₅₀ методом Deichman, Le Blanc на небольшом количестве животных (5—8 мышей). Затем в развернутом эксперименте устанавливали точное значение параметров токсичности, используя метод пробит-анализа по Литчфильду и Уилкоксоу. Наблюдения и регистрацию гибели мышей проводили в течение 14 дней, при этом фиксировали признаки токсического действия препаратов: например, заторможен-

ность, вялость, частое дыхание, судорожные сокращения кратковременного характера. Таким образом отмечали количество выживших и погибших животных в указанные сроки. Используемый 2-этапный метод определения токсичности изучаемых химических соединений зарекомендовал себя быстрым, экономичным и высокоинформативным (Arzamascev, 1991, 1992).

Далее для первичной оценки антиаритмических свойств соединений использовали аконитиновую модель аритмии у крыс, механизмы возникновения которой обусловлены изменением функционального состояния натриевых каналов кардиомиоцитов (Szekeres, 1979; Юрявичюс, 1992). Внутривенное введение наркотизированным уретаном (850 мг/кг, в/бр) крысам Wistar аконитина гидробромида в дозе 40,0 мкг/кг вызывало желудочковую экстрасистолию, быстро переходящую в тахисистолию, трепетание, фибрилляцию желудочков и приводящую более чем в 95% случаев к гибели животных. Аритмия возникала через 1–2 мин после введения аконитина гидробромида. Гибель наступала на 15–25 мин. Этот вид аритмии смешанного предсердно-желудочкового типа близок расстройствам сердечного ритма, наблюдаемым в клинике при различных поражениях миокарда. Функциональное состояние сердечно-сосудистой системы крыс оценивали электрокардиографически во II стандартном отведении с помощью одноканального электрокардиографа ЭКГТ-ОЗМ2 (Россия), при скорости записи 25 мм/с и калибровке 10 мм/мВ, на 1, 2, 5, 10, 15, 20, 30 и далее каждые 15 мин в течение 120 мин после в/в введения препаратов и аконитина. Исследуемые соединения в дозах 1/10–1/100 от ЛД₅₀ (для мышей при в/б введении) и препараты сравнения вводили в/в за 5–7 мин до введения аконитина. Эффективность антиаритмического действия изучаемых соединений оценивали по длительности аритмии или по ее предотвращению, а также по увеличению латентного периода. Сравнительную оценку эффективности исследуемых антиаритмических свойств проводили в сравнении с известными антиаритмическими средствами, применяемыми в клинике — амиодароном, пропранололом (обзиданом), лидокаином и верапамилом.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что ЛД₅₀ изучаемых соединений находится в широком диапазоне доз и зависит от их химической структуры. По результатам исследования был проведен отбор изучаемых аминоксидов и аминоксифиров. Обладающие наименьшей токсичностью соединения, ЛД₅₀ которых составило (или было в диапазоне) 120–940 мг/кг, были подвергнуты дальнейшему более детальному и расширенному изучению.

Сравнение различных функционально замещенных аминов позволило проследить влияние природы основной группы на токсичность соединений. При сравнении аминоксидов (I) и аминоксифиров (II) выяснилось, что аминоксиды в 1,5–3 раза токсичнее аминоксифиров.

Рассмотрим более подробно влияние фрагментов молекулы на токсичность аминоксидов. Введение амидной группы в молекулу амина повышает токсичность соединения в зависимости от структуры амидной группы в несколько раз. Природа амидной группы — важный фактор биологического действия аминоксидов: третичные аминоксиды менее токсичны чем вторичные. Это хорошо видно из сравнения данных по токсичности амидоксидов дифениламинного ряда и арилалифатического ряда. Однако аминоксидоксиферы циклогексанового ряда плохо растворимы в воде, а некоторые не растворимы и в органических растворителях. Это свойство затрудняло дальнейшее исследование веществ.

Было важно проследить влияние характера ацильного остатка в амидной группе на токсичность соединений. Это хорошо прослеживается в разных рядах. Токсичность увеличивается при введении фенильного радикала в ацильную группу, а при введении заместителя в бензольное кольцо понижается (Пуппи и др., 1998; Борисова, 2001).

Определяющее влияние на биологическое действие аминоксидов оказывает длина углеродной цепи (n) и введение атома кислорода в углеродную цепь. В результате эксперимента было выявлено, что введение фенильного заместителя в метиленовую цепь, соединяющую функциональные группы, существенно повышает токсичность аминоксидов, а введение кислорода значительно уменьшает.

Токсическое действие функционально замещенных аминов в значительной степени зависит от характера заместителей аминоксифиров: наличие морфолинового цикла в молекуле аминоксида снижало токсичность соединения в несколько раз.

Установлено, что токсическое действие аминоксидов в зависимости от характера аминоксифиров уменьшается в ряду NC₅H₁₀ (пиперидино) > N(C₂H₅)₂ (диэтиламино) > NC₄H₈O (морфолино).

Анализируя влияние строения веществ на токсичность аминоксифиров (II), установлено, что введение сложноксифированной группы в молекулу амина повышает токсичность соединения. Структура ацильного остатка в сложноксифированной группе существенно влияет на токсичность аминоксифиров — это прослеживается во всех изученных рядах. Токсичность значительно уменьшается при введении оксиметильного фрагмента в бензольный радикал ацильной группы, а введение атомов хлора в бензольное кольцо повышает токсичность.

Определяющее влияние на токсичность аминоксифиров, как и аминоксидов, оказывает длина уг-

леродной цепи (n) и введение атома кислорода в углеродную цепь (Фомичева и др., 2008).

Таким образом, N-замещенные аминоксиды (I) и аминоксиды (II) являются малотоксичными веществами и их токсичность существенно зависит как от природы углеродной цепи, соединяющей функциональные группы, так и от характера замещения у аминного атома азота (уменьшается в ряду пиперидино > диэтиламино > морфолино).

Проведенные исследования по изучению токсичности позволили четко установить диапазон доз, широту терапевтического (антиаритмического) действия соединений и продолжить дальнейшее более углубленное изучение наиболее активных веществ.

Дальнейшее изучение эффективности лечебного действия веществ проводилось на аконитиновой модели аритмий у крыс при введении аритмогена в дозе 50 мкг/кг, что приводило к возникновению тяжелых нарушений сердечного ритма и позволило оценить антиаритмическую активность изучаемых веществ в более жестких условиях и отобрать для разработки препаратов исключительно перспективные соединения.

Таким образом, сравнение антиаритмических свойств функционально-замещенных аминов с широко используемыми в медицинской практике такими антиаритмиками, как амиодарон, лидокаин и пропранолол и небентан, свидетельствует о заметных преимуществах ряда наиболее активных из изучаемых веществ, полученных в результате направленного синтеза. Они обладают меньшей токсичностью и большим терапевтическим антиаритмическим индексом (LD_{50}/ED_{50}) — важнейшими показателями, выгодно отличающими их от препаратов сравнения и свидетельствующими о перспективности их дальнейшей разработки для использования в качестве лекарственных средств профилактики и лечения нарушений сердечного ритма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучаемые соединения малотоксичны и обладают высокой антиаритмической активностью при различных нарушениях сердечного ритма. Токсичность соединений зависит от природы углеродной цепи, соединяющей функциональные группы, количества и расположения финильных радикалов в молекуле соединений, от строения ацильной группы и от характера замещения у аминного атома азота. Наиболее активные соединения перспектив-

ны для разработки на их основе антиаритмических препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

Борисова Е. Я., Гайдеров А. А., Арзамасцев Е. В., Борисова Н. Ю., Пуппи Л., Клочкова А. Р. Исследование фармакологических свойств и токсичности аминоксидов и их производных // VIII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», М., 2001. С. 555—556.

Каверина Н. В., Лысковцев В. В., Соколов С. Ф., Куцук Е. П. Новый антиаритмический препарат III класса. Фармакологические свойства и электрофизиологические механизмы // Вестник аритмологии. 1998. № 9. С. 39—42.

Кушаковский М. С. Аритмии сердца. 2-е изд. СПб: Фолиант, 1999. С. 99—104.

Метелица В. И. Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых лекарственных средств. 2-е изд. М.: БИНОМ, СПб.: Невский Диалект, 2002. С. 134—162.

Пуппи Л., Попова И. Л., Головкин П. В., Бурделев О. Т. Биологически активные аминоксиды. М.: Деп. в ВИНИТИ, 1998. № 3064. В 98.

Фогорс Р. Н. Антиаритмические средства. 2-е изд. Пер. с англ. / Под ред. Ю. М. Позднякова, А. В. Тарасова. М.: БИНОМ, 2009. 200 с.

Фомичева Г. А., Афанасьева Е. Ю., Зверев Д. М., Ву Хон Шон, Арзамасцев Е. В., Борисова Е. Я., Борисова Н. Ю. Исследование антиаритмической активности новых аминоксидов и аминоксидоэфиров на различных моделях аритмий // XV Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», М., 2008. С. 453—454.

Фомичева Г. А., Афанасьева Е. Ю., Зверев Д. М., Арзамасцев Е. В., Борисова Н. Ю., Борисова Е. Я. Сравнительная антиаритмическая активность впервые синтезированных гетероалифатических аминоксидов и аминоксидов на различных моделях аритмии // XVII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», М., 2010.

Юрвичус И. А. Регуляция обмена ионов в миокарде. Генез аритмий и механизмы действия антиаритмических средств. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Каунас, 1992.

Arzamastsev E. V. A cheap combined method for determination LD50 // Abstracts of VI Intern. Congress of Toxicology. Italy, Rome, 1992.

Arzamastsev E. V., Krepkova L. V., Terekhova O. A., Malinovskaya K. I. Laboratory animals in study of drug safety in the USSR // Reports of XII Int. Symp. of Laboratory Animals and Experimental Medicine. Berlin, 1991.

Szekeress L. Experimental models for the study of antiarrhythmic agents // Prog Pharmacol. 1979, 2/4:25—31.