

# ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

## ТОКСИЧНОСТЬ НОВЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНО ЗАМЕЩЕННЫХ АМИНОВ

## TOXICITY OF NOVEL FUNCTIONALLY SUBSTITUTED AMINES

**Е.Ю. Афанасьева<sup>1\*</sup>, Е.Я. Борисова<sup>2</sup>, Е.В. Арзамасцев<sup>1</sup>,  
Н.Ю. Борисова<sup>3</sup>, М.И. Черкашин<sup>3</sup>  
E.Yu. Afanas'eva<sup>1\*</sup>, E.Ya. Borisova<sup>2</sup>, E.V. Arzamastsev<sup>1</sup>,  
N.Yu. Borisova<sup>4</sup>, M.I. Cherkashin<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Российский Кардиологический научно-производственный комплекс МЗ РФ, лаборатория лекарственной токсикологии

<sup>2</sup> ГОУ ВПО ММА им. И.М. Сеченова, кафедра токсикологической химии.

<sup>3</sup> Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова.

<sup>1</sup> Institute of Experimental Cardiology of Russia of the Cardiology Research-and-Production Complex of the Ministry of Public Health of Russia, Laboratory of Medicinal Toxicology.

<sup>2</sup> I.M. Sechenov Moscow Medical Academy, Department of Toxicological Chemistry.

<sup>3</sup> M.V. Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** полифункциональные амины, антиаритмические препараты, малотоксичные вещества, ЛД<sub>50</sub>.

**KEY WORDS:** polyfunctional amines, antiarrhythmic drugs, low toxicity, LD<sub>50</sub>.

**РЕЗЮМЕ:** В настоящее время общепризнанным является тот факт, что нарушения ритма сердца сопровождают практически все заболевания сердечно-сосудистой системы, обусловленные, как органическими поражениями сердца, так и его функциональными расстройствами. Среди причин аритмий, в первую очередь, следует отметить ишемическую болезнь сердца, острый инфаркт миокарда, гипертоническую болезнь, миокардиты, ревматические пороки клапанов и ряд других заболеваний.

При изучении токсичности установлено, что по показателям среднесмертельных доз (ЛД<sub>50</sub>) при однократном введении лабораторным животным исследуемые функционально замещенные амины являются малотоксичными веществами.

Фундаментальные исследования впервые синтезированных новых классов полифункциональных соединений позволили выявить вещества, обладающие ярко выраженной антиаритмической активностью и поэтому весьма перспективные для создания на их основе лекарственных средств.

**ABSTRACT:** Some cardiac rhythm breakdown accompanies practically all the cardiovascular system diseases, stipulated by as organic defects of the heart, as its functional frustrations. It is a generally recognized fact at present. Amongst the reasons of arrhythmia the ischemic disease of heart is to be considered in the first place, acute myocardial infarction hypertonic disease, myocarditis, rheumatic vices of valves and some other diseases. Toxicological studies in laboratory animals with single administration of medium-lethal doses (LD<sub>50</sub>) have shown, that studied functionally substituted amines have low toxicity. The fundamental investigations on the first time synthesized new classes of multifunctional compounds allowed to reveal the substances possessing brightly expressed antiarrhythmic activity. And therefore it was perspective to develop some medicines on their base.

### Введение

Одной из наиболее важных проблем кардиологии является защита сердца от аритмий, в связи с чем поиск новых антиаритмических препаратов не теряет своей актуальности (Крылатов и др., 2002). Несмотря на эффективность немедикаментозных методов лечения, медикаментозная терапия занимает ведущее место (Мюжика и др., 1995). В последние годы для лечения больных с аритмиями стали

\*Адрес для переписки:  
Афанасьева Елена Юльевна  
Россия, 121552, Москва, 3-я Черепковская ул., д.15-а  
Российский Кардиологический научно-производственный комплекс МЗ РФ, лаборатория лекарственной токсикологии  
E-mail: embroilment@mail.ru

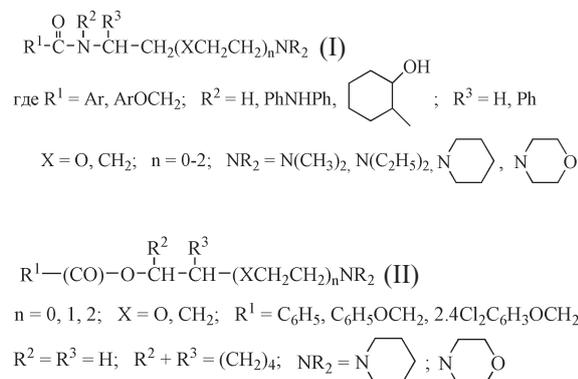
широко использоваться хирургические методы и имплантация различных технических устройств для электроимпульсной терапии, но основным методом предупреждения и лечения нарушений ритма сердца по-прежнему остается фармакотерапия.

Несмотря на большое число исследований, посвященных поиску перспективных лекарственных средств, и на значительное количество препаратов, применяемых в терапевтической практике, поиск новых более активных и менее токсичных соединений по-прежнему актуален. Необходимы малотоксичные и длительно действующие лекарственные средства.

Однако большинство лекарственных препаратов вызывают нежелательные побочные эффекты, их применение может сопровождаться нарушением проводимости, развитием сердечной недостаточности, гипотонией, множеством побочных действий со стороны желудочно-кишечного тракта и центральной нервной системы. Эти явления бывают дозозависимы (Каверина и др., 1998).

Перечисленные недостатки ограничивают их применение, в связи с чем поиск новых биологически активных соединений с сочетанием противоаритмической, местноанестезирующей и анальгетической активностей – актуальная задача, стоящая перед химиками-синтетиками и фармакологами. В соответствии с вышеизложенным, проблема адекватной терапии нарушений сердечного ритма и поиск новых лекарственных препаратов с высокой антиаритмической активностью и лишенных нежелательных побочных эффектов являются одними из самых актуальных проблем современной кардиофармакологии (Каверина, 1995; Машковский, 1996).

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



## Материалы и методы

При изучении токсичности указанных соединений использовали двухэтапный метод определения показателей токсичности. Исследование выполняли на мышах линии BALB/C (самцы и самки, масса тела 18-20 г) при однократном внутривенном введении. Для этого на I этапе исследования токсичности методом Deichman, Le Blanc на малом количестве животных (5-7 мышей) определяли показатели ориентировочной ЛД<sub>50</sub>.

На втором этапе в развернутом эксперименте устанавливали точное значение параметров токсикометрии с использованием метода пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксоу.

Использование двухэтапного комбинированного метода позволяет быстро и надежно определить параметры токсичности и, что немаловажно экономить до 30-40% животных.

Наблюдение за животными продолжалось 7-10 дней, во время которого отмечали гибель животных. Картина отравления при введении доз, близких к ЛД<sub>50</sub>, соединений из группы аминоксидов (I) и аминоксиферов (II) характеризовалась кратковременным учащением дыхания, сменяющимся заторможенностью и адинамией, затем появлялись клонико-тонические судороги и наступала гибель животных в течение ближайших 30-60 мин после введения исследуемых веществ.

Опыты по первичной оценке антиаритмической активности изучаемых соединений выполнены на наркотизированных уретаном (850 мг/кг) крысах Wistar (самцы и самки, масса тела 180-240 г). Изменения ритма сердечной деятельности в этих и во всех последующих экспериментах регистрировали электрокардиографически во II стандартном отведении на электрокардиографах ЭК1Т 03М2 на 1, 2, 5, 10, 15, 20, 30 и далее каждые 15 минут, до 120 минут. Нарушения ритма на аконитиновой модели аритмии вызывали по стандартной методике (Szekeres, 1979). Аконитин гидробромид вводили в дозе 40-50 мкг/кг в/в в течение 20 сек. Исследуемые соединения в дозах 1/10 от ЛД<sub>50</sub> (для мышей при в/б введении) и препараты сравнения в эффективных антиаритмических дозах вводили в/в за 5-7 минут до аконитина. Антиаритмическую активность соединений оценивали по выживаемости животных и длительности аритмии или по ее предотвращению.

## Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что при однократном в/б введении мышам линии BALB/c изучаемых аминоксидов и аминоксиферов ЛД<sub>50</sub> колеблется в широком диапазоне доз и в значительной мере зависит от химической структуры изучаемых веществ. Большинство исследуемых соединений являются малотоксичными веществами, при этом показатели ЛД<sub>50</sub> составляли 110-940 мг/кг.

Выбор объектов исследования позволил проследить влияние различных фрагментов структуры

исследованных соединений на их токсичность. В работе использовались аминокспирты, аминоксамиды и аминокэфирные циклогексанового, дифениламинового, алифатического, арилалифатического и оксипропиленового рядов (Борисова, 1995; Пуппи, 1998). Сравнение различных функционально замещенных аминов позволило проследить влияние природы основной группы на токсичность соединений. Так оказалось, что во всех случаях аминоксамиды и аминоксамиды токсичнее аминокспиртов. Если сравнивать аминоксамиды (I) и аминоксамиды (II), то (I) в 1,5-3 раза токсичнее (II).

Рассмотрим более подробно влияние фрагментов молекулы на токсичность аминоксамидов. Введение амидной группы в молекулу амина повышает токсичность соединения, в зависимости от структуры амидной группы, в 1,5-4 раза. Природа амидной группы – важный фактор биологического действия аминоксамидов: третичные аминоксамиды менее токсичны, чем вторичные. Это хорошо видно из сравнения данных по токсичности амидоаминов дифениламинного ряда и арилалифатического ряда. Однако амидоамины дифениламинового ряда плохо растворимы в воде, а некоторые не растворимы и в органических растворителях. Это свойство затруднит дальнейшее исследование веществ.

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 введение заместителя в бензольное кольцо понижает токсичность (Пуппи, 1998; Борисова и др., 2001).

Определяющее влияние на биологическое действие аминоксамидов оказывает длина углеродной цепи (n) и введение атома кислорода в углеродную цепь. Показано, что введение фенильного заместителя в метиленовую цепь, соединяющую функциональные группы, в несколько раз повышает токсичность аминоксамидов. А введение кислорода в метиленовую цепь благоприятно влияет на токсичность. Она понижается в среднем в 2 раза.

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

Найдено, что токсическое действие аминоксамидов в зависимости от характера аминоксамидной группы уменьшается в ряду  $NC_5H_{10}$  (пиперидино) >  $N(C_2H_5)_2$  (диэтиламино) >  $NC_4H_8O$  (морфолино).

При рассмотрении влияния структуры на токсичность аминоксамидов (II) выяснилось, что введение сложноэфирной группы в молекулу амина делает соединение в зависимости от структуры этой группы, до 3 раз более токсичным. Природа ацильного остатка в сложноэфирной группе оказывает значительное влияние на токсичность аминоксамидов, что хорошо прослеживается во всех изученных рядах. Токсичность значительно уменьшается при введении оксиметильного фрагмента в бензоильный радикал

ацильной группы. А введение атомов хлора в бензольное кольцо повышает токсичность.

Определяющее влияние на токсичность аминоксамидов, как и аминоксамидов, оказывает длина углеродной цепи (n) и введение атома кислорода в углеродную цепь (Афанасьева и др., 2003а; Афанасьева и др., 2004). Показано, что введение фенильного заместителя в оксиметиленовую цепь, соединяющую функциональные группы, почти в десять раз повышает токсичность аминоксамидов. В тоже время введение кислорода в метиленовую цепь благоприятно влияет на токсичность. Она понижается в среднем в 2,5 раза.

Найдено, что токсическое действие аминоксамидов зависит от характера аминоксамидной группы и уменьшается в ряду  $NC_5H_{10}$  (пиперидино) >  $N(CH_3)_2$  (диметиламино) >  $NC_4H_8O$  (морфолино) (Афанасьева и др., 2003б; Борисова и др., 2003).

Таким образом, N-замещенные аминоксамиды (I) и аминоксамиды (II) являются малотоксичными веществами, и их токсичность зависит:

- от природы углеродной цепи, соединяющей функциональные группы,

- от характера замещения у аминного атома азота (уменьшается в ряду пиперидино > диэтиламино > морфолино),

- от количества и расположения фенильных радикалов в молекуле соединений,

- от строения ацильной группы.

Проведенное исследование по токсичности позволило обоснованно выбрать дозу, установить терапевтический диапазон и отобрать соединения для дальнейшего исследования с целью разработки препаратов антиаритмического действия (Черкашин и др., 1990). Для первичной оценки антиаритмических свойств впервые синтезированных аминоксамидов и аминоксамидов использовали модель аконитиновой аритмии у крыс. При токсикологическом изучении установлено, что активные в антиаритмическом отношении соединения исследуемого класса веществ являются малотоксичными при однократном введении лабораторным животным, хорошо переносятся при повторном введении.

Использование аконитиновой модели нарушения сердечного ритма у крыс для отбора веществ, обладающих антиаритмическими свойствами, оправдано тем, что аконитин гидробромид в испытанной дозе 40-50 мг/кг при в/в введении моделирует наиболее тяжелые, не совместимые с жизнью нарушения сердечного ритма у человека, что позволяет оценивать антиаритмическую активность изучаемых веществ в жестких условиях и отбирать для дальнейшей разработки только перспективные соединения.

Объективность и результативность скрининга повышаются проведением параллельного эксперимента с известными антиаритмическими лекарственными средствами, хорошо зарекомендовавшими себя в клинике при лечении различных нарушений ритма сердца, и использованием нескольких доз изучаемых веществ (в диапазоне 1/100 – 1/10 ЛД<sub>50</sub>, но не превышающих ЛД<sub>10</sub>), позволяющих определить средние

эффективные антиаритмические дозы ( $ED_{50}$ ).

Сопоставление  $ED_{50}$  и терапевтических индексов ( $LD_{50}/ED_{50}$ ) изучаемых веществ и антиаритмических препаратов сравнения позволяет провести реальную оценку перспективности разработки нового лекарственного средства для профилактики и лечения нарушений сердечного ритма на основе наиболее активного изучаемого соединения.

### Заключение

Выявлена роль различных группировок и некоторых особенностей химического строения соединений в проявлении их антиаритмического действия и токсичности, что позволило провести направленный синтез веществ с выраженными антиаритмическими свойствами и низкой токсичностью.

На основании полученных данных впервые синтезированы и изучены N-замещенные аминоксифиды и аминоксифиды, обладающие высокой антиаритмической активностью, сравнимой, а в ряде случаев превосходящей активностью известных средств для профилактики и лечения нарушений сердечного ритма.

### Литература

- Афанасьева Е.Ю., Арзамасцев Е.В., Борисова Н.Ю., Колобкова Т.П., Борисова Е.Я. 2003а. Изучение фармакологических свойств и токсичности новых карбоциклических аминоксифидов и аминоксифидов // X Российский национальный конгресс "Человек и лекарство". Москва. Тез. докл. М. С.575.
- Афанасьева Е.Ю., Борисова Н.Ю., Молоткова О.Г., Колобова Т.П., Арзамасцев Е.В., Борисова Е.Я. 2003б. Изучение токсикологических свойств новых сложных эфиров аминоксифидов // II съезд токсикологов России. Москва. Тез. докл. М. С.445.
- Афанасьева Е.Ю., Арзамасцев Е.В., Борисова Н.Ю., Акиндинова Ю.О., Борисова Е.Я., Колобкова Т.П. 2004. Фармакологические свойства и токсикологическая характеристика новых производных аминоксифидов и амидоксифидов циклогексанового ряда. // XI Российский национальный конгресс "Человек и лекарство". Москва. Тез. докл. М. С.758.
- Борисова Е.Я., Зайченко Н.Л., Григорьев Д.Н. и др. 1995. Конформации N-замещенных арилалкилатических аминоксифидов. Спектры ЯМР 1H и 13C, компьютерный анализ // ЖОрХ. Т.31. №10. С.1542. 17.
- Борисова Е.Я., Гайдеров А.А., Арзамасцев Е.В., Борисова Н.Ю., Пуппи Л., Клочкова А.Р. 2001. Исследование фармакологических свойств токсичности аминоксифидов и их производных. VIII Российский национальный конгресс "Человек и лекарство". Москва. С.555-556.
- Борисова Е.Я., Арзамасцев Е.В., Черкашин и др. // Патент № 2128163 от 27.03.99.
- Борисова Н.Ю., Афанасьева Е.Ю., Рябова Т.Ю., Борисова Е.Я., Арзамасцев Е.В. 2003. Токсикологическая характеристика N-замещенных аминоксифидов // II съезд токсикологов России. Москва. Тез. докл. М. С.449-451.
- Каверина Н.В., Лысковцев В.В., Соколов С.Ф., Кишук Е.П. 1998. Новый антиаритмический препарат III класса. Фармакологические свойства и электрофизиологические механизмы // Вестник Аритмологии. 9. С.39-42.
- Каверина Н.В. 1995. Антиаритмические средства: состояние проблемы и перспективы // В сб. тезисов: Фундаментальные исследования как основа создания лекарственных средств. М. С.180.
- Кушаковский М.С. 1999. Аритмии сердца (2-е издание). СПб.: "Фолиант". С.99-104.
- Крылатов А.В., Ужаченко Р.В., Маслов Л.Н., Угдыжекова Д.С., Бернацкая Н.А., Пертви Р.Г., Стефано Дж.Б., Макриянис А. 2002. О способности анандамида повышать устойчивость сердца к аритмогенному действию коронароокклюзии и реперфузии через активацию СВ-2-рецепторов // Вестник аритмологии. С.22.
- Машковский М.Д. 1996. Лекарственные средства. М.: Медицина.
- Метелица В.И. 2002. Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых лекарственных средств. 2-е изд. М.: БИНОМ – СПб.: Невский Диалект. С.134-162.
- Мюжика Ж., Егоров Д.Ф., Барольд С. 2004. Новые перспективы в электрокардиостимуляции производных аминоксифидов и амидоксифидов циклогексанового ряда. // XI Российский национальный конгресс "Человек и лекарство". Москва. Тез. докл. М. С.758
- Пуппи Л., Попова И.Л., Головков П.В., Бурделев О.Т. и др. 1995. Биологически активные аминоксифиды // Деп. в ВИНТИ, №3064-В98, 21.10.98. С-Пб.
- Черкашин М.И., Борисова Е.Я., Комаров В.М., Зубов А.Н., и др. 1990. Влияние строения на биологическую активность аминоксифидов // ДАН СССР. Т.313. №3. С.623.
- Szekeres L. 1979. Experimental models for the study of antiarrhythmic agents // Progr. Pharmacol. P.2, 4, 25, 31.