

УДК 615.224.615.216.001.891.53

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2023.28.17.008>

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО 2'-БРОМФЕНИЛАМИДА 3-N,N-ДИЭТИЛАМИНОПРОПАНОВОЙ КИСЛОТЫ

О.В. Гашкова, канд. фарм. наук, доцент кафедры общей и органической химии, ФГБУ «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь, Artucha2011@yandex.ru

И.П. Рудакова, доктор мед. наук, профессор кафедры физиологии, ФГБУ «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь, rudakova.i@list.ru

А.В. Старкова, доктор мед. наук, профессор кафедры физиологии, ФГБУ «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь, allaperm@list.ru

Осуществлен синтез нового производного анилокаина (Ан-10). У 2'-бромфениламида 3-N,N-диэтиламинопропановой кислоты нитрата (Ан-10) проведена скрининговая оценка антиаритмической активности соединения на модели аритмии, вызванной внутривенным введением мышам 3% раствора хлорида кальция, на модели аритмии, вызванной строфантоном К, и использована адреналиновая модель аритмии. Проведено исследование влияния соединения Ан-10 на свертываемость крови.

Ключевые слова: 2'-бромфениламид 3-N,N-диэтиламинопропановой кислоты нитрат (Ан-10), антиаритмическая активность, влияние на гемостаз

Нарушения ритма сердца относятся к числу наиболее распространенных заболеваний сердечно-сосудистой системы. Они могут быть обусловлены как органическими поражениями сердца, так и его функциональными расстройствами [1]. Механизмы развития аритмий различны, поэтому для их лечения необходимы лекарственные средства с широким спектром антиаритмического действия. В связи с этим совершенствование фармако-

логических методов устранения и предупреждения аритмий и поиск новых лекарственных средств является важным направлением в борьбе с расстройствами ритма сердца.

Целью исследования явилось изучение антиаритмического действия нового соединения, относящегося к производным анилокаина, синтезированного на кафедре органической химии Пермской государственной фармацевтической академии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2'-бромфениламид 3-N,N-диэтиламинопропановой кислоты (анилокаин) был получен путем ацилирования 2-броманилина хлорангидридом 3-хлорпропановой кислоты с последующим аминированием диэтиламино и пропусканьем сухого HCl через эфирный раствор 2'-бромфениламида 3-N,N-диэтиламинопропановой кислоты по следующей схеме 1 [2].

С целью исследования влияния аниона кислоты на биологическую активность 2'-бромфениламида 3-N,N-диэтиламинопропановой кислоты была получена его соль с азотной кислотой (Ан-10) по схеме 2.

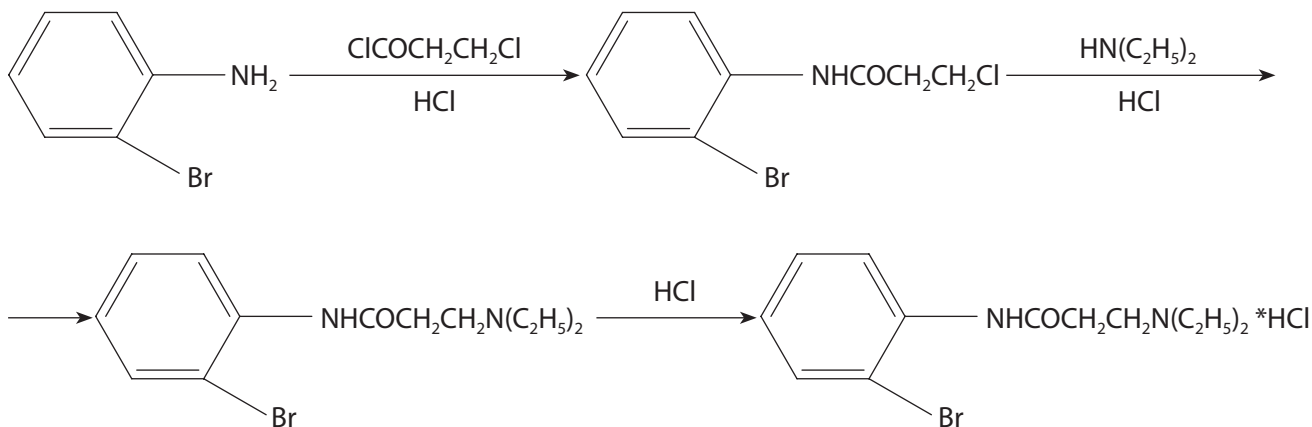


СХЕМА 1. Получение 2'-бромфениламид 3-N,N-диэтиламино-пропановой кислоты (анилокаин)

Соль представляет собой бесцветное кристаллическое вещество, растворимое в воде, этаноле, ацетонитриле, ДМФА, не растворимое в гексане, бензоле, ацетоне. Выходы, температура плавления, растворитель для перекристаллизации приведены в табл. 1.

В спектре ЯМР ^1H 2'-бромфениламида 3-N,N-диэтиламинопропановой кислоты (основание) имеются: триплет шести протонов двух CH_3 -групп этильного радикала при 1,05–1,30 м.д., в области 2,6–3,1 м.д. прописывается квадруплет четырех протонов двух CH_2 -групп этильного радикала и синглет четырех протонов двух CH_2 -групп углеродной цепи, мультиплет четырех протонов ароматического кольца при 6,9–7,6 м.д., синглет протона NH-группы при 10,1 м.д. Наличие в структуре соединений анионов кислот было доказано

с помощью вышеописанных качественных реакций [3].

Для оценки активности были выбраны модели с использованием химических веществ, аритмогенное действие которых связано с влиянием на мембрану кардиомиоцитов, чтобы иметь возможность сделать предположение о возможном механизме действия нового вещества.

В опытах на белых нелинейных мышах обоего пола, половозрелых, массой 18–25 г определяли острую токсичность соединений при внутривенном способе введения и проводили скрининговую оценку антиаритмической активности соединения на модели аритмии, вызванной внутривенным введением мышам 3% раствора хлорида кальция производства ОАО «Дальхимфарм» (Россия) в дозе

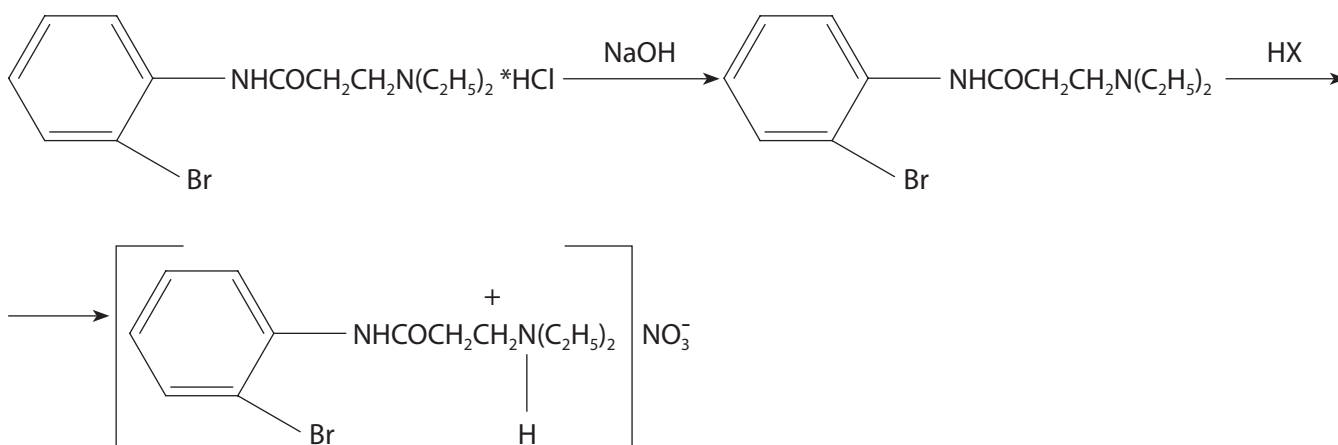


СХЕМА 2. Получение соли анилокаин с азотной кислотой (Ан-10)

Таблица 1

**ВЫХОДЫ, ТЕМПЕРАТУРА ПЛАВЛЕНИЯ, РАСТВОРИТЕЛЬ
ДЛЯ ПЕРЕКРИСТАЛЛИЗАЦИИ АНИЛОКАИНА И АН-10**

Соединение	R	X ⁻	Выход, %	Т. пл., °С /растворитель
Анилокаин	H	Cl ⁻	83,5	115–116/ацетон
Ан-10	H	NO ₃ ⁻	75,8	112–114/ацетон

280 мг/кг. Определяли среднесмертельные и эффективные антиаритмические дозы по методу Прозоровского В.Б. [4]. Активность соединения оценивали по средней эффективной дозе (ЭД₅₀) и антиаритмическому индексу (АИ = ЛД₅₀/ЭД₅₀).

Антиаритмическое действие наиболее активного соединения изучали на белых нелинейных мышах обоего пола, половозрелых, массой 18–25 г на модели аритмии, вызванной строфантин К производства АО «Галичфарм» (Украина), который вводили внутривенно в дозе 1 мг/кг через 2 мин. после введения исследуемого вещества [5]. Учитывали частоту гибели животных и продолжительность их жизни. Соединение вводили внутривенно в эффективной противоаритмической дозе.

Кроме того, для исследования активности вещества была использована адреналиновая модель аритмии. опыты проводили на белых нелинейных мышах обоего пола, половозрелых, массой 18–24 г. У наркотизированных животных регистрировали ЭКГ с помощью электрокардиографа одноканального ЭК1Т-1/3-07 «АКСИОН» (изготовитель – ООО «Концерн «Аксион», Россия) в II стандартном отведении. Затем в хвостовую вену вводили раствор адреналина производства ФГУП «Московский эндокринный завод» (Россия) в дозе 100 мкг/кг. Через 1–2 мин. у мышей развивалась фибрилляция желудочков сердца. ЭКГ регистрировали через 1, 2, 3, 5, 10, 20 мин. после введения адреналина. Изучаемое соединение вводили в эффективной дозе внутривенно

за 1–2 мин. до введения адреналина. Эффективность исследуемого вещества оценивали по его способности предотвращать нарушения сердечного ритма и гибели животных от фибрилляции [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве препарата сравнения животным вводили лидокаин производства ОАО «Биохимик» (Россия) в эффективной противоаритмической дозе. Данные, полученные в результате опытов, отражены в табл. 2.

ЛД₅₀ исследуемого соединения составила 36,8 мг/кг, эффективная антиаритмическая доза (ЭД₅₀) – 6,5 мг/кг, т. е. АИ оказался равным 5,7. Его величина соответствует АИ лидокаина (5,1), однако по сравнению с показателем анилокаина (3,7) он оказался несколько выше.

Установлено, что после внутривенного введения строфантина К у всех животных возникает нарушение ритма сердца. При этом в контрольной серии опытов гибель на фоне возникшей аритмии наступает в 62% случаев.

При введении исследуемого вещества гибель животных составила 20%, что значительно меньше по сравнению с контролем (p=0,024). При использовании анилокаина и лидокаина смертность зарегистрирована также в 10% и 20% случаев соответственно.

В опытах с введением как нового соединения, так и лидокаина продолжительность

Таблица 2

АНТИАРИТМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОЕДИНЕНИЯ АН-10 В УСЛОВИЯХ АРИТМИЙ, ВЫЗВАННЫХ ВВЕДЕНИЕМ ХИМИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ МЫШАМ, М±М

Соединения	ЭД ₅₀ , мг/кг	Хлорид-кальциевая аритмия	Строфантиновая аритмия		Адреналиновая аритмия
		АИ (ЛД ₅₀ /ЭД ₅₀)	Продолжительность жизни, мин	Гибель, %	Гибель, %
Контроль	–	–	19,0±1,0	62	70
Ан-10	6,5	5,7	23,7±9,4 p=0,575	20 p=0,024	100
Анилокаин	16,3	3,7	38,0±0,21 p=0,01	10 p=0,05	70
Лидокаин	7,7	5,1	17,5±1,5 p=0,826	20 p=0,028	50

Примечание: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с контролем.

жизни после введения строфантина К у погибших животных составила 17,5–23,7 мин., т. е. по сравнению с контролем практически не менялась, однако в 1,8 раза оказалась меньше по сравнению с данным показателем анилокаина.

Было установлено, что исследуемое соединение не предупреждает расстройства ритма, вызванного внутривенным введением адреналина. Из результатов эксперимента следует, что при создании аритмии, вызванной введением

адреналина мелким животным в контрольной серии, гибель мышей наблюдается в 70% случаев. Внутривенное введение соединения Ан-10 в дозе, равной ЭД₅₀, не предупреждает развития аритмии. Гибель животных наступает в 100% случаев.

Известно, что среди фармакологических эффектов антиаритмических препаратов оказывается и влияние на систему гемостаза. В связи с этим была проведена оценка свертываемости крови с помощью коагулометра

Таблица 3

ИЗМЕНЕНИЕ СВЕРТЫВАЕМОСТИ КРОВИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ СОЕДИНЕНИЯ АН-10, М±М

Шифр соединения	Время свертывания, сек., контроль	Время свертывания, сек., опыт	% изменения свертываемости	p
Ан-10	136,2±8,33	111,1±4,55	+18,4%	<0,05
Этамзилат	300,8±9,59	251,7±9,55	+16,3%	<0,01

Примечание: p – уровень статистической значимости различий по сравнению с контролем

АПГ4-02-П (изготовитель – ООО «ЭМКО», Россия). Для исследования использовали цитратную (3,8%) кровь (9:1) кроликов. Для определения активности в кювету помещали 50 мкл крови и добавляли 50 мкл 0,2% раствора исследуемого соединения. Для контроля вместо вещества добавляли 50 мкл изотонического раствора хлорида натрия. В качестве препарата сравнения использовали 0,2% раствор этамзилата производства «Лек Фармасьютикалс д.д.» (Словения), который добавляли в кровь в количестве 50 мкл. Затем пробы инкубировали в течение 60 сек. Добавляли 50 мкл 1% раствора хлорида кальция («Технология-Стандарт», Россия) и приступали к измерению времени свертывания крови, что фиксировалось прибором механическим способом [7].

При исследовании влияния соединения Ан-10 на свертываемость крови были получены результаты, представленные в табл. 3.

Из полученных результатов видно, что соединение Ан-10 ускоряет процессы свертывания крови по сравнению с контрольным образцом на 18,4%. Препарат сравнения этамзилат увеличивает свертываемость крови на 16,3% по сравнению с контролем.

ВЫВОДЫ

Таким образом, новое производное анилокаина – Ан-10 проявило выраженный антиаритмический эффект, выявленный на моделях хлоридкальциевой и строфантиновой аритмии, но не показало активности на модели адреналиновой аритмии. Это дает возможность предположить, что новое соединение скорее обладает способностью подавлять повышенный автоматизм эктопических участков миокарда, блокируя медленный ток ионов натрия в кардиомиоцитах или медленные кальциевые каналы, чем способностью блокировать адренорецепторы.

Ан-10 обладает выраженным гемостатическим действием, сопоставимым с эффектом препарата сравнения этамзилатом.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Патофизиология сердечно-сосудистой системы / под ред. Л. Лилли; пер. с англ. – 3-е изд., испр. и перераб. – Москва: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. – С. 672.*
2. *Панцуркин В.И., Алексеева И.В. Анилокаин, поиск, свойства. Начальный опыт применения лекарственных форм в медицинской практике / Монография. – Пермь: ГОУ ВПО «ПГФА Росздора». – 2006. С. 174.*
3. *Государственная фармакопея Российской Федерации – XIV изд. Т. 1–4 [Электронный ресурс]. – URL: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>*
4. *Прозоровский В.Б. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки / В.Б. Прозоровский, М.П. Прозоровская, В.М. Демченко // Фармакология и токсикология. – 1978. – Т. 41, №4. – С. 497–502.*
5. *Каверина Н.В. Методические рекомендации по экспериментальному (фармакологическому) изучению препаратов, предлагаемых для клинических испытаний в качестве средств для профилактики и лечения нарушений ритма сердца / Н.В. Каверина, З.П. Сенова // Руководящие методические материалы по экспериментальному и клиническому изучению новых лекарственных средств. – Москва: ФК МЗ СССР, 1982. – Ч. 4. – С. 95–106.*
6. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А.Н. Миронова. – Москва: Гриф и К, 2012. – С. 944.*
7. *Анализатор показателей гемостаза АПГ4-02-П. Техническое описание и инструкция по эксплуатации. – М.: ООО ЭМКО, 2012. – С. 61.*

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF A NEW DERIVATIVE OF 2'-BROMOPHENYLAMIDE 3-N,N-DIETHYLAMINOPROPANOIC ACID

O.V. Gashkova, I.P. Rudakova, A.V. Starkova

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

The synthesis of a new anilocaine derivative was carried out (An-10). In 2'-bromophenylamide 3-N,N-diethylaminopropane acid nitrate (An-10), a screening assessment of the antiarrhythmic activity of the compound was performed on a model of arrhythmia caused by intravenous administration of 3% calcium chloride solution to mice, on a model of arrhythmia caused by strophanthin K, and an adrenaline model of arrhythmia was used. The effect of the An-10 compound on blood clotting was studied.

Keywords: 2'-bromophenylamide 3-N,N-diethylaminopropanoic acid nitrate (An-10), antiarrhythmic activity, effect on hemostasis