ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР КАРДИОЛОГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Е.И. ЧАЗОВА» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

КАЛДЫРКАЕВА ОЛЬГА СЕРГЕЕВНА

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНО N, N-ДИЗАМЕЩЕННЫХ АМИНОАМИДОВ

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель – доктор медицинских наук, профессор Арзамасцев Евгений Вениаминович

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение
Глава 1. Обзор литературы
Нарушения ритма сердца, особенности механизмов действия и применения антиаритмических лекарственных средств
Глава 2. Материалы и методы исследований
Глава 3. Химическое строение, токсичность и первичная оценка антиаритмических свойств N, N – дизамещенных аминоамидов
3.1. Химическое строение и физико-химические свойства N, N – дизамещенных аминоамидов
3.2. Исследование «острой» токсичности изучаемых соединений
3.3. Первичная оценка антиаритмической активности изучаемых соединений на аконитиновой модели нарушений сердечного ритма
Глава 4. Исследование антиаритмических свойств на различных моделях нарушения сердечного ритма у лабораторных животных
4.1. Исследование антиаритмической активности отобранных соединений на аконитиновой модели нарушений сердечного ритма
4.2. Исследование антиаритмической активности отобранных соединений при внутрижелудочном способе введения
4.3. Исследование антиаритмической активности отобранных соединений на хлоридкальциевой модели нарушений сердечного ритма
4.4. Исследование антиаритмической активности отобранных соединений на хлоридбариевой модели нарушений сердечного ритма
Глава 5. Исследование фармакологических свойств наиболее активных
соединений
5.1. Изучение влияния наиболее активных соединений на центральную нервную систему
5.2. Исследование анальгетических свойств отобранных соединений
5.3. Изучение влияние отобранных соединений на функцию почек
5.4. Оценка влияния отобранных соединений на артериальное давление 88
Глава 6. Токсикологическая характеристика наиболее активных соединений
92

Список использованной литературы	132
Список сокращений и условных обозначений	131
Научно-практические рекомендации	130
Выводы	129
Заключение	122
6.9. Изучение аллергезирующих свойств соединения Б-12	120
6.8. Оценка иммунотоксичности соединения Б-12	117
6.7. Изучение мутагенных свойств отобранных соединений	109
6.6. Исследование влияния соединения Б-12 на репродуктивную функцию животных	108
6.5. Исследование эмбриотоксичности и тератогенности соединения Б-12	105
6.4. Оценка субхронической токсичности соединения Б-12	99
6.3. Исследование некоторых параметров токсикокинетики наиболее активные соединений	
6.2. Изучение кумулятивных свойств соединения Б-12	94
6.1. Оценка особенностей видовой и половой чувствительности при однократ введении лабораторным животным	
6.1. Owners and former	

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Нарушения сердечного ритма занимают центральное место среди заболеваний сердечно-сосудистой системы, вызывают серьезные осложнения в различных системах организма и служат причиной внезапной смерти. Поиск наиболее безопасных и эффективных методов лечения аритмий является одним из приоритетных направлений современной кардиологии [11, 43, 67, 85]. Несмотря на успешное внедрение в клиническую практику современных высокотехнологичных методов лечения, основным и широко используемым методом коррекции нарушений ритма сердца является фармакотерапия [21, 65, 89].

Существующие на сегодняшний день антиаритмические препараты с различными механизмами действия, относящиеся к разным классам химических ограниченной эффективностью веществ, обладают И проаритмогенным действием, значительно ограничивающим их применение в ряде клинических ситуаций [2, 91, 100]. Сложность, многообразие и широкая распространенность нарушений сердечного ритма ДИКТУЮТ необходимость поиска новых высокоэффективных противоаритмических средств [28, 31].

Привлечение новых оригинальных химических веществ и исследование зависимости их фармакологической активности от химического строения с последующим направленным синтезом соединений, проявляющих более выраженные фармакологические свойства, представляет собой наиболее рациональный подход при поиске новых фармакологически активных веществ, перспективных для практического применения в качестве лекарственных препаратов [31].

Высокая биологическая активность, наличие анальгетических, гипотензивных и ряда других фармакологических свойств, а также низкая токсичность соединений класса N, N - дизамещенных аминоамидов привлекли наше внимание, определили научное направление и характер работы. В данной

работе предусматривалось проведение скрининга антиаритмической активности среди соединений класса N, N - дизамещенных аминоамидов, оценка зависимости химического строения и активности соединений, исследования фармакологических свойств, а также токсикологическая характеристика выявленного наиболее активного соединения.

Исследования фармакологических и токсикологических свойств изучаемых соединений выполнены в соответствии с современными регуляторными стандартами в рамках Гостемы № 114 ФГБУ «НМИЦК имени академика Е.И. Чазова» Минздрава России «Изучение и разработка лекарственного средства для лечения нарушений сердечного ритма на основе N - замещенных аминоамидов и аминоэфиров».

Степень разработанности проблемы. Интерес к аминоамидам, органическим соединениям, содержащим аминную и амидную группы, обусловлен широким спектром их биологического действия. Различные по своей структуре аминоамиды обладают холинолитическим, противовоспалительным [93], гипотензивным [62] и курареподобным эффектами [164]. Широко изучена местноанестезирующая активность аминоамидов [57].

На основе аминоамидов создан ряд лекарственных препаратов: новокаинамид, тримекаин, ксикаин, флекаинид, морфоциклин и другие. Особое место занимают соединения, проявляющие антиаритмическую активность. Среди разнообразия биологически активных аминоамидов можно отметить гидрохлорид β-диэтиламиноэтиламида n-аминобензойной кислоты (новокаинамид).

$$\begin{array}{c|c} & O \\ \parallel \\ & C - N - CH_2CH_2N(C_2H_5)_2 \text{ . HCI} \\ & H \end{array} \tag{1}$$

По фармакологическим свойствам новокаинамид (1) проявляет местноанестезирующую активность. Эффективность антиаритмического действия

новокаинамида при лечении нарушений сердечного ритма составляет от 20 до 60% [11, 19, 39].

С целью увеличения активности и снижения токсичности изменяли все части молекулы новокаинамида: длину и структуру углеводородной цепи, ароматическое кольцо и его радикалы, заместители у атомов азота [12, 47]. Замена аминогруппы в молекуле новокаинамида на хлор или этоксигруппу приводит к потере антиаритмической активности. При замене NH-группы в молекуле новокаинамида на нитро- или оксигруппу антиаритмическая активность также снижается [101]. Значительно увеличивает антиаритмический эффект введение в фенильное функциональных Так, кольцо метоксигрупп. 3,4,5-триметокси-N-(2-диэтиламиноэтил) бензамид В 4 раза активнее новокаинамида [62]. Антиаритмическую активность подобно новокаинамиду сульфонамидобензамиды [144].Исследованы тонкивкодп замещенные циклические аналоги новокаинамида и диацильные производные этилендиамина [122]. Изучение циклических аналогов новокаинамида привело к созданию новых эффективных лекарственных средств для коррекции нарушений сердечного ритма: флекаинида [90, 159, 161, 171, 181], энкаинида и лоркаинида [90, 125, 171].

Антиаритмическую активность проявляют аминоамиды, в значительной степени отличающиеся по химическому строению. Модификация молекулы новокаинамида, первого антиаритмика ряда аминоамидов как моноацилированных диаминов, привела к созданию большого количества соединений, найдены среди которых вещества, проявляющие высокую антиаритмическую активность.

В РТУ МИРЭА были синтезированы соединения, и в Российском кардиологическом научно-производственном комплексе (ФГБУ «НМИЦК им. академика Е.И. Чазова» Минздрава России) изучены алифатические аминоамиды, аналоги новокаинамида, проявляющие выраженные антиаритмические и анальгетические свойства [12, 46, 63].

Несмотря на большое количество исследований, посвященных поиску перспективных препаратов для лечения нарушений сердечного ритма и на широкий спектр антиаритмических средств, применяемых в клинической практике, создание новых эффективных препаратов по-прежнему актуально. Необходим поиск малотоксичных, высокоактивных и длительно действующих лекарственных средств [4].

Цель исследования. Поиск в ряду оригинальных, впервые полученных N, N - дизамещенных аминоамидов эффективных соединений с выраженным антиаритмическим действием, оценка их фармакологических свойств, токсикологическая характеристика и обоснование перспективности создания на основе наиболее активных соединений лекарственных препаратов.

Задачи исследования. 1. Исследовать токсичность впервые синтезированных соединений класса N, N - дизамещенных аминоамидов.

- 2. Провести исследования по скринингу антиаритмических свойств соединений на аконитиновой модели аритмии.
- 3. Установить зависимость между токсичностью соединений, химическим строением и антиаритмической активностью, и отобрать наименее токсичные и наиболее активные соединения.
- 4. Провести оценку антиаритмических свойств, отобранных наиболее активных по антиаритмическому действию соединений на хлоридбариевой и хлоридкальциевой моделях аритмии, сравнить эффективность с известными и широко применяемыми в клинической практике антиаритмическими средствами.
- 5. Провести исследования фармакологических свойств, общей токсичности и специфических видов токсичности среди отобранных наиболее активных соединений.

Научная новизна. Впервые проведено изучение токсичности и исследование фармакологических свойств 20 оригинальных впервые

синтезированных соединений класса функционально N, N – дизамещенных аминоамидов.

Впервые определена зависимость природы функциональных групп в химической структуре от токсичности и антиаритмической активности соединений класса N, N – дизамещенных аминоамидов.

Впервые на аконитиновой, хлоридкальциевой и хлоридбариевой моделях аритмии исследованы антиаритмические свойства 3 наиболее активных соединений класса N, N - дизамещенных аминоамидов с высокими показателями антиаритмических индексов (ЛД $_{50}$ /ЭД $_{50}$) и индексов Шнейдера-Брокка (ЛД $_{10}$ /ЭД $_{90}$), превосходящих по данным параметрам известные и широко применяющиеся в клинической практике референс-препараты.

Впервые проведено изучение субхронической токсичности, репротоксичности, иммунотоксичности, аллергенности, мутагенных свойств, получены данные первичной токсикокинетики наиболее активных по антиаритмическому действию соединений, перспективных для разработки на их основе новых эффективных лекарственных препаратов.

Новизна проведенных исследований подтверждается 2 патентами, полученными в Российской Федерации, один из которых (патент № RU2712638) награжден Дипломом Федеральной службы по интеллектуальной собственности в номинации «100 лучших изобретений России за 2019 год и первое полугодие 2020 года».

Теоретическая и научно-практическая значимость. Определены направления поиска соединений с антиаритмическими свойствами в ряду N, N — дизамещенных аминоамидов. В результате токсикологического исследования установлено, что при однократном введении лабораторным животным отобранные наиболее активные соединения являются малотоксичными веществами, хорошо переносятся при длительном применении и не обладают

мутагенными, аллергенными, иммунотоксическими, репротоксическими свойствами.

Установленные зависимости структура «химическая активность» кафедре химии и технологии биологически применяются на активных соединений, медицинской и органической химии Российского технологического АЕЧИМ ДЛЯ направленного университета химического синтеза новых оригинальных биологически активных соединений.

Отобранные по результатам фармакологических и токсикологических испытаний соединения Б-1, Б-8 и Б-12 являются высокоперспективными для разработки на их основе новых лекарственных препаратов для профилактики и лечения нарушений сердечного ритма.

Методология и методы исследования. Исследования фармакологических свойств и токсикологическая характеристика изучаемых соединений проведены в соответствии с современными регуляторными стандартами. Все процедуры выполнялись согласно утвержденному письменному плану/протоколу, Стандартным Операционным Процедурам (СОП) лаборатории лекарственной токсикологии и согласовывались с комиссией по биоэтике ФГБУ «НМИЦ кардиологии им. академика Е.И. Чазова» Минздрава России. Изучение «острой токсичности» соединений класса N, N — дизамещенных аминоамидов проведено методом Deichman, Le Blanc [96] с дальнейшим расчетом точных показателей токсикометрии ЛД₁₀, ЛД₁₆, ЛД_{50±m}, ЛД₈₄ с использованием метода пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксону [6, 137].

Первичные скрининговые исследования антиаритмических свойств соединений проводили на *аконитиновой модели* аритмии. Антиаритмическую активность оценивали по величине латентного периода возникновения аритмии, продолжительности аритмии или ее предотвращению. После окончания эксперимента с помощью метода пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксону рассчитывали среднеэффективную дозу соединения (ЭД₅₀). Эффективность

антиаритмического действия оригинальных соединений класса N, N — дизамещенных аминоамидов и референс-препаратов оценивали по антиаритмическому индексу (ЛД $_{50}$ /ЭД $_{50}$) и более жесткому критерию - индексу Шнейдера-Брокка (ЛД $_{10}$ /ЭД $_{90}$) [165] при различных способах (в/в и в/ж), дозах и режимах введения (профилактически или с лечебной целью), как на уже применявшейся аконитиновой модели аритмии у крыс, так и на моделях нарушений сердечного ритма, вызванных *хлористым кальцием* (250 мг/кг, крысы, в/в) и *хлористым барием* (25 мг/кг крысы, в/в).

Проведено изучение фармакологических свойств (влияние на центральную нервную систему, сердечно-сосудистую систему, оценка функционального состояния почек) и дана токсикологическая характеристика влияния на различные системы организма в эксперименте (исследование мутагенных, кумулятивных, свойств, субхроническая аллергезирующих эмбриотоксичность, скрининге репротоксичность) отобранных при соединений связи В cдальнейшей разработки перспективностью лекарственных средств ДЛЯ профилактики и лечения нарушений сердечного ритма на их основе.

Положения, выносимые на защиту. 1. N, N – дизамещенные аминоамиды являются оригинальными впервые синтезированными малотоксичными соединениями с выраженной антиаритмической активностью, сопоставимой и, в ряде случаев, превосходящей широко применяемые в кардиологической практике лекарственные средства.

- 2. Токсичность N, N дизамещенных аминоамидов зависит от заместителей при аминной и амидной группе в углеродной цепи и снижается в ряду пиперидино > диэтиламино > морфолино.
- 3. Наличие у N, N дизамещенных аминоамидов пиперидина в качестве заместителя в аминогруппе приводит к повышению антиаритмической активности соединений.

- 4. Отобранные в скрининговом исследовании наиболее активные соединения с условными шифрами Б-1, Б-8 и Б-12 превосходят по показателям антиаритмических индексов (ЛД $_{50}$ /ЭД $_{50}$) и индексов Шнейдера-Брокка (ЛД $_{10}$ /ЭД $_{90}$) эффективность референс-препаратов (амиодарона, пропранолола, новокаинамида).
- 5. Выявленные антиаритмическая активность, низкая токсичность, хорошая переносимость, результаты фармакологических и токсикологических исследований свидетельствуют о перспективности разработки на основе соединения Б-12 нового эффективного и безопасного лекарственного средства для профилактики и лечения нарушений сердечного ритма.

Степень достоверности. Достоверность представленных в работе результатов подтверждается использованием современных стандартных экспериментальных методов, величиной и однородностью выборок объектов исследования, применением адекватных методов с последующей систематизацией и статистической обработкой. При подготовке обзора литературы использована современная и актуальная литература по теме диссертационного исследования.

Апробация работы. Основные положения диссертации были представлены и доложены на XXI (Москва, 2014 г.), XXIII (Москва, 2016 г.), XXIV (Москва, 2017 г.), XXV (Москва, 2018 г.) Российских национальных конгрессах «Человек и лекарство», на V Евразийском конгрессе кардиологов (Москва, 2017 г.), на VIII научной конференции молодых ученых «Инновации в химии: достижения и перспективы — 2017» (Москва, 2017 г.), на IX конференции молодых ученых «Инновации в химии: достижения и перспективы-2018» (Москва, 2018 г.).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 16 печатных работ, среди которых 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК России и входящие в международные базы Web of Science, Scopus, 10 тезисов в материалах российских научных конференций и 2 патента на изобретения, один из которых (патент № RU2712638 «N-(2-(2-(диалкиламино)этокси)этил)карбоксамиды и их

гидрохлориды, обладающие антиаритмической активностью, и фармацевтические композиции на их основе») награжден Дипломом Федеральной службы по интеллектуальной собственности в номинации «100 лучших изобретений России за 2019 год и первое полугодие 2020 года».

Личный вклад автора. Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, проведении большей части экспериментальной работы, анализе и оформлении результатов, публикуемых в научных изданиях, докладах и патентах. Написание диссертации выполнено автором лично.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 147 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, 6 глав с изложением проведенных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, научно-практических рекомендаций, списка использованной литературы. Библиография включает 182 литературных источника, из которых 70 отечественных и 112 иностранных авторов. Работа иллюстрирована 12 рисунками и 52 таблицами.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

НАРУШЕНИЯ РИТМА СЕРДЦА, ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ АНТИАРИТМИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Аритмии сердца, связанные со снижением качества жизни пациентов, а также увеличением заболеваемости и смертности, все в большей степени ложатся тяжелым бременем на систему здравоохранения и экономику развитых стран [2, 64, 90]. Существующие на сегодняшний день методы лечения аритмий представлены применением антиаритмических лекарственных препаратов и катетерной абляцией. Катетеризационное вмешательство часто сопровождается возникновением вторичных аритмий, имеет редкие, но серьезные побочные эффекты и не подходит для лечения потенциально опасных тахикардий левого желудочка [111]. Использование неинвазивных методов лечения, в том числе применение антиаритмических средств (ААС), остается актуальным вопросом настоящего времени.

Еще совсем сравнительно недавно выбор противоаритмических препаратов был очень малочисленным. В справочнике «Фармакодинамика лекарств», изданном в Братиславе в 1963 году под редакцией Франтиштека Швеца, а также в монографии И.А. Черногорова «Нарушения ритма сердца» [67] в обзоре средств, применяемых при лечении нарушений ритма сердца, препараты были представлены несколькими классами:

- 1. Лекарства, действующие посредством нервной системы (успокаивающие, снотворные средства, атарактики, холинолитические и симпатиколитические средства, симпатомиметики);
- 2. Гликозиды наперстянки;
- 3. Хининовые алкалоиды: хинин и хинидин; аймалин;
- 4. Соли калия, магния и кальция;
- 5. Синтетические местные анестетики и их производные (прокаин и прокаинамид);

- 6. Тиреостатические средства, антигистамины и кортикостероиды;
- 7. Дифенил-гидантоин (дифенин).

На сегодняшний день в клинической практике применяется достаточно большое количество AAC. Наиболее распространенной классификацией является классификация Е.М. Vaughan Williams [12, 76], основанная на влиянии препаратов на электрофизиологические свойства изолированных клеток миокарда [11]. В 1979 г. классификация была дополнена путем разделения препаратов I класса на 3 подгруппы: IA, IB и IC. Препараты I класса блокируют быстрые натриевые каналы, препараты II класса – β-адренергические рецепторы, препараты III класса вызывают удлинение потенциала действия миокардиоцитов, а препараты IV класса блокируют медленные кальциевые каналы [11].

Классификация Е.М. Vaughan Williams имеет ряд недостатков и, как считают многие исследователи, сильно упрощает проблему механизмов возникновения аритмий и антиаритмического действия препаратов [40, 48, 82, 89]. Тем не менее, с момента ее внедрения в 1970 годах она остается признанной и широко используется в клинической практике.

Несколько предпринимались расширению раз попытки ПО усовершенствованию классификации ААС. Одной из наиболее удачных считается классификация, предложенная членами рабочей группы Европейского общества кардиологов в докладе «Новый подход к классификации антиаритмических препаратов, основанной на их действии на аритмогенные механизмы» [170]. Авторами выделены ведущие аритмогенные механизмы, способствующие возникновению поддержанию нарушений И ритма проводимости сердца, а также электрофизиологические параметры, коррекция которых приводит к восстановлению и удержанию синусового ритма. Однако, несмотря на то, что этот подход, так называемый «Сицилианский гамбит», позволяет более тесно связывать электрофизиологические механизмы возникновения аритмий и свойства противоаритмических средств, он является слишком сложным для восприятия [118, 157, 158]. По мнению Н.М. Шевченко, П.Х. Джанашия и других специалистов, новый подход, хотя и увеличивает эффективность научных исследований, практического значения «Сицилианский гамбит» не имеет [21, 118].

В ознаменование 100-летия со дня рождения профессора Е.М. Vaughan Williams, Ming Lei с коллегами пересмотрели классификацию и разделили ААС на 8 классов, в состав которых вошли, в том числе, 32 типа антиаритмических препаратов [134]. Данный подход позволяет значительно ускорить принятие решения о назначении препаратов антиаритмического действия (Таблица 1) в клинической практике и способствует разработке и появлению новых ААС в будущем [91]. Классификация объединяет все ААС последних пятидесяти лет, охватывает все известные механизмы, включает специфические электрофизиологические мишени, связанные с кардиоэлектрофизиологией.

Важность и влияние обновленной классификации совершенно очевидны, тем не менее, в нее не включены некоторые хорошо изученные препараты, среди которых действующие на внутренний выпрямляющий калиевый ток, малопроводимые Ca^{2+} - активированные K^+ - каналы, 2x щелевые K^+ - каналы, неселективные катионные каналы и препараты, связанные с галектином-3 [86]. Кроме того, активаторы ATФ-чувствительных калиевых каналов (класс IIIb), препараты никорандил и пинацидил, в основном используются для расширения гладких мышц клеток для лечения гипертонии и стенокардии, и нет прямых показаний для включения их в отдельный класс ААС [93]. В классификацию также не включены препараты, находящие в разработке или же уже одобренные для клинического применения и разработанные в Российской Федерации (рефралон, нибентан).

Таблица 1 – Обновленная классификация антиаритмических препаратов (Lei M. et al., 2018)

Класс	Подкласс	Фармакологические мишени	Электрофизиологические эффекты	Препараты	Показания к применению	Механизм действия
Блокато	ры $I_{ m f}$ – канал	ов синусового узла				
0		I _f – каналы синусового узла	Селективно и специфически ингибирует I_f — каналы синусового узла (СУ), \downarrow фазу деполяризации клеток пейсмейкеров сердца, \downarrow частоту сердечных сокращений (ЧСС), \downarrow автоматизма клеток атриовентрикулярного (АВ) узла и волокон Пуркинье, \uparrow кардиоинтервала [91]	Ивабрадин	Стенокардия и хроническая ишемическая болезнь сердца (ИБС) с ЧСС ≥ 70 уд. в мин. Новые показания к применению при тахиаритмиях [182]	↓ автоматизма в синоатриальном (CA) узле
Потенці	иалзависимы	е блокаторы Na ⁺ канал	ЮВ			
I	Ia	Среднее время диссоциации (1-10 сек), часто блокаторы K ⁺ - каналов	Замедление формирования потенциала действия (ПД), \downarrow в точке I_{Na} , и (dV/dt) _{max} с повышенным порогом возбуждения, \downarrow ПД в предсердиях, желудочках, \uparrow интервала QT [90, 91, 121]	Хинидин Аймалин	Суправентрикулярные тахиаритмии, особенно рецидивирующие фибрилляции предсердий (ФП), желудочковая тахикардия (ЖТ) [75, 146]	↓эктопического автоматизма желудочков и предсердий, ↓ проводимости в дополнительных путях, ↑ рефрактерного периода
I	Ib	Быстрое время диссоциации (0,1-1 сек)	↓ формирования ПД, ↓ в точке I_{Na} , и $(dV/dt)_{max}$ с повышенным порогом возбуждения, ↓ длительности ПД в здоровых желудочках и волокнах Пуркинье, относительно слабый электрокардиографический эффект, ↓ интервала QT	Лидокаин Микселитин	Желудочковые тахиаритмии, особенно после инфаркта миокарда (ИМ) [75, 79]	↓ эктопического автоматизма желудочков, ↓ триггерной активности, ↓ реципрокной активности

Класс	Подкласс	Фармакологические мишени	Электрофизиологические эффекты	Препараты	Показания к применению	Механизм действия
I	Ic	Медленная диссоциация (> 10 сек)	Замедление формирования ПД, ↓ в точке I_{Na} , и (dV/dt) _{max} с повышенным порогом возбуждения, ↓ ПД в предсердиях, желудочках, продление ПД на высоком ЧСС, ↑ продолжительности QRS	Пропафенон Флекаинид	Суправентрикулярн ые тахиаритмии. Желудочковые тахиаритмии, не поддающиеся лечению другими средствами, при наличии пороков сердца, преждевременных желудочковых сокращений, катехоламинергичес кой полиморфной желудочковой тахикардии [75]	↓ эктопического желудочкового/предсер дного автоматизма, ↓ триггерной активности, вызванной поздней постдеполяризацией. Уменьшение реципрокной активности за счет преобразования однонаправленной блокады в двунаправленную. ↓проводимости и ↓возбудимости, особенно при учащенном ЧСС, блокирующем реципрокные пути с замедленным проведением
	Id		Уменьшение позднего натриевого тока, оказывающего влияние на восстановление ПД, рефрактерность, реполяризацию и интервал QT [80, 91]	Ранолазин	Стенокардия напряжения, ЖТ. Новый класс лекарственных средств	↓ времени восстановления ПД, ↓ триггерной активности, вызванной ранней деполяризацией.

Класс	Подкласс	Фармакологические мишени	Электрофизиологические эффекты	Препараты	Показания к применению	Механизм действия
		muuucitti	Функционально независимые ингибип	і 10ры и активатор		
II	IIa	Неселективные блокаторы β- и β1 — адренергических рецепторов	Ингибирование эффектов G _s -белков из-за повышенной активности аденилаткиназы и цАМФ с эффектами, включая ↓ проводимости в СА узле, ↑ периода рефрактерности и времени проведения импульса в АВ узле, ↓ кардиостимуляции в СА узле и триггерной активности	Неселективные β-блокаторы: Карведилол Пропранолол Надолол Селективные ингибиторы β1-рецепторов: Атенолол Бисопролол Метопролол	Синусовая тахикардия и другие тахиаритмии. Контроль частоты ФП и желудочковых тахиаритмий (желудочковая тахикардия, экстрасистолия) [74, 149]	↓ автоматизма в CA узле, в AB узле, желудочков/предсер дий. ↓ триггерной активности, вызванной ранней/поздней деполяризацией. ↓ механизма реентри в CA узле. ↓ проводимости в AB узле
	IIb	Неселективные активаторы β- адренергических рецепторов	Активация эффектов G_s — белков за счет увеличения активности аденилаткиназы и цАМФ	Изопротеренол	↑ скорости желудочковой экстрасистолы в случаях полной АВ блокады. Приобретенные ЖТ	↑ автоматизма желудочков. ↓ триггерной активности, вызванной ранней постдеполяризацией
	IIc	Ингибиторы мускариновых рецепторов M_2	Ингибирование суправентрикулярных (СА, предсердных, АВ) мускариновых M_2 холинергических рецепторов	Атропин Скополамин Гиосцин Анизодамин	Синусовая брадикардия, наджелудочковые и АВ блокады, острый ИМ	↑ автоматизма CA узла, проводимости в AB узле
	IId	Активаторы мускариновых рецепторов M_2	Активация суправентрикулярных мускариновых M_2 рецепторов, $\downarrow \Pi Д$ в предсердиях и AB узле, снижение цАМФ, ингибирование эффектов аденилаткиназы и цАМФ [175]	Карбахолин Пилокарпин Метахолин Дигоксин	Синусовая тахикардия или суправентрикулярн ые тахиаритмии [146]	↓автоматизма, механизма реенетри в СА узле, ↓проводимости в АВ узле

Класс	Подкласс	Фармакологические мишени	Электрофизиологические эффекты	Препараты	Показания к применению	Механизм действия
	IIe	Активаторы аденозиновых рецепторов А ₁	Активация аденозиновых рецепторов A ₁ в тканях предсердий, CA узла, AB узла, гиперполяризация CA узла, ↓ ПД в предсердиях и тканях AB узла, ↓ цАМФ, ингибирование эффектов аденилаткиназы и цАМФ	Аденозин АТФ Аминофиллин как ингибитор аденозиновых рецепторов	Резкая терминация тахикардии в АВ узле и ЖТ, вызванной цАМФ. Дифференцирование синусовой тахикардии от предсердной [74, 149]	↓ автоматизма СА узла, ↓ проводимости в АВ узле, ↓триггерной активности, вызванной ранней/поздней деполяризацией
Блокаторы и	и активаторы	К ⁺ каналов		T		
Потенциал - зависимые блокаторы К ⁺ - каналов	IIIa	Неселективные блокаторы К ⁺ каналов	Блокирование К ⁺ каналов, что приводит к ↑ времени восстановления ПД в предсердиях, волокнах Пуркинье и/или миоцитах желудочков. ↓ времени реполяризации.	Амбазилид Амиодарон Дронедарон	ЖТ у пациентов без структурных изменений сердца и ИМ. ФП с АВ проводимостью через дополнительные проводящие пути. ФЖ и желудочковая экстрасистола [129,146]	↑ времени восстановления ПД. ↑ периода рефрактерности. Амиодарон также замедляет синусовый ритм и проведение в АВ узле.
Потенциал - зависимые блокаторы К ⁺ - каналов	IIIa	Блокаторы ген специфических K^+ каналов сердца, блокаторы быстрого K^+ тока (I_{Kr}) $Kv11.1$	↑ времени восстановления ПД в предсердиях, волокнах Пуркинье и/или миоцитах желудочков. ↓ времени реполяризации.	Дофетилид Ибутилид Соталол	ЖТ у пациентов без структурных изменений сердца и ИМ, тахиаритмии с синдромом ВПУ. ФП с АВ проводимостью через дополнительные проводящие пути. ФЖ и желудочковая экстрасистола [74, 149].	↑ времени восстановления ПД. ↑ периода рефрактерности

Класс	Подкласс	Фармакологические мишени	Электрофизиологические эффекты ↑ времени восстановления ПД в	Препараты	Показания к применению	Механизм действия
		Блокаторы медленного K^+ тока $(I_{Ks})~Kv7.1$	тредсердиях, волокнах Пуркинье и/или миоцитах желудочков. ↑ ЭРП. ↓ времени реполяризации. ↑ интервала QT [81]	Зарегистрированн ые препараты отсутствуют		↑времени восстановления ПД. ↑ периода рефрактерности
		Блокаторы сверхбыстрого K^+ тока (I_{Kur}) $Kv1.5$	↑ времени восстановления ПД в предсердиях. ↑ ЭРП. ↓ времени реполяризации	Вернакалант	Купирование ФП	↑ времени восстановления ПД и ↑ периода рефрактерности
		Блокаторы транзиторного выходящего K^+ тока (I_{Kto1}) $K_V1.4$ и $K_V4.2$	↑ времени восстановления ПД в предсердиях, волокнах Пуркинье и/или миоцитах желудочков. ↑ ЭРП. ↓ времени реполяризации кардиомиоцитов желудочков	Тедисамил (на стадии клинических исследований)	Купирование ФП	↑ времени восстановления ПД. ↑ периода рефрактерности
Метабо лически - зависим ые активат оры К ⁺ каналов	IIIb	Активаторы Kir6.2 (<i>I</i> _{КАТР})	Активация АТФ-чувствительных К ⁺ каналов (І _{КАТР}), укорочение времени восстановления ПД, рефрактерности, реполяризации во всех кардиомиоцитах, за исключением клеток СА узла, сокращенный интервал QT [107]	Никорандил Пинацидил	Никорандил: лечение стенокардии напряжения (препарат второй линии) Пинацидил: препарат для лечения АГ	Потенциальное ↓ времени восстановления ПД
Медиат орные блокато ры К ⁺ - каналов	IIIc	Блокаторы G_1 и G_4 (I_{KACh})	Ингибирование активации прямой или $\beta \gamma$ - опосредованной субъединицы белка G_I каналов I_{KACh} , в клетках предсердий, СА и АВ узла. Пролонгирование ПД и ЭРП. \downarrow времени реполяризации [161].	Препараты находятся на рассмотрении в регуляторных органах.		↓ автоматизма СА узла

Класс	Подкласс	Фармакологические	Электрофизиологические	Препараты	Показания к	Механизм
		<i>мишени</i>	эффекты	r · · · · r · · · · ·	применению	действия
Блокаторы и ак Блокаторы Са ²⁺ -каналов поверхностно й мембраны	IVa	Неселективные блокаторы Ca ²⁺ - каналов поверхностной мембраны	Блокирование тока $Ca^{2+}(I_{Ca})$, ингибирование стимуляции ритма в CA узле, ↓ проводимости в AB узле, ↑ ЭРП, ↑ времени восстановления ПД, ↑ рефрактерного периода(РП) [114].	Бепридил	Стенокардия напряжения, суправентрикуля рные тахиаритмии [150]	↓проводимости в AB-узле, ↓ триггерной активности, вызванной ранней/поздней деполяризацией
Блокаторы Ca ²⁺ -каналов поверхностно й мембраны	та ²⁺ -каналов опосредованных опосредованных каналов тока Са ²⁺		Блокирование тока Ca^{2+} (I_{Ca}), ингибирование стимуляции ритма в CA узле, \downarrow проводимости в AB узле, \uparrow ЭРП, \uparrow времени восстановления Π Д, \uparrow РП, подавление внутриклеточной передачи сигналов Ca^{2+}	Фенилалкила мины (верапамил), бензодиазепи ны (дилтиазем)	Суправентрикул ярные аритмии и ЖТ без структурных заболеваний сердца, контроль скорости ФП [113]	↓ проводимости в AB-узле, ↓ триггерной активности, вызванной ранней/поздней деполяризацией
		Блокаторы Cav1.2 и Cav1.3 опосредованных каналов тока Ca^{2+} Т-типа (I_{CaL})	Ингибирование стимуляции ритма в СА узле, пролонгирование фазы 4 реполяризации [74]	Зарегистриро ванные препараты отсутствуют		
		Блокаторы канала IP3R-Ca ²⁺	\downarrow выброс предсердного Ca^{2+} саркоплазматического ретикулума (CP): \downarrow цитозольный Ca^{2+} и CP	Зарегистриро ванные препараты отсутствуют		
Внутриклеточ ные блокаторы Са ²⁺ -каналов	IVb	Блокаторы канала рецептора рианодина СР Са ²⁺	↓ выброс предсердного Ca ²⁺ CP [Ca ²⁺] [128, 158]	Флекаинид Пропафенон	Катехоламинерг ическая полиморфная ЖТ	↓ триггерной активности, вызванной поздней деполяризацией

Класс	Подкласс	Фармакологические мишени	Электрофизиологические эффекты	Препараты	Показания к применению	Механизм действия
Активаторы саркоплазматичес кой ретикулярной Ca^{2+} -АТФазы	IVc	Активаторы саркоплазматическ ого ретикулярного Са ²⁺ насоса	↑ активность Ca ²⁺ -ATФазы, ↑ саркоплазматического ретикулума [Ca ²⁺]	Зарегистрирован ные препараты отсутствуют		↓ триггерной активности, вызванной поздней деполяризацией
Ингибиторы ионного обмена поверхностной мембраны	IVd	Ингибиторы ионнообменника поверхностной мембраны (пр.: SLC8A)	↓ обмен Na ⁺ -Ca ²⁺ уменьшает деполяризацию, связанную с повышением субсарколеммального [Ca ²⁺]	Зарегистрирован ные препараты отсутствуют		↓ триггерной активности, вызванной ранней/поздней деполяризацией
Ингибиторы фосфокиназы и фосфорилазы	IVe	Уменьшение/увели чение уровня фосфорилирования цитозольного Ca ²⁺	Включает модуляторы кальций/кальмодуинкиназы -II: измененный внутриклеточный Ca ²⁺ [16, 119]	Зарегистрирован ные препараты отсутствуют		↓ триггерной активности, вызванной ранней/поздней деполяризацией
		Блокатор	ы механочувствительных ион	ных каналов		
V		Блокаторы транзиторного рецепторного потенциала каналов (TRPC3/TRPC6)	Активация сигнального пути внутриклеточного Ca^{2+}	Ведутся исследования препарата: (N-(p-амилциннамил)а минобензойная кислота)		Снижение триггерной активности, вызванной ранней/поздней деполяризацией
		Блока	торы каналов щелевидных сос	динений		
VI		Блокаторы Сх (Сх40, Сх43, Сх45)	↓ межклеточного взаимодействия и возникновения ПД; Сх40: предсердие, АВ узел; Сх43: предсердие и желудочки, дистальная проводящая система; Сх45 [120, 128]	Ведутся исследования препарата: карбенохолон		↓желудочковой/пре дсердной проводимости. ↓проводимости в дополнительных путях проведения, в АВ узле

Класс	Класс Подкласс Фармакологические мишени		Электрофизиологические эффекты	Препараты	Показания к применению	Механизм действия
Модул	яторы мише	ней				
VII		Ингибиторы ангиотензинпревр ащающего фермента	Электрофизиологические и структурные (фиброзные, гипертрофические или воспалительные) изменения [141, 174]	Каптоприл Эналаприл Делаприл Рамиприл Периндоприл Лизиноприл и др.	Контроль гипертензии, симптоматической СН [119]	Уменьшает структурные и электрофизиологические изменения, что улучшает проведение ПД и реципрокное направление
		Блокаторы ангиотензиновых рецепторов	Электрофизиологические и структурные (фиброзные, гипертрофические или воспалительные) изменения [142]	Лозартан Вальсартан Ирбезартан Сапризартан и др.	Контроль гипертензии, симптоматической СН [119]	↓ структурные и электрофизиологические изменения, что улучшает проведение ПД и реципрокное направление
		Омега-3 жирные кислоты	Электрофизиологические и структурные изменения	Омега-3 жирные кислоты	↓ риска смерти после ИМ. Инфаркт миокарда. Инсульт. Нарушения ритма сердца [74]	↓ структурные и электрофизиологические изменения, улучшение проведение ПД и реципрокное направление
		Статины	Электрофизиологические и структурные изменения	Статины	↓ риска смерти после ИМ. Инфаркт миокарда. Инсульт. Нарушения ритма сердца	↓ структурные и электрофизиологические изменения, улучшение проведение ПД

^{*}Условные обозначения: ↓ - уменьшение, ↑ - усиление

История современных противоаритмических средств началась с применения хинина – алкалоида коры хинного дерева, обладающего жаропонижающими и обезболивающими свойствами. Его антиаритмическое действие было описано в 1918 году Frei, а затем в 1921 году Wenkebach на примере пациента, страдающего малярией с одновременным мерцанием предсердий. Вскоре после этого было установлено, что при аритмиях более эффективным является хинидин – правовращающий изомер хинина [84]. Хинидин сульфат был первым из антиаритмиков, позже вошедших в классификацию Vaughan Williams. И, видимо, поэтому надолго определил стратегию применения и поиска средств с антиаритмической активностью. Большинство используемых экспериментальных аритмий предполагали оценку противоаритмической активности исследуемых соединений в сравнении с хинидином [177, 179]. Длительный период времени лаборатории занимались, в основном, изучением средств с хинидиноподобными (мембраностабилизирующими) эффектами [34].

Появление II, III и IV классов противоаритмических средств не связано с направленным поиском противоаритмических средств. Почти все препараты поначалу применялись с другой целью. Лидокаин – как местноанестезирующее средство, дифенин – противоэпилептическое, пропранолол, амиодарон, верапамил – как средства при лечении ишемической болезни сердца (ИБС). Кроме того, целый ряд препаратов: сердечные гликозиды, препараты калия, магния, аденозин, М-холиномиметики, адреномиметики, некоторые транквилизаторы и антидепрессанты, успешно применяемые при лечении многих, в том числе и жизненноопасных, аритмий, не были включены в классификацию Vaughan Williams.

Антиаритмические препараты I класса являются блокаторами быстрых натриевых каналов мембран кардиомиоцитов, поэтому основным их эффектом является замедление проведения и снижение возбудимости миокарда [11, 67]. Антиаритмические препараты IA класса умеренно замедляют проведение и удлиняют ПД кардиомиоцитов. Они эффективны при лечении большинства

желудочковых и наджелудочковых аритмий, однако обладают большим количеством побочных эффектов [11].

Хинидин может вызвать ЖТ типа «пируэт» [8]. В нескольких исследованиях было установлено, что препарат увеличивает смертность даже у пациентов с неопасными для жизни аритмиями [8]. Имеются сообщения о важной роли этого препарата в устранении «аритмического шторма», который может наблюдаться у пациентов с синдромом Бругада, и при лечении больных с редким синдромом укороченного интервала QT [8, 21].

Дизопирамид ранее широко использовался для лечения как суправентрикулярных, так и желудочковых нарушений ритма сердца [8]. Однако он обладает лишь умеренной активностью и большим количеством существенных нежелательных побочных эффектов [8, 160]. Препарат может усугубить имеющуюся дисфункцию синусового узла, поэтому он не рекомендуется пациентам с исходно увеличенной продолжительностью интервала QT [8, 168]. В настоящее время дизопирамид в Российской Федерации не применяется.

Антиаритмические препараты IB класса обладают слабым действием на натриевые каналы при нормальной ЧСС и мало влияют на скорость проведения. Их основной электрофизиологический эффект – уменьшение продолжительности ПД и, вследствие этого, укорочение рефрактерных периодов [11, 55]. Их большое преимущество перед другими препаратами I класса состоит в том, что они относительно редко оказывают проаритмогенное действие [11, 126]. Лидокаин является препаратом выбора в лечении желудочковых нарушений ритма сердца, однако имеет малую эффективность при суправентрикулярных аритмиях. Препарат обладает вазоконстрикторными свойствами и, в отличие от многих других ААС, довольно редко вызывает артериальную гипотензию или СН [8, 78, 102].

Антиаритмические препараты IC класса вызвали большое воодушевление в 1980-х годах, так как продемонстрировали высокую эффективность при лечении

как желудочковых, так и наджелудочковых аритмий в сочетании с низкой токсичностью [11]. Однако затем было выявлено большое число проаритмогенных эффектов, и показания к применению были существенно сужены. Препараты IC класса оказывают влияние на реполяризацию в миокарде и замедляют скорость проведения [11].

Пропафенон имеет значительную доказательную базу [76, 83, 128, 161], в том числе результаты российских исследований [37], показавших высокую эффективность и безопасность препарата. Важные данные по применению пропафенона получены в российском исследовании ПРОМЕТЕЙ (2005 год), эффективность подтвердило его высокую И безопасность купировании пароксизмов ФП [40, 43]. В исследовании G. Boriani и соавт. эффективность перорального приема пропафенона для купирования пароксизма ФП составила 76%, препарат также продемонстрировал высокий профиль безопасности [40, 41, 42, 83]. В метаанализе І. Кһап эффективность однократного перорального приема пропафенона в дозе 600 мг составила 56-83% и зависела от длительности пароксизма ФП [40].

Антиаритмические препараты II класса — блокаторы *β*-адренергических рецепторов (БАБ) относятся к немногим препаратам, которые доказали свою эффективность в предупреждении внезапной сердечной смерти у разных групп пациентов [11, 54, 147, 148]. БАБ были разработаны в 1960-х годах в качестве антиангинальных средств и в настоящее время широко используются в лечении СН, различного рода аритмий и ИБС [142]. Механизмы антиаритмического действия препаратов этого класса двояки: с одной стороны, они имеют прямые электрофизиологические эффекты (подавление эктопической активности и замедление проведения в атриовентрикулярном узле), с другой стороны, они имеют антифибрилляторный эффект благодаря симпатической стимуляции антиишемического действия предотвращения сердца, И катехоламининдуцированной гипокалиемии [11].

Побочные эффекты обусловлены блокадой адренорецепторов. Чаще всего это бронхоконстрикция, феномен Рейно, также могут наблюдаться брадикардия, артериальная гипотония, нарушения синоатриальной и атриовентрикулярной проводимости [11, 53, 133, 174].

Антиаритмические препараты III класса увеличивают продолжительность ПД, блокируя калиевые каналы и, как следствие, удлиняют интервал QТ. На основании этого свойства они объединены в один класс [54].

Соталол в дополнении к своим бета-адреноблокирующим свойствам увеличивает продолжительность ПД, а, следовательно, интервала QT [8]. Он представляет собой комбинированный препарат из d-соталола (который является «чистым» антиаритмическим препаратом III класса) и l-соталола (который сочетает в себе свойства антиаритмического препарата III класса и БАБ) [11].

В исследовании РАҒАС проводили сравнение препаратов соталол, хинидин в сочетании с верапамилом и плацебо по эффективности удержания синусового ритма в течение года у пациентов с ФП после кардиоверсии [40, 108]. Результаты проведённых исследований показали, что антиаритмическая терапия оказалась эффективной и достоверно превзошла плацебо, сочетание хинидина и верапамила проявило большую эффективность по сравнению с назначением соталола. Обзор С. Lafuente-Lafuente и соавт. по безопасности плановой антиаритмической терапии у пациентов с ФП также показал возможное увеличение риска смерти при терапии соталолом [40, 132].

Амиодарон имеет высокоэффективен как при суправентрикулярных, так и при желудочковых нарушениях ритма сердца. Даже если нарушения сердечного ритма рефрактерны к другим средствам антиаритмической терапии, назначение амиодарона оказывается успешным в 70% случаев [8]. Он не влияет на функцию желудочков, и его можно назначать пациентам с СН [35]. Вместе с тем, препарат имеет ряд существенных нежелательных эффектов, поэтому длительное назначение рекомендуется только пациентам с опасными для жизни или

рефрактерными к другим лекарственным средствам нарушениями ритма сердца [8, 53, 113].

При кратковременном парентеральном применении амиодарона возникновение побочных эффектов маловероятно, хотя описаны редкие случаи развития амиодарон-ассоциированного лекарственного гепатита [8, 173]. Введение в периферическую вену нередко сопровождается развитием флебита [8, 104]. При некоторых формах аритмии основные преимущества амиодарона (высокая эффективность, отсутствие отрицательного инотропного действия и большая продолжительность действия) «перевешиваются» обширным списком побочных эффектов [8]. В настоящее время изучается эффективность и безопасность производного амиодарона – целиварона.

Вернакалант является представителем нового класса антиаритмических средств, оказывающих избирательное влияние на миокард предсердий [8]. Препарат блокирует раннюю активацию K⁺-каналов и частотно-зависимых Na⁺-каналов. В соответствии с результатами исследования AVRO, является более эффективным по сравнению с амиодароном при использовании для быстрого преобразования ФП в синусовый ритм [88, 98, 112].

На сегодняшний день препарат лицензирован для фармакологической кардиоверсии недавно возникшей ФП. В Российской Федерации данный препарат не зарегистрирован.

Нибентан стал первым зарегистрированным отечественным антиаритмическим препаратом III класса, рекомендованным при персистирующих формах ФП и ТП. Препарат показал высокую эффективность у пациентов как с пароксизмальной, так и с персистирующей формой ФП и ТП; по данным различных авторов, эффективность препарата при пароксизмальной форме составляет около 80% [11, 16], при персистирующей форме – 57-90% [13]. Из побочных эффектов препарата следует отметить ощущение тепла в груди, головокружение, двоение в глазах, металлический привкус во рту. Наиболее

серьезным побочным эффектом является желудочковая тахикардия типа «пируэт», которая развивается в 2-14% случаев [2, 11].

Помимо раствора для парентерального применения велись разработки пероральной лекарственной формы. Однако она не прошла токсикологические испытания, и на сегодняшний день препарат в Российской Федерации не выпускается. В ФГБУ «НМИЦ кардиологии им. академика Е.И. Чазова» Минздрава России разработано новое структурное производное нибентана — нифередил, которое было зарегистрировано в 2014 году под торговым названием Рефралон[®].

Рефралон — новейший антиаритмический препарат III класса, действие которого связано преимущественно с блокадой К+- токов задержанного выпрямления, удлинением ПД и рефрактерных периодов в предсердиях и желудочках. Рефралон высокоэффективен при купировании и предотвращении ФП в экспериментальном исследовании [17, 41, 42, 43]. Препарат при проведении внутрисердечных электрофизиологических исследований продемонстрировал электрофизиологические и электрокардиографические эффекты, присущие препаратам III класса [38]. Препарат удлинял рефрактерность в большей степени в предсердиях, чем в желудочках, умеренно удлинял ОТ/ОТс и не влиял на проводимость. Рефралон высокоэффективен В качестве средства ДЛЯ медикаментозной кардиоверсии при персистирующей ФП и ТП, проаритмическое побочное действие препарата в виде неустойчивой полиморфной желудочковой тахикардии отмечено в 1,2% случаев применения [40, 43].

Антиаритмические препараты IV класса (блокаторы медленных Ca²⁺-каналов) инактивируют каналы L-типа, которые расположены на поверхности цитоплазматической мембраны кардиомиоцитов, клеток синусового и атриовентрикулярного узлов [11, 135]. Из всех блокаторов кальциевых каналов для лечения аритмий используются только верапамил и дилтиазем [11].

Одновременный прием внутрь **верапамила** и БАБ способен привести к тяжелой синусовой брадикардии или брадикардии с ритмом из АВ-соединения [8, 78]. Кроме того, препарат оказывает выраженное отрицательное инотропное действие, и у пациентов с резко сниженной функцией миокарда желудочков может вызвать артериальную гипотензию [8].

В последние годы внимание исследователей привлекают соединения, названные «специфическими брадикардическими агентами». Особенность действия этих веществ заключается в том, что в определенных дозах они значительно уменьшают ЧСС, при этом, практически не влияя на другие показатели гемодинамики и деятельности сердца [68]. В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова синтезирован и детально изучен новый оригинальный препарат — **брадизол** [5, 34, 68]. Препарат не влияет на эффективные рефрактерные периоды предсердий и желудочков, а также не изменяет проведение по желудочкам.

Антиаритмический эффект сердечных гликозидов связан с замедлением ЧСС и возбуждения скорости проведения уменьшением миокарде, атриовентрикулярном узле и волокнах Пуркинье. Для лечения аритмий чаще всего используют дигоксин [11, 54], у пациентов с ФП с целью контроля ЧСС и восстановления синусового ритма [107, 162]. За последние два десятилетия было несколько исследований по терапевтическому использованию проведено дигоксина с корреляцией по повышенной смертности [179, 180]. Несмотря на сомнения относительно безопасности дигоксина в данных условиях, он остается одним из наиболее назначаемых препаратов от ФП во всем мире [130, 138].

Ивабрадин — новый современный препарат, сравнительно недавно вошедший в клиническую практику в Российской Федерации. В 2005 году одобрен Европейским агентством по лекарственным средствам (ЕМА) в качестве антиангинального средства, а позже — для лечения пациентов с СН. Препарат обладает избирательной активностью, блокирующей ток ионных If-каналов в СА узле, снижая ЧСС, без влияния на уровень АД, сократимость миокарда и

периферическое сопротивление сосудов [55, 56]. Учитывая уникальный механизм действия, он имеет много потенциальных возможностей для клинического применения, в частности, в качестве альтернативы традиционным препаратам – БАБ [55, 56, 120].

Несколько лет назад для лечения стабильной стенокардии был одобрен ранолазин — селективный ингибитор позднего натриевого тока, ослабляющей нарушения желудочковой реполяризации и сократимости, ассоциированные с ишемией миокарда [33, 56]. Ранолазин не изменяет показатели на ЧСС и АД, и, как правило, имеет хорошую переносимость. При оценке профиля безопасности опасение вызвало отмеченное в исследованиях удлинение корригированного интервала QT без клинических случаев развития опасных аритмий [33, 114, 152].

Применение антиаритмических препаратов направлено как на купирование аритмий (восстановление синусового ритма, контроль ЧСС), так и на предупреждение рецидивов. Известно, что любой антиаритмический препарат может обладать аритмогенным действием [9, 54, 121, 149]. Вероятность аритмогенного эффекта, в среднем, составляет около 10%, и может проявляться в виде опасных для жизни аритмий [21]. Вероятность антиаритмического действия для большинства антиаритмических средств составляет в среднем 40-60% (и очень редко, у некоторых медикаментов при отдельных вариантах аритмии достигает 90%). Большинство ААС могут вызвать усиление уже существующей аритмии или привести к возникновению новых аритмий, которых не было у пациента, включая угрожающие для жизни [11]. На сегодняшний день осознание риска возникновения жизнеугрожающих аритмий и внезапной смерти на фоне приема антиаритмических препаратов привело к их более осторожному использованию [11, 89].

Несмотря на большое разнообразие антиаритмических лекарственных средств, практическая медицина нуждается в новых, более совершенных препаратах, которые можно было бы использовать с учетом определенных клинических показаний, и лишенных побочных эффектов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования антиаритмических свойств изучаемых соединений проведены в соответствии с современными регуляторными стандартами: Руководством по исследований проведению доклинических лекарственных средств [52], Федеральным законом № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 г. [58]; Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии (ЕЭК) от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов» [51]; Рекомендациям Коллегии ЕЭК от 22.12.2020 № 33 «О Руководстве по изучению токсикокинетики и оценке системного воздействия в токсикологических исследованиях лекарственных препаратов" [50]; Национальным стандартом Российской Федерации (ГОСТ 33044-2014) «Принципы надлежащей лабораторной практики» [44]; Санитарно-эпидемиологическим правилам СП 2.2.1.3218-14 «Санитарноэпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)». Bce процедуры утвержденному письменному плану/протоколу, выполнялись согласно Стандартным Операционным Процедурам (СОП лаборатории лекарственной токсикологии ФГБУ «НМИЦ кардиологии им. академика Е.И. Чазова» Минздрава России) и согласовывались с комиссией по биоэтике ФГБУ «НМИЦ кардиологии им. академика Е.И. Чазова» Минздрава России.

Антиаритмические свойства исследуемых веществ изучали на моделях нарушения сердечного ритма — аконитиновой, хоридкальциевой, хлоридбариевой - с различными механизмами действия. Эффективность антиаритмического действия соединений оценивали по предотвращению развития нарушений сердечного ритма или прекращению уже развившихся аритмий, восстановлению нормального синусового ритма.

Исследования проведены на 1260 мышах линии Balb/с (самцы и самки, масса тела 18-20 г.), 445 мышах-гибридах $F_1(CBAxC_{57}BI_6)$ (самцы и самки, масса тела 18-20 г.), 1636 крысах Wistar (самцы и самки, масса тела 180-240 г.), 30 пестрых морских свинках (самцы, масса тела 250-330 г.), которые были получены из ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (филиал «Столбовая»). Животные были здоровы, имели ветеринарный сертификат качества и прошли 14-ти суточный карантин в биоклинике ФГБУ «НМИЦ кардиологии им. академика Е.И. Чазова» Минздрава России.

Животных содержали в условиях естественного освещения в соответствии с нормами группового размещения с принудительной 16-кратной вентиляцией, при температуре 18-20° С и относительной влажности воздуха 40-70% на подстилке из древесных стружек, простерилизованных в сухожаровом шкафу. Животные имели свободный доступ к питьевой воде и получали стандартный брикетированный корм ПК-120-1 (ООО «Лабораторснаб», Россия), состав, пищевая ценность и содержание нутриентов указаны в таблице 3.

Таблица 3– Комбикорм ПК-120-1 (ГОСТ Р50258-92)

Состав	%	Показатели качест	ва
Ячмень или овёс	31,78	Сырой протеин	21,9%
Пшеница	24,09	Обменная энергия	280,2 ккал
Шрот подсолнечниковый	9,00	Сырая клетчатка	4,7%
Рыбная мука	2,00	Сырой жир	3,2%
Дрожжи кормовые	5,00	Кормовые единицы/100 кг	123,2
Соль поваренная	0,10	Фосфор	0,69%
Премикс минерало-витаминный	0,02	Натрий хлористый	0,26%
Отруби пшеничные	13,00	Лизин	1,09%
Сухое молоко	1,00	Метионин + Цистеин	0,82%
Эндокс	0,01	Кальций	0,93%
Шрот соевый	11,90		
Известняковая мука	2,00		
Минеральная смесь	0,10		

Условия содержания, ухода и питания животных, и все проводимые экспериментальные исследования соответствовали правилам Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для научных целей [106].

Исследуемые соединения и референс-препараты

Проведено исследование 20 оригинальных соединений класса N, N – дизамещенных аминоамидов. Методы их синтеза разработаны на кафедре химии и технологии биологически активных соединений, медицинской и органической химии РТУ МИРЭА под руководством доктора химических наук. профессора Борисовой Е. Я. и защищены патентами РФ на изобретения RU2645080C1 «N. N-бис(2-(диалкиламино)этил)карбоксамиды ИΧ проявляющие антиаритмическую дигидрохлориды, активность, И фармацевтические композиции на их основе» от 15.02.2018 и RU2712638C1 «N-(2-(2-(диалкиламино)этокси)этил)карбоксамиды И ИХ гидрохлориды, обладающие антиаритмической активностью, и фармацевтические композиции на их основе» от 30 января 2020 года.

Структуру всех исследуемых соединений идентифицировали и подтверждали методами химического и физико-химического анализа: инфракрасной (ИК-), ядерно-магнитного резонанса (ЯМР) 1H- и ЯМР-13С-спектроскопии, масс-спектрометрии, тонкослойной хроматографии (ТСХ) [63].

Тонкослойная хроматография проводилась с использованием пластины Silufol UV–254 («Kavalier», Чешская Республика). Системы элюентов для ТСХ: EtOH. Детекцию пятен осуществляли в парах йода [63]. Спектры ЯМР регистрировали на приборе «Bruker DPX–300» (Германия) при рабочих частотах 300.13 МГц (1 H) и 75.47 МГц (13 C) [63]. Спектры регистрировали в импульсном режиме с накоплением и Фурье–преобразованием спектра в дейтерированной воде D_{2} O, дейтеродиметилсульфоксиде ДМСО- d_{6} , дейтерохлороформе CDCl₃, с использованием SiMe₄ в качестве внутреннего стандарта [63]. Масс-спектры высокого разрешения (HRMS) регистрировали на масс-спектрометре «LTQ

¹ Выражаю глубокую благодарность д.х.н., профессору Борисовой Елене Яковлевне за подробные консультации и наработку соединений в количествах, необходимых для проведения экспериментальных исследований.

OrbitrapXLTM» (Германия) с ионизацией в электроспрее [63]. Температуры плавления определяли при помощи колориметра «Висhi М-520» (Швейцария). ИК-спектры регистрировали на приборе «Bruker Vector 22» (Германия) [63].

Все изучаемые соединения при проведении экспериментов применялись в виде водных растворов, приготовленных *ex tempore*.

Референс-препараты широко применяющиеся кардиологии В антиаритмические средства - амиодарон («Кордарон», «Санофи-Авентис Франс», Франция), пропранолол («Анаприлин» «Татхимфармпрепараты», Россия). («Алкалоид», Македония), верапамил респ. новокаинамид (ФГУП «Мосхимфармпрепараты» имени Н.А. Семашко, Россия) использовались в исследованиях в готовых лекарственных формах.

Исследование «острой» токсичности

Изучение «острой» токсичности и установление показателей токсикометрии оригинальных соединений класса N, N — дизамещенных аминоамидов проведено на мышах линии Balb/c (самцы и самки, масса тела 18-22 г.) при однократном внутрибрющинном введении. На I этапе по методу Deichman, Le Blanc [96] определяли показатели ориентировочной ΠA_{50} на малом количестве животных (5-7 голов). На II этапе проводили исследования на нескольких группах животных с равноудаленными от ΠA_{50} дозами. За животными осуществляли наблюдение на протяжении 14 дней после первичного введения веществ. Регулярно отмечали общее состояние животных, особенности поведения и двигательной активности, фиксировали сроки развития интоксикации и гибели животных. Затем с помощью метода пробит-анализа по ΠA_{10} , ΠA_{10}

Изучение антиаритмических свойств

Первичная оценка антиаритмических свойств соединений класса N, N – дизамещенных аминоамидов проводилась на модели аритмии, вызванной внутривенным введением аконитина гидробромида в дозе 40 мкг/кг. Аконитина

гидробромид оказывает влияние на функциональное состояние быстрых натриевых каналов мембраны кардиомиоцитов и увеличивает их проводимости [15, 17]. Кроме того, аконитин в сочетании с непрямыми кардиотропными эффектами обладает прямым аритмогенным и кардиотоксическим действием на миокард. Данная модель аритмии смешанного предсердно-желудочкового типа близка расстройствам сердечного ритма, наблюдаемым в клинической практике [45], и широко применяется в экспериментальной фармакологии при поиске и разработке потенциальных антиаритмических средств [15, 33, 163, 169].

Перед началом эксперимента животных (крысы Wistar, самцы и самки массой 180-240 г.) предварительно наркотизировали (уретан 1300 мг/кг, в/б), фиксировали в положении на спине на операционном столике, катетеризировали бедренную вену для введения аконитина гидробромида и исследуемых соединений. ЭКГ регистрировали на кардиографе CARDIOVIT AT-1 VET Schiller (Швейцария) во ІІ стандартном отведении, калибровочный сигнал 10 мм/мВ, скорость записи 25 мм/сек. Исследуемые соединения в дозах 1/10-1/100 от ЛД₅₀ (для мышей при в/б введении) и референс-препараты вводили за 2 мин до введения аритмогена. Регистрацию ЭКГ проводили через 3, 5, 10, 15 и 20 минут после введения аконитина.

Эффективность антиаритмического действия исследуемых соединений оценивали по длительности латентного периода возникновения аритмии, по продолжительности аритмии или периоду ее предотвращения. После окончания эксперимента методом пробит-анализа Литчфилду И Уилкоксону ПО среднеэффективную дозу соединения $(ЭД_{50})$. рассчитывали Для оценки эффективности антиаритмического действия изучаемых соединений и референспрепаратов применяли антиаритмический индекс (ЛД₅₀/ЭД₅₀) и индекс Шнейдера-Брокка (ЛД₁₀/ЭД₉₀) [165].

После окончания проведения скрининговых исследований и анализа результатов полученных данных проводили расширенные исследования по оценке эффективности антиаритмической активности. На аконитиновой,

хлоридкальциевой и хлоридбариевой моделях аритмий применяли различные дозы, способы (в/в и в/ж) и режимы введения (профилактически или с лечебной целью) отобранных соединений.

Хлоридкальциевая модель аритмии индуцировалась внутривенным введением хлоридом кальция (250 мг/кг, 10% раствор). Клиническую картину нарушений сердечного ритма регистрировали с помощью ЭКГ во ІІ стандартном отведении, начиная с 1-й минуты, и далее через 5, 10, 15 и 20 мин после введения кальция хлорида. Аритмия характеризовалась возникновением фибрилляции желудочков сердца через 30 сек –1 мин после введения аритмогена. Исследуемые соединения и референс-препарат (верапамил) вводили в/в за 1-2 мин до введения кальция хлорида. Исследование каждого соединения проводили на 3-5 группах животных в зависимости от количества исследуемых доз. Антиаритмический эффект оценивали по уменьшению количества случаев летальной фибрилляции желудочков сердца.

Хлоридкальциевую модель использовали для оценки эффективности антиаритмиков IV и I класса по классификации E.M. Vaughan Williams.

Хлоридбариевую модель аритмии вызывали внутривенным введением хлористого бария наркотизированным крысам (уретан 1300 мг/кг в/б) в дозе 25 мг/кг. Аритмия клинически проявлялась в виде тахиаритмии, желудочковой экстрасистолии, нарушением автоматизма и возбудимости миокарда. Гибель животных наступала в 85% случаев и, по данным электрокардиографии, отмечалась на протяжении 42,7±5,2 мин.

Исследуемые соединения и референтные препараты вводили в/в за 1-3 минуты до введения бария хлорида.

Изучение фармакологических свойств активных соединений

Исследование влияния наиболее активных соединений **на центральную нервную систему** было проведено с помощью метода анализаторов, веществ с

известным спектром действия (судорожные яды, снотворные и наркотические вещества).

Этанол (14 мл/кг 40%, в/б) и уретан (1500 мг/кг, в/б) применялись в качестве средств, влияющих на тормозные процессы, а также угнетающие процессы возбуждения. Изучаемые соединения вводили мышам линии BALB/с (самцы, масса тела 18-22 г.) за 30 минут до введения анализаторов в дозах 1/10 от ЛД₅₀. Продолжительность периода бокового положения (сон, наркоз) являлась основным показателем характера действия. Восстановление рефлекса переворачивания (трехразовая проба) регистрировали как окончание бокового положения.

В качестве активаторов парасимпатической нервной системы применяли алкалоиды *ареколин* (психостимулирующее средство) и *гармин* (кратковременный ингибитор моноаминооксидазы). Изучаемые соединения вводили мышам линии Balb/c (самцы, масса тела 18-22 г.) в/б в дозах 1/10 от ЛД₅₀ за 30 минут до введения анализаторов. Определяли длительность гиперкинезов при п/к введении ареколина в дозе 25 мг/кг и гармина в дозе 10 мг/кг в сравнении с животными контрольных групп.

Исследования действия веществ на эффекты *апоморфина* проведены на 40 крысах Wistar (самцы, масса тела 180-240 г.). Изучаемые соединения вводили животным в/б в дозах 1/10 от ЛД₅₀ за 30 минут до введения апоморфина (2 мг/кг, в/б). Выраженность и продолжительность стереотипных движений оценивали через 30, 60, 90 и 120 минут у животных в сравнении с показателями контрольной группы.

Экспериментальные исследования по оценки влияния отобранных наиболее активных соединений на *никотиновый тремор* проведены на 40 мышах линии Balb/c (самцы, масса тела 18-22 г.). Изучаемые соединения вводили в дозах 1/10 от $\Pi \Pi_{50}$ за 30 минут до введения H-холиномиметика никотина (7 мг/кг, в/б). В ходе наблюдения за животными регистрировали латентный период развития

тремора, отмечали наличие судорожных приступов и их латентность в сравнении с показателями контрольной группы.

Для исследования **анальгетической активности** использовали тест Рэндалла-Селитто [153]. Уровень болевой чувствительности определяли по величине критического давления на заднюю лапу животного на приборе Ugo Basile (Италия). Изучаемые соединения вводили в дозе 1/10 от ЛД₅₀ для мышей за 30 минут до измерения болевой чувствительности.

Исследования проведены на 50 крысах Wistar (самцы, масса тела 180-200 г.) в сравнении с показателями контрольных групп (в/б вода для инъекций в объемах, использованных для растворения изучаемых веществ, и препарат сравнения - анальгин в дозе 100 мг/кг).

Исследование влияние соединений на функциональное состояние почек проведено на крысах Wistar (масса тела 190-240 г.) в условиях водной нагрузки [10] с помощью специальных обменных клеток. Количество выделенной мочи регистрировали ежечасно на протяжении 5 часов. За 18-20 часов перед проведением эксперимента животные лишались корма. Водную нагрузку (водопроводная вода 25-27°С) вводили энтерально из расчета 3% от массы тела крысы. В контрольной группе животные получали только водную нагрузку.

Исследование влияния соединений на артериальное давление проведено с использованием системы измерения артериального давления неинвазивным методом на приборе CODA (Kent Scientific, CША) с помощью датчика регистрации объемного давления (Volume Pressure Recording (VPR)) на хвосте крыс. Производилась оценка динамики и контроля физиологических показателей сердечно-сосудистой системы: систолического, диастолического артериального давления, среднего артериального давления, частоты сердечных импульсов, объема крови в хвосте и притока крови в хвосте у крыс.

Исследования проведены на 40 неанестезированных крысах Wistar (самцы и самки, масса тела 200-250 г.), разделенных на 4 группы для каждого соединения,

по 10 крыс в каждой. Первая контрольная группа — вводили 0,9% физиологический раствор NaCl (в/б, OOO «Гротекс», серия 13451018). Экспериментальным группам вводили исследуемые отобранные наиболее активные соединения в/б в дозах 1/10 от ЛД₅₀ за 7-10 минут до проведения эксперимента.

Исследование фармакокинетики и токсикокинетики наиболее активных соединений

Исследование некоторых параметров токсикокинетики наиболее активных соединений Б-1, Б-8, Б-12 проведено с помощью метода «элиминации токсического эффекта». Данный метод основан на анализе динамики гибели животных после предварительного введения фармакологического вещества в токсической дозе $Д_1$ и дальнейшего назначения в постоянной токсической дозе Z_2 через различные временные промежутки после введения первой дозы [18].

Эксперименты проведены на 300 мышах линии ВАLВ/с (самцы, масса тела 18-22 г.). По уменьшению токсического эффекта после предварительного в/б введения исследуемого соединения в дозе ½ ЛД $_{50}$ определяли восстановление от токсического действия. Интервалы между 1-й и 2-й дозами составляли 5, 20, 40, 60, 90, 120, 180 мин и 1 сутки. Одновременное введение 1-й и 2-й доз соответствовало «нулевому» интервалу. После введения 2-й дозы исследуемого отобранного наиболее активного соединения отмечали общую гибель и время гибели животных. С использованием метода пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксону строили графики зависимости «доза-эффект» для перевода процента смертности животных в соответствующие дозы исследуемых соединений. На основании полученных данных определяли период полувыведения $T_{1/2}$ и показатели остаточных доз в разные промежутки времени после их однократного введения мышам.

Изучение кумулятивных свойств наиболее активного соединения

Исследование кумулятивных свойств наиболее активного соединения Б-12 проведено на 70 мышах линии BALB/c (самцы, масса тела 18-20 г.) по методу Lim'a и соавт. [136].

Метод основан на учете гибели животных при введении изучаемого вещества в/б мышам в виде свежеприготовленного раствора в дозах, повышающиеся на 50% каждые 4 дня, начиная с первоначальной дозы $1/10~\rm ЛД_{50}$. Таким образом, первые 4 дня эксперимента животным ежедневно вводилось вещество в дозе, составляющей $1/10~\rm ero~\rm ЛД_{50}$ при данном способе введения, затем доза увеличивается, и с 5 по 8 дни составляет $0,15~\rm ЛД_{50}$, с 9 по 12 дни $0,22~\rm ЛД_{50}$ и т.д. Данный метод позволил оценить не только кумулятивные свойства препарата, но и возможность привыкания к нему.

Исследование субхронической токсичности соединения Б-12

Для детального токсикологического изучения было отобрано одно из наиболее активных веществ по антиаритмической активности – соединение Б-12.

Свежеприготовленные растворы соединения Б-12 (1,3% и 2,6% растворы в объемах 0,2-0,4 мл в дозах 13 и 26 мг/ кг (10-ти и 20-ти кратные, предполагаемые высшие терапевтические дозы для человека)) вводили крысам Wistar ежедневно (масса 180-200 г., в/б) на протяжении 1-месячного эксперимента. Контрольным животным вводили 0,9% стерильный физиологический раствор NaCl (ООО «Гротекс», серия 13451018) ежедневно в соответствующих объемах.

На всем протяжении эксперимента регистрировали общее состояние и поведение животных, состояние и изменения кожи и меха, дыхательной, вегетативной, центральной и кровеносной систем, соматомоторной активности.

До начала проведения экспериментов, через 2 недели и через 1 месяц анализировали морфологический состав периферической крови (количество эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроците, гематокрит, уровень

гемоглобина, средний объем эритроцитов, общее количество лимфоцитов, лейкоцитов, гранулоцитов и их процентное содержание, количество тромбоцитов, средний объем тромбоцитов) и биохимические показатели (уровень мочевины, общего белка, креатинина, глюкозы, общего билирубина, активность ряда ферментов сыворотки крови (аспартат - и аланинаминотрансферазы, лактатдегидрогеназа, щелочная фосфатаза), общего холестерина и триглицеридов.

Патоморфологическое исследование внутренних органов и тканей крыс проведено после окончания субхронического эксперимента и эвтаназии крыс с помощью СО₂-камеры. Экспериментальных животных лишали корма на ночь перед забором крови и эвтаназией. Доступ к воде не ограничивался.

Забор крови для гематологических исследований проводили из хвостовой вены животных в пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) и с гелем для исследований, в объемах 0,5 и 2,5 мл, соответственно. Центрифугировали на центрифуге "Ева-20" (Hettich, Венгрия) при 3000 об/мин на протяжении 10 минут, затем анализировали. Манипуляцию проводили за 2 дня до введения препарата (фоновые данные), а также через 2 недели и 1 месяц субхронического эксперимента.

Животных взвешивали при формировании групп, перед введением соединения (фон), а также еженедельно на протяжении всего субхронического эксперимента. Масса тела животного, определенная непосредственно перед аутопсией, использовалась для расчета отношения массы органов к массе тела животного, выраженная в процентах. Вскрытие животных проводили по полной патологоанатомической схеме для исключения возможного аутолиза тканей и для возможности проведения дальнейших исследований. Составляли общий протокол вскрытия с описанием патологоанатомических признаков, зарегистрированных во всех органах и системах организма.

Образцы тканей фиксировали в 10% нейтрализованном растворе формалина, получали парафиновые срезы толщиной 4-5 мкм. На

микропроцессорных автоматах «Leica» ТР 1020 и ЕG 1150 (Германия) проводили обезвоживание, обезжиривание, проводку и заливку тканей в парафин с воском. Для получения серийных срезов использовали ротационный микротом «Leica» ТР 2245, окрашивание срезов гематоксилин-эозином и другими азокрасителями проводили в автоматической системе «Leica» ST 5010, микроскопировали на световом микроскопе «Leica» DM 4000 (Leica Microsystems, Германия).

Изучение мутагенных свойств соединений

Исследования потенциальной мутагенной активности соединений проведены с помощью методов, которыми регистрируются мутации различных видов - хромосомные аберрации, генные мутации и все виды повреждений в половых клетках млекопитающих.

Мутагенный потенциал наиболее активных соединений оценивали на основании проведенных исследований: тест Эймса [72], учет хромосомных аберраций в клетках костного мозга млекопитающих, учет доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках мышей. Исследования проводили в соответствии с общими принципами, изложенными в «Handbook of mutagenicity procedures» [127],В «Руководстве проведению ПО доклинических исследований лекарственных средств» [52], а также согласно утвержденному письменному плану/протоколу и Стандартным Операционным Процедурам (СОП лаборатории лекарственной токсикологии ФГБУ НМИЦ кардиологии им. академика Е.И. Чазова Минздрава России).

Чашечный тест Эймса у Salmonella typhimurium представляет собой бактериальную тест-систему для учета обратных мутаций от ауксотрофности по гистидину к прототрофности при воздействии изучаемых соединений. В качестве индикаторных микроорганизмов применяли штаммы Salmonella Typhimurium TA100 - регистрирующие мутации типа замены пар оснований, TA98, TA1537 - регистрирующие мутации типа сдвига рамки считывания. Сертифицированные

бактериальные тесторные штаммы были приобретены в ФГБУ НИЦ Курчатовский институт - ГосНИИгенетика.

Перед проведением экспериментов по изучению потенциальной мутагенной активности бактериологические штаммы были проверены на наличие у штаммов ТА98 и ТА100 плазмиды рКМ 101 и мутации гfa, на ауксотрофность к гистидину. Оценивали индукцию обратных мутации от ауксотрофности по гистидину к прототрофности. Метод Эймса позволяет оценивать как прямое действие изучаемых веществ на индикаторные штаммы, так и действие метаболитов, которые могут образовываться под влиянием микросомальной фракции индуцированной печени крысы.

Проводили исследования наиболее активных соединений в концентрациях от 1 до 5000 мкг/чашку, в качестве контрольного раствора применяли диметилсульфоксид (ДМСО). Опыты проведены как с полной микросомальной активирующей смесью (ПАМС), так и с неполной активирующей микросомальной смесью (НАМС) без добавления фракции S9. На каждую дозу изучаемого соединения и контрольных мутагенных растворов проводили по 3 повторности с ПАМС и 3 повторности с НАМС. Через 48 часов инкубации при 37°С на счетчике колоний подсчитывали колонии прототрофных ревертантов.

Сущность метода учета хромосомных аберраций в клетках костного мозга млекопитающих заключается в выявлении и оценке влияния на генетический аппарат клеток костного мозга.

В целях накопления клеток в стадии метафазы в костном мозге мышей за 1 час до эвтаназии животным вводили колхицин («Serva», в/б) в дозе 4,8 мг/г. Затем осуществляли эвтаназию животных методом дислокацией шейных позвонков.

Для получения суспензии клеток костного мозга отделяли бедренную кость теплым гипотоническим раствором (0,075 M KCl), вымывали костный мозг в пробирку и тщательно ресуспендировали. Термостатировали в течение 15 минут при 37°C, центрифугировали на протяжении 7 минут при 1000 об/мин,

надосадочную жидкость удаляли. К осадку осторожно прибавляли холодный фиксатор Карнуа (метиловый спирт и ледяная уксусная кислоты в соотношении 3:1), помещали суспензию в холодильник при - 4°C на 10 минут, затем снова центрифугировали, удаляли надосадочную жидкость, ресуспендировали и отмывали новыми порциями фиксатора Карнуа. Затем помещали суспензию в холодильник при - 4°C на 20 минут, удаляли надосадочную жидкость, 0,2 - 0,5 мл осадка наносили на 2 холодных предметных стекла и высушивали над пламенем горелки. Препараты окрашивали азур-эозином.

Хромосомы анализировали на микроскопе Leica DM 3000 (увеличение 100x10) с применением программного обеспечения для обработки и анализа изображения «Leica Application Suite». Регистрировали аберрации хромосомного и хроматидного типа, визуально определяемые ахроматические пробелы (гепы).

Метод учета индукции доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках основан на том, что под воздействием лекарственных препаратов и химических веществ возможны возникновения генетических изменений в гамете, которые приводят к гибели зиготы и повышенной эмбриональной смертности.

Основным показателем, характеризующим постимплатационную выживаемость, является уровень постимплантационных потерь. В случае превышения значения показателя постимплантационных потерь в опытной группе по отношению к контрольной группе определялась достоверность различий в опытной и контрольной группах с помощью критерия χ^2 по формуле:

$$\chi^2 = \frac{([ad - bc] - 0.5 \times N)^2 \times N}{(a+b) \times (c+d) \times (a+c) \times (b+d)}$$
 (2), где

а - мертвые эмбрионы, контроль; b - мертвые эмбрионы, эксперимент; c - живые эмбрионы, контроль; d - живые эмбрионы, опыт; N = a + b + c + d

Оценка репротоксичности соединения Б-12

Изучение репродуктивной токсичности наиболее активного соединения Б-12 в виде 1,3% раствора (растворитель-физиологический раствор NaCl (ООО «Гротекс», серия 13451018)) в дозе 13 мг/кг (предполагаемая 10-кратная высшая суточная терапевтическая доза для человека) проводили в экспериментальных исследованиях на 96 крысах Wistar (самцы и самки, исходная масса тела 180-220 г.). Опытной подгруппе самок (22 животных) в течение 2-х недель (3-4 эстральных цикла) назначали соединение Б-12 в исследуемых дозах, второй контрольной подгруппе (44 самки) в/б вводили 0,9% стерильный физиологический раствора NaCl.

Самцам экспериментальной подгруппы (10 животных) на протяжении 10 недель (2-3 цикла созревания сперматозоидов) назначали соединение Б-12 в/б в дозе 13 мг/кг.

Затем животных объединили в три группы: первая (контроль) - 10 контрольных самцов + 22 контрольные самки; вторая (соединение Б-12) – 10 контрольных самцов + 22 опытные самки; третья (соединение Б-12) – 10 опытных самцов + 22 контрольные самки.

На протяжении двух эстральных циклов в вагинальных мазках у самок регистрировали стадии проэструс, эструс, метаэструс и диэструс. Обнаружение в вагинальных мазках сперматозоидов считалось первым днем беременности. По истечении 10 дней беременных самок разделяли на подгруппы. На 20 день беременности первые подгруппы были подвергнуты эвтаназии, отмечали количество желтых тел в яичниках, плодов, мест имплантации в рогах матки, резорбций. На основании полученных данных были вычислены индекс беременности, индекс плодовитости и показатели предимплантационной и постимплантационной гибели по формулам:

Предимплантационная гибель =
$$\frac{(\text{Количество желтых тел} - \text{количество мест имплантации}) \times 100}{\text{Количество желтых тел}} \%$$
 (3

Постимплантационная гибель =
$$\frac{(\text{Количество мест имплантации} - \text{количество живых плодов}) \times 100}{\text{Количество мест имплантации}} \% (4)$$

Вторые подгруппы беременных самок оставляли на роды. Фиксировали продолжительность беременности, дату родов и количество родившихся крысят в помете.

Исследование эмбриотоксичности и тератогенности соединения Б-12

Беременным крысам Wistar (в/б, масса тела 180-220 г.) вводили соединение Б-12 в виде 1,3% и 2,6% растворов ежедневно на протяжении всего периода беременности (с 1 по 19 день гестации) в дозах 13 и 26 мг/кг: 10- и 20-кратных предполагаемых высших суточных терапевтических дозах для человека (1,3 мг/кг). Контрольная группа получала соответствующие количества 0,9% стерильного физиологического раствора NaCl. Ежедневно регистрировали общее состояние беременных опытных и контрольных крыс, животных взвешивали еженедельно.

На 20-й день беременности проводили эвтаназию 70% животных опытных и контрольной групп для исследования состояния внутренних органов, костного скелета и показателей пред- и постимплантационной гибели плодов по формулам 3 и 4.

После определения массы тела и кранио-каудального размера плодов проводили анализ внешних аномалий (подкожные кровоизлияния, отек подкожной клетчатки) и пороков развития (искривление конечностей и позвоночного столба, изменения глазных яблок, ушных раковин).

Первую группу плодов после наружного осмотра фиксировали в 96% спирте, просветляли раствором щелочи, промывали водой, окрашивали ализарином и изучали костный скелет по Доусону. Вторую группу плодов фиксировали в жидкости Буэна и изучали развитие внутренних органов на

микроанатомических срезах по Вильсону-Дыбану, также мочеточники, мочевой пузырь и органы репродуктивной системы.

Треть от общего количества беременных самок была оставлена на роды, после которых регистрировали показатели смертности крысят, физического развития и динамики массы тела в течение первого месяца постнатального периода.

Оценка иммунотоксичности соединения Б-12

При исследовании иммунотоксических свойств было изучено влияние соединения Б-12 на *гуморальный иммунитет*: идентификация антителообразующих клеток (АОК) в селезенке по методу Ерне [123], а также на *клеточный иммунитет* — оценка реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) у мышей как при однократном, так и при курсовом введении.

Мышей предварительно иммунизировали эритроцитами барана (ЭБ), отмытыми в стерильном физиологическом растворе NaCl в оптимальной иммуногенной дозе $5x10^8$ клеток/мышь Экспериментальные исследования проведены на 70 мышах-гибридах F1 (CBAxC57Bl6) (самцы, масса тела 18-20 г.), разделенных на 7 групп по 10 животных в каждой. Животным 1 и 2 групп за сутки до иммунизации ЭБ (день «-1») вводили соединение Б-12 в дозах 13 и 26 мг/кг. Мышам 3 и 4 групп вводили соединение Б-12 через 1 час после иммунизации (день «0») в тех же дозах, животным 5 и 6 групп - через 24 часа после иммунизации ЭБ (день «+1»). Контрольной 7 группе в день «+1» вводили соответствующие количества физиологического раствора внутрибрюшинно.

Оценку **иммунотоксических свойств соединения Б-12 при курсовом введении** проводили в конце курсового введения и после восстановительного периода (14 дней) на том же количестве животных.

При проведении экспериментальных исследований по изучению влияния соединения Б-12 на реакцию гиперчувствительности замедленного типа

вводили в левую заднюю лапу на 5-е сутки после иммунизации животным разрешающую инъекцию ЭБ в дозе $1x10^8$ клеток/мышь в объеме 50 мкл. В подушечку контралатеральной лапы вводили 50 мкл стерильного физиологического раствора, на следующие сутки после введения разрешающей дозы мыши были подвергнуты эвтаназии. Через 24 часа оценивали результаты на основании данных взвешивания «контрольной» и «опытной» лап. Разница в массе характеризовала величину отека и интенсивность реакции гиперчувствительности замедленного типа. Индекс реакции вычисляли по формуле 5:

$$U = \frac{Po - Pk}{Pk} * 100 \%$$
 (5)

Для определения **клеточности** селезёнку дезинтегрировали в растворе Хенкса в гомогенизаторе типа стекло/стекло, процедуру проводили в холодных условиях. Суспензию клеток фильтровали через двухслойный капроновый фильтр, отмывали трехкратно и центрифугировали на протяжении 5 минут.

Исследование аллергезирующего действия соединения Б-12

Исследования аллергизирующего действия соединения Б-12 были проведены на основании *реакции гиперчувствительности III типа* и *изучения анафилактогенной активности* на морских свинках.

Исследование *анафилактогенной активности* проведены на 15 пестрых морских свинках (самцы, масса тела 250-330 г.). Наиболее активное соединение Б-12 вводили в дозах 1,3 и 13 мг/кг (1-кратная и 10-кратная высшая терапевтическая доза, рекомендованная для человека). Контрольная группа получала стерильный физиологический раствор NaCl в эквивалентных дозах.

Сенсибилизацию животных проводили при в/ж введении 5-кратным интервалом. Тест-введения (разрешающие дозы) соединения Б-12 и физиологического раствора вводили в/б на 14-й и 21-й дни после последней сенсибилизации. Оценку анафилактогенной активности проводили по

выраженности аллергической реакции у животных на введение разрешающей дозы и проявлению анафилаксии.

Реакция гиперчувствительности III типа на морских свинках была проведена на 15 пестрых морских свинках (самцы, масса тела 250-330 г.), имеющих большие белые участки кожи. Животные были разделены на 3 группы по 5 животных в каждой. Вводимые дозы соединения Б-12 соответствовали 1- и 10-кратной высшей суточной терапевтической дозе для человека. Животных сенсибилизировали в/ж введением соединения Б-12 в дозах 1,3 и 13 мг/кг с 5-кратным с интервалом. Контрольные животные получали эквивалентные количества физиологического раствора.

На 10-й день после последней сенсибилизации у животных на спине на участке 3х3 см выстригали шерсть и водили по 0,5 мл раствора соединения Б-12 в одну точку. В другую точку – такой же объем физиологического раствора NaCl. Через 4 и 24 часа после внутрикожного введения разрешающей дозы визуально оценивали реакции по степени выраженности отека, гиперемии или воспаления в месте введения.

Достоверность и обоснованность основных положений, выводов диссертационного исследования обеспечивалась обработкой анализом полученных экспериментальных данных, достаточным количеством животных в контрольных и экспериментальных группах и подтверждалась методами статистической обработки при помощи t-критерия Стьюдента. Статистическими значимыми считались различия при р < 0,05. Статистическая обработка экспериментальных результатов проведена с использованием программ MS Excel 2010 (Microsoft, США) и Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США) на компьютере Intel® Core ™ i7-4700 HQ CPU@ издание Windows 7 профессиональная.

ГЛАВА 3. ХИМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ, ТОКСИЧНОСТЬ И ПЕРВИЧНАЯ ОЦЕНКА АНТИАРИТМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ N, N – ДИЗАМЕЩЕННЫХ АМИНОАМИДОВ

3.1. Химическое строение и физико-химические свойства

N, N – дизамещенных аминоамидов

В рамках диссертационного исследования проведено изучение 20 оригинальных, впервые синтезированных соединений класса функционально N, N — дизамещенных аминоамидов, в виде гидрохлоридов с переменной длиной и различными заместителями в углеродной цепи при аминной, амидной группах, спейсере между ними и общей формулы:

Длина цепи и радикалы R^1 - R^4 варьировали в широких пределах и были представлены как линейными, так и циклическими углеводородами (Таблица 4).

Все соединения были хорошо растворимы в воде и представляли собой порошки белого цвета, за исключением соединений Б-20 и Б-12, которые имели кремовый цвет.

Таблица 4 – Химическая структура и физико-химические свойства соединений

777 1	V		Химическая структура				
Шифр	Химическое название	R^{I}	R^2	R^3 R^4	n	Свойства	
Б-1	Дигидрохлорид N-(2-(диэтиламино)этил)- N-(2-пиперидиноэтил)-2-(2,4- дихлорфенокси)ацетамида	2,4- Cl ₂ C ₆ H ₄	CH ₂ CH ₂ N(C ₂ H ₅) ₂	$NR^3R^4 =$	0	Белое крист. в-во Т _{пл} = 134-135° С	
Б-2	Дигидрохлорид N-(2-(диэтиламино)этил)- N-(2-пирролидиноэтил)-2-(2,4- дихлорфенокси)ацетамида	2,4- Cl ₂ C ₆ H ₄	CH ₂ CH ₂ N(C ₂ H ₅) ₂	$NR^3R^4 =$	0	Белое крист. в-во Т _{пл} = 193-194° С	
Б-3	Дигидрохлорид N-(2-(диэтиламино)этил)- N-(2-пирролидиноэтил)-2- феноксиацетамида	C_6H_5	CH ₂ CH ₂ N(C ₂ H ₅) ₂	$NR^3R^4 =$	0	Белое крист. в-во $T_{\text{пл}} = 212\text{-}214^{\circ} \text{ C}$	
Б-4	Дигидрохлорид N-(2-(диэтиламино)этил)- N-(2-морфолиноэтил)-2-(2,4- дихлорфенокси)ацетамида	2,4- Cl ₂ C ₆ H ₄	CH ₂ CH ₂ N(C ₂ H ₅) ₂	$NR^3R^4 =$	0	Белое крист. в-во Т _{пл} = 183-184° С	
Б-5	Дигидрохлорид N-(2-(диэтиламино)этил)- N-(2-морфолиноэтил)-2- феноксиацетамида	C_6H_5	CH ₂ CH ₂ N(C ₂ H ₅) ₂	$NR^3R^4 =$	0	Белое крист. в-во Т _{пл} = 181-183° С	
Б-6	Дигидрохлорид N,N-бис(2- (диэттиламино)этил)-2-феноксиацетамида	C_6H_5	$CH_2CH_2N(C_2H_5)_2$	$NR^3R^4 = CH_2CH_2N(C_2H_5)_2$	0	Белое крист в-во Т _{пл} = 188-189° С	
Б-7	Дигидрохлорид N-(2-(2-(бензил(2- (диэтиламино)этил)амино)этокси)этил)-2- (2,4-дихлорфенокси)ацетамида	2,4- Cl ₂ C ₆ H ₄	Н	$\begin{array}{ c c c c c c } \hline CH_2CH_2N(C_2H_5)_2 & CH_2C_6H_5 \\ \hline \end{array}$	1	Белое крист. в-во $T_{\pi\pi} = 162\text{-}163^{\circ}$ С	
Б-8	Дигидрохлорид N-(2-(диэтиламино)этил)- N-(2-пиперидиноэтил)-2- феноксиацетамида	C_6H_5	CH ₂ CH ₂ N(C ₂ H ₅) ₂	$NR^3R^4 = N$	0	Белое крист. в-во Т _{пл} = 135-136° С	

Таблица 4 (продолжение)

XXX 1	V.		Химическая структура					
Шифр	Химическое название	R^{I}	R^2	R^3		R^4	N	Свойства
Б-9	Гидрохлорид N-(2-диэтиламиноэтил)-N-(2- гидрокси-2-фенилэтил)-2-феноксиацетамида	C ₆ H ₅	CH ₂ CH(OH)C ₆ H ₅	NR ³ F	$R^4 = N(C_2)$	H ₅) ₂	0	Белое крист. в-во Т _{пл} = 155-156° С
Б-10	Гидрохлорид N-(2-гидрокси-2-фенилэтил)- N-(2-морфолиноэтил)-2-феноксиацетамида	C ₆ H ₅	CH ₂ CH(OH)C ₆ H ₅	$NR^3R^4 = $		0	Белое крист. в-во $T_{\pi\pi} = 170\text{-}171^{\circ}$ С	
Б-11	Гидрохлорид N-(2-гидрокси-2-фенилэтил)- N-(2-пиперидиноэтил)-2-феноксиацетамида	C ₆ H ₅	CH ₂ CH(OH)C ₆ H ₅	NR ³ R	N. 1.4 =		0	Белое крист. в-во Т _{пл} = 160-161° С
Б-12	Гидрохлорид N-{2-[2- (пиперидино)этокси]этил}феноксиацетамид	C ₆ H ₅	Н	$NR^3R^4 =$		1	Кремовое крист. в-во Т _{пл} = 110-112° С	
Б-13	Дигидрохлорид <i>N</i> -(2-(2-(бензил(2- пиперидино)этил)амино)этокси)-этил)-2,4- дихлорфеноксиацетамида	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₄	Н	CH ₂ C ₆ H ₅	CH ₂ CH	H_2N	1	Белое крист. в-во $T_{\pi\pi} = 178-179^{\circ} \text{ C}$
Б-14	Дигидрохлорид <i>N</i> -(2-(2-(бензил(2-морфолино)этил)амино)этокси)-этил)-2,4-дихлорфеноксиацетамида	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₄	Н	CH ₂ C ₆ H ₅	CH₂C⊦	⁴ 2N	1	Белое крист. в-во Гигр. Т _{пл} = 158-159° С
Б-15	Дигидрохлорид <i>N</i> -(2-(2-(бензил(2-морфолиноэтил)амино)- этокси)этил)феноксиацетамида	C ₆ H ₅	Н	CH ₂ C ₆ H ₅	CH₂C⊦	H ₂ N O	1	Белое крист. в-во
Б-16	Гидрохлорид N-(2-(2- морфолиноэтокси)этил)феноксиацетамида	C ₆ H ₅	Н	NR ³ R ²	N =	Ò	1	Белое крист в-во, Т _{пл} = 89-91°C

Таблица 4 (продолжение)

111 1	V		Химическая структура				
Шифр	Химическое название	R^I	R^2	R^3 R^4	n	Свойства	
Б-17	Гидрохлорид N-(2-(2-пиперидиноэтокси)этил)бензамида	$R^{1}OCH_{2}=$ $C_{6}H_{5}$	Н	$NR^3R^4 =$	1	Белое крист. в-во, Т _{пл} = 96-98°C	
Б-18	Гидрохлорид N-(2-(2- морфолиноэтокси)этил)бензамида	$R^{1}OCH_{2}=$ $C_{6}H_{5}$	Н	$NR^3R^4 =$	1	Белое крист. в-во, $T_{пл} = 105\text{-}106^{\circ}\text{C}$	
Б-19	Гидрохлорид N-(2-(2- пиперидиноэтокси)этил)-2,4- дихлорфеноксиацетамида	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₄	$NR^2 = O$	$NR^3R^4 =$	1	Белое крист. в-во, $T_{\pi\pi} = 110\text{-}111^{\circ}\text{C}$	
Б-20	Гидрохлорид N-(2-(2- пиперидиноэтокси)этил)-2-(2,4- дихлорфенокси)ацетамида	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₄	Н	$NR^3R^4 =$	1	Кремовое крист. в-во Т _{пл} = 65-67°С	

3.2. Исследование «острой» токсичности изучаемых соединений

«Острая» токсичность характеризуется токсикометрическими параметрами химического соединения, фармакологического вещества или лекарственного препарата и представляет важную информацию об их биологическом действии, определяет диапазон доз фармакологических и токсических эффектов. Целью изучения острой токсичности является определение переносимых, токсических и летальных доз фармакологического вещества при его однократном введении в организм лабораторных животных, установление причин их гибели с анализом клинической картины интоксикации.

Исследования «острой» токсичности N, N — дизамещенных аминоамидов проведены на 440 мышах линии BALB/с (самцы и самки, масса тела 18-20 г.) при однократном внутрибрюшинном введении. Исследуемые соединения вводили в виде свежеприготовленных водных растворов. В первый день после введения животные находились под непрерывным контролем, общая продолжительность наблюдения за животными составляла не менее 14 дней. Регистрировались изменения кожи и меха, глазных и слизистых мембран, кровеносной, дыхательной, центральной и вегетативной нервной системы, соматомоторной активности и поведения особей.

Клинические проявления острой интоксикации животных характеризовались возбуждением, учащением дыхания, которые сменялись заторможенностью, расстройством походки, адинамией, клонико-тоническими судорогами и гибелью в течение 3-40 минут после введения веществ.

Токсичность при однократном введении определяля в два этапа, на первом этапе по методу Deichman, Le Blanc [96] устанавливали ориентировочное значение средней смертельной дозы (ЛД $_{50}$). Для установления точных показателей средней смертельной дозы, ее стандартной ошибки и других значений токсикометрии проводили развернутые эксперименты методом пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксону [6, 137].

Как показали проведенные исследования, при однократном внутрибрюшинном введении мышам линии BALB/с исследуемые соединения класса N, N — дизамещенных аминоамидов оказались малотоксичными веществами, значения Π_{50} находились в пределах 96-822 мг/кг. Параллельно с исследуемыми соединениями проводили исследования «острой» токсичности референс-препаратов, результаты экспериментов которых представлены в Таблице 5.

В соответствии с Согласованной на глобальном уровне системой классификации и маркировки химических веществ (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS) изучаемые соединения относятся к III-IV классу токсичности и опасности химических веществ.

Анализ полученных данных позволил установить влияние различных фрагментов структуры изучаемых соединений на их токсичность. Аминоамиды 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (соединения Б-4, Б-7, Б-13) оказались менее токсичными, чем аминоамиды феноксиуксусной кислоты (соединения Б-3, Б-8, Б-10).

Установлено, что токсичность аминоамидов зависит от длины углеродной цепи (n), введения атома кислорода в метиленовую цепь снижает токсичность.

На основании полученных экспериментальных данных можно сделать выводы о том, что токсичность N, N — дизамещенных аминоамидов существенно зависит от характера заместителей в аминогруппе и увеличивается в ряду NC_4H_8 (пирролидино) $< NC_5H_{10}$ (пиперидино) $< N(C_2H_5)_2$ (диэтиламино) $< NC_4H_8O$ (морфолино). Данный факт прослеживается на примере соединений: Б-18 и Б-17, Б-16 и Б-12.

Среди референс-препаратов наиболее токсичными (по показателям $\Pi \Pi_{50}$) оказался пропафенон, наименее – амиодарон (Таблица 5).

Таблица 5 — Токсичность изучаемых соединений и референс-препаратов при однократном в/б введении мышам линии BALB/c (мг/кг)

Соединение	ЛД ₁₀	ЛД ₁₆	$III_{50\pm m}$	ЛД ₈₄
Б-1	60	70	96±3,8	129
Б-2	80	86,5	126±2,5	148
Б-3	272	300	390±15,0	540
Б-4	140	152	190±5,5	240
Б-5	170	192	260±8,3	335
Б-6	210	247	279±3,3	302
Б-7	50	78	93±11,4	129
Б-8	269	279	310±6,5	342
Б-9	125	141	210±13,9	275
Б-10	204	226	309±20,2	388
Б-11	89	98	128±3,0	159
Б-12	130	152	230±13,9	330
Б-13	81	86	104±1,9	123
Б-14	130	140	180±6,2	220
Б-15	102	112	140±4,5	170
Б-16	194	208	274±4,1	370
Б-17	160	198	266±3,2	342
Б-18	675	705	822±6,4	958
Б-19	108	124	147±12,1	178
Б-20	220	230	270±4,9	309
Амиодарон	281	313	430±12,5	490
Новокаинамид	210	220	300±10,8	375
Пропранолол	56	63	85±3,5	115

Анализ данных показал также влияние других заместителей на показатели токсичности изучаемых соединений. Полученные результаты позволили определить и обосновать выбор диапазона доз для первичной оценки антиаритмических свойств и других фармакологических эффектов среди соединений класса N, N – дизамещенных аминоамидов.

3.3. Первичная оценка антиаритмической активности изучаемых соединений на аконитиновой модели нарушений сердечного ритма

 \mathbf{C} антиаритмического целью выявления действия при первичном исследовании новых соединений класса N, N – дизамещенных аминоамидов был выбран скрининговый метод исследования, основанный на введении аритмогенов химических соединений, моделирующих различные виды нарушений сердечного ритма в клинике. Таким методом послужила аконитиновая модель аритмии. Введение аконитина гидробромида в дозе 40 мкг/кг внутривенно приводило К появлению на электрокардиограмме признаков аритмии, проявляющейся желудочковой экстрасистолии, переходящей виде тахисистолию и фибрилляцию желудочков. Введение аконитина вызывало в более 90% случаев несовместимые с жизнью нарушения сердечного ритма. Латентный период возникновения аримии составлял 1-2 мин после введения аконитина, гибель животных происходила на 10-30 мин (Рисунок 1.А).

Данная модель широко применяется в экспериментальных исследованиях, что позволяет оценивать антиаритмическое действие в жестких условиях и отбирать наиболее перспективные соединения.

Скрининговые исследования по выявлению соединений с антиаритмической активностью проведены на 530 крысах Wistar (самцы и самки, масса тела 180-240 г.), наркотизированных уретаном (1300 мг/кг, в/б). Аконитиновую модель аритмии воспроизводили по стандартной методике [169], вводили в бедренную вену крысы медленно в течение 20 секунд в дозе 40 мкг/кг. Изучаемые соединения и референс-препараты (пропранолол, амиодарон, новокаинамид) в эффективных антиаритмических дозах вводили за 2-3 минуты до введения аритмогена. После записи фоновой электрокардиограммы во ІІ стандартном отведении вводили внутривенно исследуемое вещество и через 1-2 минуты аконитина гидробромид. Через 1, 2, 5, 10, 15, 20, 30 и 40 минут осуществляли повторные регистрации электрокардиограмм. Эксперименты проводили по схеме

контрольных исследований. Каждый диапазон доз исследуемых соединений оценивали на 5-10 животных.

Эффективность антиаритмического действия соединений оценивали по продолжительности аритмии, степени тяжести, времени возникновения и проценту снятых аритмий у животных, а также по указанным выше индексам $\Pi J_{50}/9 J_{50}$ и $\Pi J_{10}/9 J_{90}$.

Введение исследуемых соединений класса N, N — дизамещенных аминоамидов в диапазоне испытанных доз 1/100-1/10 от Π_{50} (для мышей при в/б введении) приводило к 40-100% выживаемости животных при нарушениях сердечного ритма, вызванных аконитином (Таблица 6).

Соединения Б-1, Б-8, Б-9, Б-17 в испытанном диапазоне доз увеличивали продолжительность латентного периода возникновения аконитиновой аритмии или полностью предотвращали ее развитие. В качестве иллюстраций на рисунках 1-3 представлены электрокардиограммы исследуемых соединений.

Антиаритмическое действие соединений класса N, N — дизамещенных аминоамидов подтверждали также другим критерием - процентом предотвращенных аритмий. На моделях аконитиновой аритмии у крыс Wistar ряд изучаемых соединений в дозах до 4 мг/кг (соединения Б-1, Б-12, Б-19) в 50-100% случаев снимает аритмии, вызванные введением аконитина гидробромида. В сводной таблице 6 представлена более подробная характеристика, а также показатели оценки антиаритмических свойств изучаемых соединений на модели аконитиновой аримии у крыс Wistar.

Таблица 6 — Антиаритмические свойства N, N-дизамещенных аминоамидов и референс-препаратов на аконитиновой модели аритмии

IIIdo	-	риментальные условия				
Шифр соедине ния	Дозы, мг/кг	Количество животных	Снятие аритмий, %	Предотвращение аритмий, %	Продолжите льность аритмии, мин	Процент выживших животных %
	9,6	5	30	40	18±4,34	80
	4	5	70	80	16±6,76	100
Б-1	2	10	100	100	15±5,80	100
	1	10	100	100	10±2,31	100
	0,5	10	80	90	12±3,42	100
	12	3	0	0	18±6,45	5
Б-2	7	5	15	10	19±5,23	10
D-2	2	10	50	30	15±5,67	70
	1	10	10	20	16±6,78	70
	39	3	0	0	53±3,20	0
Б-3	20	3	0	0	46±8,66	0
	10	5	10	3	41±7,34	10
	2	5	15	5	40±5,56	15
	19	3	0	0	64±7,00	3
Б-4	10	3	3	5	54±8,71	10
D 1	2	5	6	8	46±8,92	30
	1	5	10	10	38±9,81	70
	26	3	0	0	34±7,12	0
Б-5	14	3	3	5	30±5,67	5
B 3	7	5	5	10	23±6,23	10
	2	5	20	20	25±6,76	20
	27	3	0	0	43±12,7	0
Б-6	15	3	0	0	40±3,48	30
Б-0	7	5	10	10	37±5,87	50
	1	5	30	50	35±6,67	50
	10	3	5	10	13±6,32	50
Б-7	2	5 5	5	20	16±8,10	50
D-7	1	5	10	40	22±6,40	70
	0,5	5	30	40	13±2,26	80
	31	3	5	10	25±3,65	70
	15	5	10	15	20±8,57	100
Б-8	5	5 5	70	30	17±2,45	100
D-0	5 2 1	5	100	85	18±5,78	100
		10	100	100	15±4,32	100
	0,5	5	70	80	18±7,67	100
	21	2	5	5	36±4,21	10
	10	5	10	15	28±5,67	30
Б-9	4	5	10	20	25±5,32	80
	2	10	30	70	16±6,98	100
	0,75	10	50	50	14±7,57	100

Таблица 6 (продолжение)

IIIudn	_	риментальные условия	е Результаты исследований				
Шифр соедине ния	Дозы, мг/кг	Количество животных	Снятие аритмий, %	Предотвращение аритмий, %	Продолжите льность аритмии, мин	Процент выживиих животных, %	
Б-10	30	3	0	0	46±7,34	0	
	15	3	10	5	37±12,3	20	
	5	6	40	30	28±4,56	80	
	1	6	45	50	22±7,65	50	
	0,25	3	15	30	32±4,59	50	
	12	3	10	10	18±3,26	10	
	6	6	20	30	28±6,25	20	
Б-11	2	5	20	50	23±4,78	70	
	0,5	6	70	60	27±7,46	70	
Б-12	20 2 1 0,25 0,03	3 5 5 8 6	70 100 100 100 90	700 100 100 80 75	$ 18\pm5,7 15\pm10,2 27\pm9,2 69\pm8,9 95\pm7,5 $	100 100 100 100 100	
	0,015 0,008 10	4 4 3	80 80 0	60 60 0	$ 81 \pm 7,5 \\ 98 \pm 13,2 \\ 23\pm 3,20 $	100 100 0	
Б-13	5	3	50	20	26±8,66	70	
	1	5	10	30	31±7,34	70	
	0,5	5	15	10	40±5,56	30	
	0,25	5	30	30	42±3,45	30	
Б-14	14 7 3 1	3 5 5 5	5 10 10 60 20	10 15 30 20 20	15±3,85 17±8,77 19±2,45 18±5,28	5 10 50 70	
Б-15	0,5 14 7 2 0,5	10 3 3 5 5	0 3 5 10	0 5 10 20	16±4,62 24±7,82 35±5,67 28±6,33 23±6,96	10 0 0 10 20	
Б-16	27	7	29	14	41±12,2	80	
	15	3	0	0	35±8,3	70	
	7	3	0	0	48±3,5	100	
Б-17	15	5	80	40	22±11,2	100	
	9	5	70	0	31±14,4	100	
	5	5	50	30	33±14,1	100	
	1	6	50	20	40±5,0	100	
	0,5	4	20	0	45±15,0	100	
Б-18	82	5	40	0	48±17,8	80	
	62	3	100	0	30±17,5	100	
	21	3	100	0	35±10,0	100	
	12	3	100	0	36±8,5	100	

Таблица 6 (продолжение)

	Экспериментальные условия		Результаты исследований					
Шифр соединения	Дозы, мг/кг	Количество животных	Снятие аритмий, %	Предотвраще ние аритмий, %	Продолжи тельность аритмии, мин	Процент выживших животных, %		
	12	3	100	0	35±5,0	100		
Б-19	6	3	100	0	$47\pm2,5$	100		
D-19	1,5	5	100	0	50±12,4	100		
	0,75	5	40	0	43±12,8	100		
	27	3	0	0	40±4,23	5		
Б-20	10	3	3	5	$32\pm3,76$	10		
D-20	4	5	5	12	30±5,90	10		
	2	6	10	20	28±5,87	20		
	4	4	75	100	$48,0 \pm 7,8$	100		
Амиодарон	5	6	100	100	$31,0 \pm 5,9$	100		
	7	5	100	100	$53,0 \pm 14,4$	100		
	5	5	70	30	$30\pm2,30$	100		
Новокаинамид	10	5	70	50	23±4,34	100		
	30	5	60	30	27±4,54	100		
Пропранолол	2	5	60	50	$36,0 \pm 8,4$	100		
пропранолол	6	6	80	90	$47,0 \pm 15,2$	100		
Контроль	-	40	-	-	-	20		

В таблице 7 представлены данные, характеризующие сравнительную эффективность антиаритмического действия изучаемых соединений референс-препаратов (новокаинамид, амиодарон, пропранолол). Антиаритмическое лействие соединений оценивали ПО величине среднеэффективной дозы (ЭД₅₀), антиаритмическому индексу (соотношение $\Pi \Pi_{50}/\Theta \Pi_{50}$) и индексу Шнейдера-Брокка ($\Pi \Pi_{10}/\Theta \Pi_{90}$) [165]. Индекс Шнейдера-Брокка позволяет дать более точную характеристику фармакологической активности, терапевтической широте соединений и оценить перспективность создания на их основе лекарственных средств. Антиаритмический индекс (АИ) характеризует широту терапевтического действия лекарственных средств и для ряда изучаемых соединений превышает величину 100. Для соединений Б-12 и Б-8 показатель АИ составляет 442 и 388 соответственно (Таблица 7).

Время	Аконитина гидробромид, 40 мкг/кг	Соединение Б-12, 1 мг/кг + Аконитина гидробромид, 40 мкг/кг	Соединение Б-8, 2 мг/кг + Аконитина гидробромид, 40 мкг/кг
Фон	hhahhahhahhahh	hadalahahahah	haranda harand
1 мин	whilehalahahahahahah	hadadadadadadadadadadadadadadadadadadad	halalahahahahahahahahahahahahahahahahah
3 мин	had bad bad ba		hadlahadlahada
5 мин	mynhaphhaph	hildelik	
10 мин	phrapphappart	hhhhhhhhhh	
15 мин	Mulleman	hhhhhhhhh	MANAMAN
20 мин	Muhapanahya	hahhahahahahahahahahahahahahahahahahahah	- Landy-
30 мин	\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\	alabahahahahahahahahahahahahahahahahahah	hhaldhada
40 мин		de la companya de la	hoperholipholiph

Рис. 1: Изменения ЭКГ у крысы после в/в введения аконитина гидробромида в дозе 40 мкг/кг и изучаемых соединений Б-12 (1 мг/кг) и Б-8 (2 мг/кг) + аконитина гидробромид (40 мкг/кг).

Время	Амиодорон (4мг/кг) + Аконитина гидробромид (40 мкг/кг), в/в	Соединение Б-9 (5 мг/кг) + Аконитина гидробромид (40 мкг/кг), в/в	Никотинамид (5 мг/кг) + Аконитина гидробромид (40 мкг/кг), в/в
Фон	hardentalahardahar	appropriate propriate prop	hhhhhhhhh
1 мин	MANAMANAMA	MANAMANAMA	hhhhhhhhhh
3 мин	hahdadadahahahaha		hillihilalalalala
5 мин	ahahahahahahahahahahahahahahahahahahah	المهدالهدالهدالهدالهدالهدالهدالهدالهدالهدال	Muhhhhhh
10 мин	hardentalahardent		inhahamahamah
15 мин	haldalalalalalalalalalalalalalalalalalal	whitehall when the	haddadadadada
20 мин	hardahardahardah	MANANAMA	hhhhhhhhh
30 мин	Mahahahahaha		haddalahababa
40 мин	handahandahandahandahandahandahandahand	wayaahaahaahaahaahaahaahaahaahaahaa	hhhhhhhhhh

Рис. 2: Влияние Амиодарона (4 мг/кг), Соединения Б-9 (5 мг/кг) и Никотинамида (5 мг/кг) на изменения показателей ЭКГ крысы после в/в введения аконитина в дозе 40 мкг/кг.

Время	Пропранолол (4 мг/кг) + Аконитина гидробромид (40 мкг/кг), в/в	Соединение Б-7 (3 мг/кг) + Аконитина гидробромид (40 мкг/кг), в/в	Соединение Б-1 (2 мг/кг) + Аконитина гидробромид (40 мкг/кг), в/в
Фон	hahahahahahahahahahah	hhhhhhhhhhh	MANAMANANANA
1 мин		habbabbbbbbb	mmmmmmm
3 мин	********	mandelle	
5 мин		Lunghlyhopith	
10 мин		hmiddidddin	the same particular particular particular particular particular particular particular particular particular pa
15 мин		musely discussed	
20 мин			
30 мин		humbanhani	
40 мин		Mulliman	manument

Рис. 3: Влияние Пропранолола (4 мг/кг), Соединения Б-7 (3 мг/кг) и Соединения Б-1 (2 мг/кг) на изменения показателей ЭКГ крысы после в/в введения аконитина в дозе 40 мкг/кг.

При анализе полученных данных установлено, что наименьшими средними эффективными дозами (ЭД₅₀) характеризуются соединения Б-1, Б-8, Б-11, Б-12. Результаты экспериментальных исследований позволили проследить влияние различных заместителей и функциональных групп на антиаритмическую активность изучаемых соединений. В ряду N, N — дизамещенных аминоамидов большую эффективность проявили производные N,N-бис(2-(диалкиламино)этил)карбоксамидов по сравнению с производными N-(2-(2-(диалкиламино)этокси)этил)амидов. Установлено, что антиаритмические свойства аминоамидов уменьшаются в ряду NC_5H_{10} (пиперидино) > NC_4H_8O (морфолино) и зависят от строения аминогруппы, что можно проследить на примере соединений Б-12 и Б-16, Б-1 и Б-4.

Результаты экспериментальных скрининговых исследований по поиску антиаритмиков среди соединений класса N, N – дизамещенных аминоамидов на аконитиновой модели аритмии свидетельствуют о том, что многие из обладают антиаритмическими свойствами, сопоставимыми, и в ряде случаев превосходящими по активности широко применяющиеся для профилактики и лечения нарушений сердечного ритма лекарственные препараты – амиодарон, пропранолол, новокаинамид. N, N – дизамещенные аминоамиды обладают более высоким антиаритмическим индексом и низкой токсичностью – важными показателями, указывающими на целесообразность их дальнейшего исследования и разработки в качестве антиаритмических препаратов.

В проведенных скрининговых исследований результате среди N, N – дизамещенных аминоамидов отобрано 3 соединения, обладающих высокой антиаритмической активностью. Наиболее выраженные антиаритмические свойства показало соединение Б-12. Далее в порядке снижения эффективности располагаются соединения Б-1 И Б-8, превышающие ПО величине антиаритмического индекса референс-препараты.

 Таблица 7 – Эффективность антиаритмического действия

 N, N – дизамещенных аминоамидов и референс-препаратов на аконитиновой модели аритмии

Шифр соединения	ЛД50, Мг/кг	ЭД ₅₀ , мг/кг	Антиаритмический индекс АИ (ЛД ₅₀ /ЭД ₅₀)	Индекс Шнейдера- Брокка (ЛД ₁₀ /ЭД ₉₀)
Б-1	96±3,8	0,64	150	158
Б-2	126±2,6	3	42	40
Б-3	390±15,0	21	18	27
Б-4	190±5,5	8,3	23	28
Б-5	260±8,3	7,5	34	42,5
Б-6	279±3,4	14	20	30
Б-7	93±11,4	4	23	124
Б-8	310±6,5	0,8	388	727
Б-9	210±13,9	1,8	116	166
Б-10	309±20,5	4	77	83
Б-11	128±3,5	0,7	182	118
Б-12	230±13,9	0,52	442	520
Б-13	104±1,2	5	21	23
Б-14	180±6,5	1,6	112	185
Б-15	140±4,3	4	35	40,8
Б-16	274±4,1	30	9	7,4
Б-17	266±3,2	3,3	80	27,6
Б-18	822±6,4	23	35	38
Б-19	147±12,1	1,5	86,5	21,8
Б-20	270±4,3	6	45	73
Амиодарон	430±12,5	6,5	66	21
Новокаинамид	300±10,8	14	21	12
Пропранолол	85±3,50	3	28	8

Результаты, представленные в данной главе, изложены в следующих публикациях:

- Хоанг Д.К., Борисова Е.Я., Борисова Н.Ю., Асилова Н.Ю., Калдыркаева О.С., Арзамасцев Е.В., Терехова О.А., Афанасьева Е.Ю., Левицкая Е.Л. Синтез и биологическая активность N-(2-аминоэтил)-N-(2-гидрокси-2фенилэтил)карбоксамидов арилалифатического ряда. Известия Академии наук. Серия химическая, №1, 2018, с.131-136.
- 2. Калдыркаева О. С., Арзамасцев Е. В., Борисова Е. Я., Терехова О. А., Афанасьева Е. Ю., Борисова Н. Ю., Левицкая Е. Л., Кудрявцева Э. В., Гайсинюк Т. В. Токсичность и биологическое действие новых N-замещенных аминоамидов. Токсикологический вестник, №4 (151). М.: Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ, 2018, с. 46-49.
- 3. Калдыркаева О.С., Арзамасцев Е.В., Терехова О.А., Афанасьева Е.Ю., Левицкая Е.Л., Кудрявцева Э.В., Полуэктова В.П., Гайсинюк Т.В., Борисов, Е.Я., Борисова Н.Ю., Асилова Н.Ю., Зубин Е.М., Крылов А.В. Антиаримические свойства и токсикологическая характеристика N-(2-(2-(диалкиламино)этокси)этил)карбоксамидов. Кардиологический вестник. 2022; 17(2):47-54.
- 4. Борисова Е.Я., Хоанг Дык Куанг, Калдыркаева О.С., Арзамасцев Е.В., Борисова Н.Ю., Асилова Н.Ю., Терехова О.А., Афанасьева Е.Ю., Левицкая Е.Л. N, N-бис(2-(диалкиламино)этил)карбоксамиды и их дигидрохлориды, проявляющие антиаритмическую активность, и фармацевтические композиции на их основе. Патент №2645080 (RU) от 15 февраля 2018 г.
- 5. Борисова Н.Ю., Афанасьева Е.Ю., Борисова Е.Я., Арзамасцев Е.В., Крылов А.В., Лесников В.К., Виноградова Е.Е., Виноградов Д.Б., Асилова Н.Ю., Калдыркаева О.С., Терехова О.А., Левицкая Е.Л., Кудрявцева Э.В., Полуэктова В.П., Гайсинюк Т.В., Амбарцумян А.Ш. N-(2-(2-(диалкиламино)этокси)этил)карбоксамиды и их гидрохлориды, обладающие антиаритмической активностью, и фармацевтические композиции на их основе. Патент № RU2712638C1 от 30 января 2020 г.

ГЛАВА 4. ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИАРИТМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НА РАЗЛИЧНЫХ МОДЕЛЯХ НАРУШЕНИЯ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Следующим наших исследований являлось изучение этапом антиаритмических свойств у выявленных при скрининге наиболее активных N, N – дизамещенных аминоамидов при различных дозах, способах (в/в, в/ж) и (c лечебной профилактически). режимах введения целью ИЛИ эффективности проводили в сравнении с действием известных антиаритмиков, широко применяющихся в клинической практике.

Внутривенным введением аконитина гидробромида в дозе 40 мкг/кг вызывали аритмию смешанного предсердно-желудочкового типа, желудочковые нарушения ритма — хлористым кальцием (в/в в дозе 250 мг/кг) и хлористым барием (в/в в дозе 25 мг/кг). Указанные модели воспроизводят нарушения сердечного ритма, часто встречающиеся в кардиологической практике при различных сердечно-сосудистых заболеваниях, и широко используются при изучении потенциальных антиаритмиков.

Эффективность антиаритмического действия соединений и референтных препаратов оценивали по времени возникновения аритмий, их длительности и тяжести, проценту выживших животных, а также по величинам доз, предотвращающих их развитие у 50 и 90% животных (ЭД₅₀ и ЭД₉₀). С помощью метода пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксону определяли эффективные дозы изучаемых соединений, последующую объективную оценку эффективности антиаритмического действия изучаемых соединений проводили с использованием антиаритмического индекса (ЛД₅₀/ЭД₅₀) и индекса Шнейдера-Брокка (ЛД₁₀/ЭД₉₀).

По результатам скрининговых исследований на аконитиновой модели аритмии у крыс из 20 соединений N, N — дизамещенных аминоамидов для дальнейшего изучения было отобрано 3 наиболее активных вещества, токсичность, химическое строение, и антиаритмические свойства которых представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Токсичность и антиаритмические свойства наиболее активных соединений класса N, N – дизамещенных аминоамидов

Исследуемое соединение	Химическое строение	ЛД ₅₀ для мышей в/б, мг/кг	ЭД50, мг/кг	АИ (ЛД ₅₀ /ЭД ₅₀)
Б-1	Дигидрохлорид N-(2- (диэтиламино)этил)-N-(2- пиперидиноэтил)-2-(2,4- дихлорфенокси)ацетамида	96±3,80	0,64	150
Б-8	Дигидрохлорид N-(2- (диэтиламино)этил)-N-(2- пиперидиноэтил)-2-феноксиацетамида	310±6,56	0,80	388
Б-12	Гидрохлорид N-{2-[2- (пиперидино)этокси]этил} феноксиацетамид		0,52	442
	Референтные препарать			
	Амиодарон	430±12,50	6,50	66
	Новокаинамид Пропранолол	300±10,80 85±3,50	14,00 3,00	21 28

4.1. Исследование антиаритмической активности отобранных соединений на аконитиновой модели нарушений сердечного ритма

При проведении скрининговых исследований была показана высокая активность у соединений Б-1, Б-8, Б-12. Средние эффективные дозы (ЭД $_{50}$) по антиаритмическому действию составляли соответственно 0,64; 0,80; 0,52 мг/кг, антиаритмические индексы при этом были равны 150, 388, 442.

Полученные экспериментальные показатели свидетельствуют о том, что отобранные при скрининге наиболее активные соединения обладают

антиаритмической активностью, превосходящей по показателям антиаритмического индекса эффективность референс-препаратов – амиодарона (АИ=66), новокаинамида (АИ=21), пропранолола (АИ=28).

В этом отношении представляло интерес изучение некоторых особенностей антиаритмического действия наиболее активных соединений при их различных способах введения.

Исследования выполнены на 180 наркотизированных (уретан 1300 мг/кг, в/б) крысах Wistar (самцы и самки, масса тела 180-240 г.). Внутривенное введение изучаемых веществ проводили в различные промежутки времени (за 10-60 минут) до назначения аритмогена (аконитина гидробромид, 40 мкг/кг). При в/ж назначении исследуемых соединений введение аконитина в аритмогенной дозе осуществляли через 30-40 минут после введения препаратов.

В результате проведенных экспериментальных исследований установлено, что через 1-2 мин после в/в введения аконитина в дозе 40 мкг/кг у крыс из группы контроля возникала тяжелая политопная экстрасистолия, которая сопоставима с аритмией, наблюдающейся в клинических условиях. Аконитин вызывает аритмогенный и кардиотоксический эффект на миокард в сочетании с непрямым кардиотропным действием. Желудочковые и предсерные нарушения ритма осложнялись различными блокадами, трепетанием и фибрилляцией желудочков, приводящих к гибели животных более чем в 80% случаев [17, 169] (Рисунок 4).

Высокая антиаритмическая активность соединений, выявленная при скрининге, подтвердилась также при углубленном изучении антиаритмических свойств на модели аконитиновой аритмии у крыс. Все отобранные соединения превосходили по показателям антиаритмического индекса и индекса Шнейдера-Брокка референс-препараты (Таблица 9).

Таблица 9 – Эффективность антиаритмического действия изучаемых соединений и референс-препаратов на аконитиновой модели аритмии

Шифр соединения	Токсичность		Эффективность антиаритмического действия			
	ЛД ₁₀ , мг/кг	ЛД ₅₀ , мг/кг	ЭД ₅₀ , мг/кг	ЭД ₉₀ , мг/кг	ЛД50/ЭД50	ЛД10/ЭД90
Б-1	60	96±3,8	0,64	0,38	150	158
Б-8	269	310±6,6	0,8	0,37	388	727
Б-12	130	230±13,9	0,52	0,25	442	520
Референтные препараты						
Амиодарон	281	430±12,5	6,5	13,4	66	21
Новокаинамид	210	300±10,8	14	17,5	21	12
Пропранолол	56	85±3,0	3	7	28	8

Отобранное наиболее активное соединение Б-12 по показателям антиаритмического индекса и индекса Шнейдера-Брокка обладает выраженной антиаритмической активностью, превосходящей АИ амиодарона и пропранолола в 6,7 и 15,6 раз. На Рис. 4 показано сравнительное антиаритмическое действие соединения Б-12 в дозе 0,5 мг/кг, Б-8 в дозе 2 мг/кг и амиодарона в дозе 4 мг/кг.

Индекс, предложенный Шнейдером-Брокком в 1982 году, позволяет более полно охарактеризовать антиаритмическое действие изучаемых соединений. Данный показатель соответствует диапазону доз между 10% токсической и 90% эффективной дозой, чем больше терапевтическая широта, тем с большей безопасностью можно использовать фармакологические свойства препаратов [14, 77, 165].

Анализ экспериментальных данных подтвердил высокую активность исследуемых соединений по величине индекса Шнейдера-Брокка. У трех наиболее активных соединений Б-1, Б-8, Б-12 его показатели составили 158, 727, 520, соответственно, что в 7,5-34 раза превышает индекс Шнейдера-Брокка амиодарона.

Время	Аконитина гидробромид (40 мкг/кг)	Аконитина гидробромид (40 мкг/кг) + Соединение Б-12 (0,5 мг/кг)	Аконитина гидробромид (40 мкг/кг) + Соединение Б-8 (2 мг/кг)
Фон	hhhhhhhhhhhh	MANNAMANAMA	mannamannama
1 мин	hamman	Many Many Many	manufacture of the second
3 мин	monumente	that the the that the the the	mondendador
5 мин	munum	Partial and	anny many many
10 мин	V parel marchant parel p	hand hand hand had	happahababababahabapa
15 мин	m-happy	madahahahahahah	hapananhahahahahahah
20 мин	- Maria Maria Maria Maria	arranantranantra	yearhahahahahah
30 мин	and the state of t	and should have been a second	naparanaparanaparah
40 мин		mulina philippina philippina	the photography and the second

Рис. 4: Изменения ЭКГ у крыс Wistar после в/в введения аконитина гидробромида (40 мкг/кг, в/в) и назначении соединения Б-12 (0,5 мг/кг) и соединения Б-8 (2 мг/кг) через 5 минут после введения аконитина.

4.2. Исследование антиаритмической активности отобранных соединений при внутрижелудочном способе введения

Исследования эффективности антиаритмического действия отобранных при скрининге активных соединений при внутрижелудочном (в/ж) способе введения, проведены на 90 крысах Wistar (самцы и самки, масса тела 180-240 г.). Соединения вводили при помощи металлического зонда в/ж за 30-40 мин до в/в введения аконитина гидробромида (40 $MK\Gamma/K\Gamma$, B/B). Нарушения регистрировали во II стандартном отведении на кардиографе CARDIOVIT AT-1 VET Schiller (Швейцария), калибровочный сигнал 10 мм/мВ, скорость записи 25 мм/сек). Антиаритмическое действие оценивали по продолжительности аритмии, выраженности нарушений сердечного ритма, проценту выживаемости животных, а также по величине ЭД₅₀, снимающей аритмию у 50% животных.

Проведенные экспериментальные исследования показали, что при в/ж введении отобранные наиболее активные соединения класса N, N — дизамещенных аминоамидов сохраняют свои антиаритмические свойства, и отмечается сокращение продолжительности аритмии и более легкое ее течение (Таблица 10). Эффективность антиаритмического действия соединений при в/ж введении в дозах 7, 12 и 10 мг/кг показана на Рис. 5.

Таблица 10 – Антиаритмическое действие отобранных соединений при внутрижелудочном введении на модели аконитиновой аритмии у крыс Wistar

Шифр соединения	Дозы, мг/кг	Кол-во животных	Продолжительность аритмии, мин	Процент выживших животных, %	ЭД ₅₀ , мг/кг
	10	10	12±6,7	100	
Б-1	30	5	15±7,8	100	11,8
	5	5	19±3,7	100	
	30	10	22±4,7	80	
Б-8	15	5	26±3,7	80	17,3
	50	5	31±4,7	100	
	20	10	21±2,6	100	
Б-12	40	5	19±4,8	100	8,7
	10	5	16±6,9	100	
Контроль	-	10	101±12	10	_

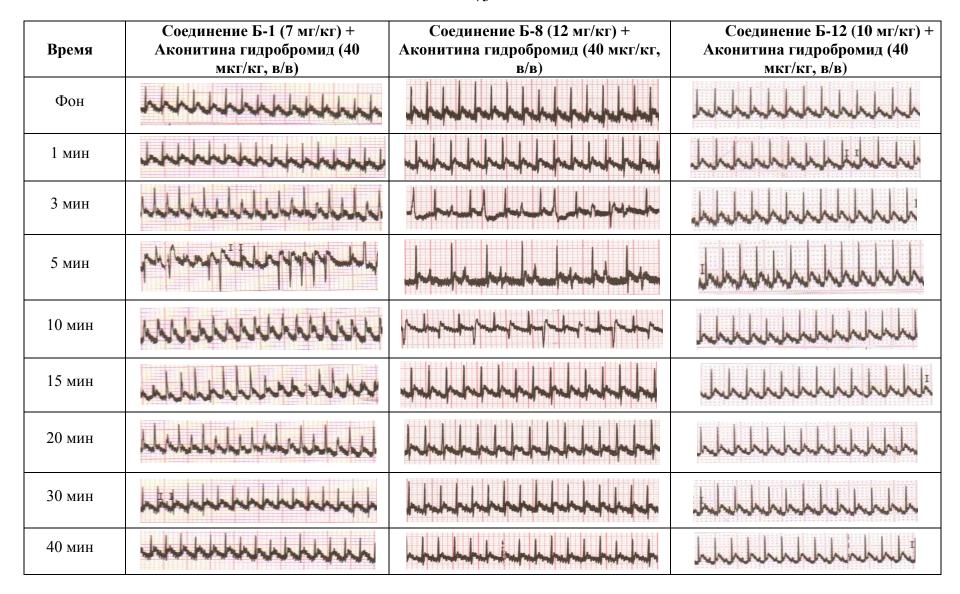


Рис. 5: Влияние соединения Б-1 (7 мг/кг), соединения Б-8 (12 мг/кг), соединения Б-12 (10 мг/кг) при в/ж введении на параметры ЭКГ после в/в введения аконитина в дозе 40 мкг/кг.

4.3. Исследование антиаритмической активности отобранных соединений на хлоридкальциевой модели нарушений сердечного ритма

Введение кальция хлорида наркотизированным крысам (уретан в/б, 1300 мг/кг) в дозе 250 мг/кг вызывает нарушение возбудимости или проводимости, или одновременно обеих функций миокарда, характеризующихся частыми политопными экстрасистолами, переходящими в желудочковую фибрилляцию, которая в 85-90% случаев заканчивается остановкой сердца [9, 12].

Аритмия, вызванная внутривенным введением кальция хлорида контрольным животным, характеризовалась латентным периодом длительностью 7,5±2 секунды до появления аритмии после введения CaCl₂, продолжалась в среднем 18±7 сек и заканчивалась их гибелью. Типичная ЭКГ представлена на рисунке 6A.

Антиаритмические свойства изучаемых соединений оценивали по выживаемости животных при их профилактическом в/в введении в различных дозах за 2-3 мин до введения 10% раствора кальция хлорида. Нарушения сердечного ритма регистрировали, начиная с 1-й минуты после введения аритмогена. Регистрацию ЭКГ проводили через 5, 10, 15 и 20 мин после введения кальция хлорида. В качестве референс-препарата применяли верапамил (АО «Алкалоид», Республика Македония) в дозах 1 и 3 мг/кг. На рисунке 6 показана эффективность его антиаритмического действия.

Анализ результатов проведенных исследований показал, что отобранные при скрининге соединения Б-1, Б-8, Б-12 при назначении кальция хлорида в дозе 250 мг/кг, в/в заметно ослабляют тяжесть нарушений сердечного ритма и предотвращают гибель животных (Таблица 11).

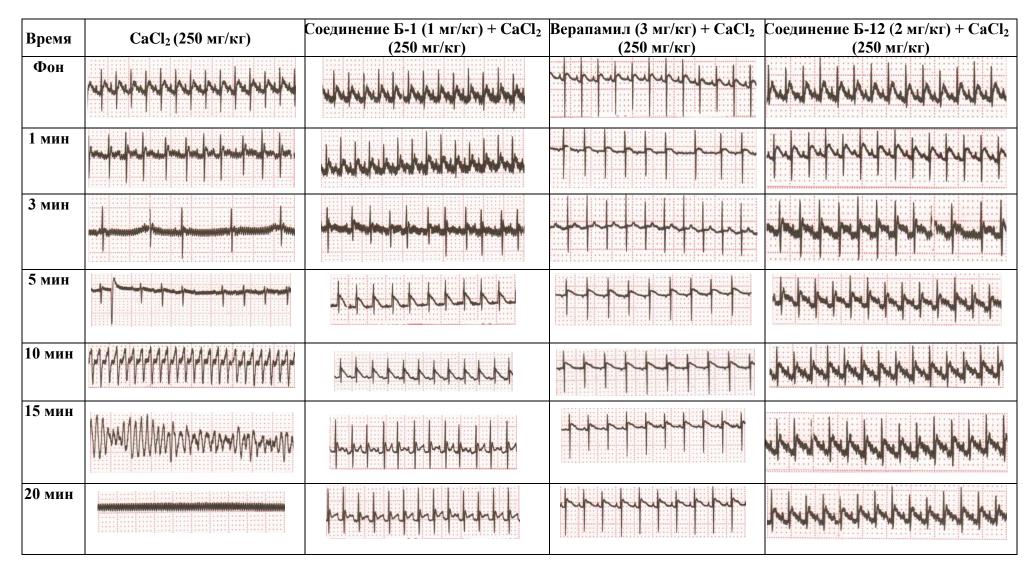


Рис. 6: Влияние соединения Б-1 (1 мг/кг), соединения Б-12 (2 мг/кг) и Верапамила (3 мг/кг) на изменения ЭКГ после в/в введения CaCl₂ в дозе 250 мг/кг.

Таблица 11 – Эффективность антиаритмической активности отобранных соединений на модели хлоридкальциевой аритмии

Шифр соединения	ЛД50, мг/кг	Дозы, мг/кг	Количество животных	Процент выживших животных, %
Б-1	96±3,8	2	5	80
	,	1	5	100
Б-8	310±6,56	5	5	30
D-0		2	5	70
Б-12	230±13,9	2	5	100
D-12	230±13,9	0,5	5	60
Ророномин	97	1	5	100
Верапамил	-	3	5	100
Контроль	-	-	10	3

Результаты экспериментальных исследований показали высокую антиаритмическую активность на хлоридкальциевой модели аритмии для отобранных при скрининге наиболее активных соединений. По эффективности антиаритмического действия производные N, N – дизамещенных аминоамидов оказались сравнимы с кальциевым антагонистом – верапамилом.

4.4. Исследование антиаритмической активности отобранных соединений на хлоридбариевой модели нарушений сердечного ритма

В основе нарушений сердечного ритма, вызванных бария хлоридом, лежит блокада трансмембранных потенциалзависимых каналов. Внутривенное введение хлорида бария в дозе 25 мг/кг наркотизированным крысам (уретан 1300 мг/кг, в/б) вызывает блокаду потенциалзависимых трансмембранных каналов, которая проявляется в виде тахиаритмии, желудочковой экстрасистолии и фибрилляции желудочков.

Латентный период развития аритмии на данной модели составил 10-15 секунд после введения хлорида бария, и, по данным ЭКГ, нарушения сердечного ритма отмечали на протяжении 47±5,2 минут. Затем наблюдали восстановление синусового ритма или в 85% случаев гибель животных. На рисунке 7A представлена типичная ЭКГ.

Исследования проведены на 55 крысах Wistar (самцы и самки, масса тела 180-240 г.). Антиаритмические свойства соединений и референс-препарата — амиодарона оценивали по среднеэффективной дозе (ЭД₅₀) и по величине антиаритмического индекса (ЛД₅₀/ЭД₅₀).

Результаты экспериментальных исследований показали, что наиболее выраженной антиаритмической активностью на хлоридбариевой аритмии обладает соединение Б-12, имеющее значения ЭД $_{50}$ - 0,72 мг/кг, и превышает АИ амиодарона в 3,7 раз, что свидетельствует о его высокой эффективности.

Таблица 12 – Эффективность антиаритмического действия отобранных соединений и амиодарона на хлоридбариевой модели аритмии

Шифр соединения	ЛД ₅₀ , мг/кг	Дозы, мг/кг	Количество животных	Процент выживших животных, %	ЭД ₅₀ , мг/кг	АИ ЛД ₅₀ /ЭД ₅₀
Б-1	96	4 2 1	5 5 5	100 100 50	0,82	117
Б-8	310	5 2	5 5	30 70	2,7	114
Б-12	230	2 0,5	5 5	100 60	0,72	319
Амиодарон	430	1 3	5 5	15 90	5,0	86
Контроль	-	-	10	3	-	-

Анализ результатов проведенных экспериментальных исследований по поиску антиаритмических средств среди соединений класса N, N – дизамещенных аминоамидов показал, что выявленные и отобранные при скрининговом исследовании наиболее активные соединения в диапазоне испытанных доз обладают антиаритмическими свойствами, доказанными на хлоридкальциевой и хлоридбариевой и ранее показанными на аконитиновой моделях аритмий.

Наиболее активные соединения по эффективности антиаритмического действия не уступают известным антиаритмическим препаратам. Высокая активность наблюдается при их внутрижелудочном и внутривенном способах введения, что свидетельствует о перспективности разработки соответствующих лекарственных форм.

Результаты, представленные в данной главе, изложены в следующих публикациях:

- 1. Калдыркаева О. С., Арзамасцев Е. В. Поиск антиаритмических средств среди производных N, N дизамещенных аминоамидов. Тезисы V Евразийский конгресс кардиологов. Евразийский кардиологический журнал №3, 2017, с. 129 [Электронный ресурс].
- 2. Калдыркаева О.С., Арзамасцев Е.В., Терехова О.А., Афанасьева Е.Ю. Антиаритмическая активность функционально N-замещенных аминоамидов. Сборник материалов XXIV Российский национальный конгресса «Человек и лекарство». Тезисы докладов/Главный редактор Чучалин А.Г.-М.: Видокс, 2017, с. 98.
- 3. Борисова Е.Я., Хоанг Дык Куанг, Калдыркаева О.С., Арзамасцев Е.В., Борисова Н.Ю., Асилова Н.Ю., Терехова О.А., Афанасьева Е.Ю., Левицкая Е.Л. N, N-бис(2-(диалкиламино)этил)карбоксамиды и их дигидрохлориды, проявляющие антиаритмическую активность, и фармацевтические композиции на их основе. Патент №2645080 (RU) от 15 февраля 2018 г.
- 4. Борисова Н.Ю., Афанасьева Е.Ю., Борисова Е.Я., Арзамасцев Е.В., Крылов А.В., Лесников В.К., Виноградова Е.Е., Виноградов Д.Б., Асилова Н.Ю., Калдыркаева О.С., Терехова О.А., Левицкая Е.Л., Кудрявцева Э.В., Полуэктова В.П., Гайсинюк Т.В., Амбарцумян А.Ш. N-(2-(2-(диалкиламино)этокси)этил)карбоксамиды и их гидрохлориды, обладающие антиаритмической активностью, и фармацевтические композиции на их основе. Патент № RU2712638C1 от 30 января 2020 г.
- 5. Калдыркаева О.С., Арзамасцев Е.В., Терехова О.А., Афанасьева Е.Ю., Левицкая Е.Л., Кудрявцева Э.В., Полуэктова В.П., Гайсинюк Т.В., Борисов, Е.Я., Борисова Н.Ю., Асилова Н.Ю., Зубин Е.М., Крылов А.В. Антиаримические свойства и токсикологическая характеристика N-(2-(2-(диалкиламино)этокси)этил)карбоксамидов. Кардиологический вестник. 2022; 17(2):47-54.

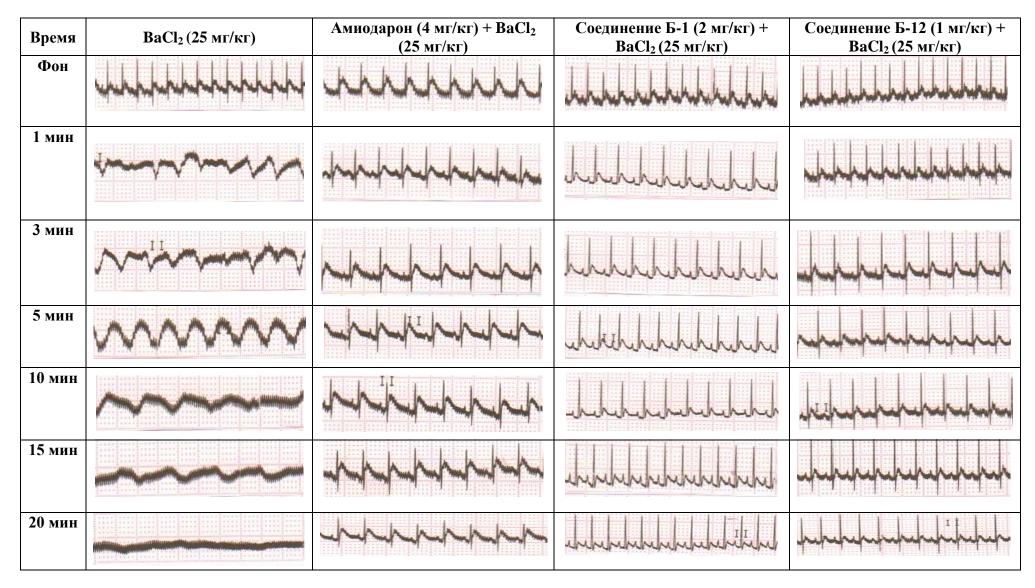


Рис. 7: Влияние соединения Б-1 (2 мг/кг), соединения Б-12 (1 мг/кг), Амиодарона (4 мг/кг) на изменения показателей ЭКГ у крысы после в/в введения BaCl₂ в дозе 25 мг/кг.

ГЛАВА 5. ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НАИБОЛЕЕ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

В связи с перспективностью проведения дальнейших исследований для разработки лекарственных средств на основе отобранных при скрининге наиболее активных соединений представляло интерес изучение их фармакологических свойств и исследование влияния на различные системы организма в эксперименте.

5.1. Изучение влияния наиболее активных соединений на центральную нервную систему

5.1.1. Оценка влияние соединений на длительность этанолового и уретанового сна

Экспериментальные исследования проведены на 40 мышах линии Balb/с (самцы, масса тела 18-22 г.), разделенные на 4 группы, по 10 животных в каждой. Изучаемые соединения вводили в/б в дозе 1/10 от ЛД₅₀, затем через 30 минут мышам вводили уретан (1500 мг/кг, в/б) или этанол 40% (14 мл/кг), оказывающих влияние на тормозные процессы в ЦНС и вызывающие наркотический сон. Контрольной группе животных вводили только вещества - анализаторы.

Продолжительность периода бокового положения (сон, наркоз) являлась основным показателем характера действия использованных анализаторов. Моментом восстановления у животных рефлекса переворачивания (трехразовая проба) регистрировали окончание бокового положения. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 13.

Анализ экспериментальных данных показал, что под влиянием соединения Б-8 в испытанных дозах достоверно увеличивается продолжительность наркотического сна, вызванного уретаном (1500 мг/кг) и этанолом 40% (14 мл/кг). Для соединения Б-12 установлено сокращение продолжительности

наркотического сна, по сравнению с контролем (p < 0.05), вызванного указанными анализаторами.

Таблица 13 – Оценка влияние изучаемых соединений на продолжительность наркотического сна, вызванного уретаном и этанолом (мин)

Шифр соединения	Поэт (ма/ка)	Анализаторы			
шифр соеоинения	Дозы (мг/кг)	Уретан 1500 мг/кг	Этанол 14 мл/кг 40%		
Б-1	9,6	124±6,0	90±3,2		
Б-8	31	225±10,5*	125±5,4*		
Б-12	23	98±7,9*	30,3±3,0*		
Контроль	-	140,6±9,4	77,4±13,0		

^{*} здесь и в последующих таблицах обозначает статистически значимые различия с контролем при р < 0,05

5.1.2. Оценка влияния соединений на продолжительность гиперкинезов и противосудорожной активности

Исследование противосудорожной активности анаиболее активных соединений проведено при назначении судорожных ядов – *ареколина* (10 мг/кг) (действие на М-холинорецепторы мезенцифалического отдела ретикулярной фармации) и гармина (25 мг/кг) (действие на средний мозг и кору больших полушарий).

Исследования проведены на 40 мышах линии Balb/c (самцы, масса тела $18-22\,$ г.). Анализаторы вводили подкожно в виде 0,1% растворов. Группе контроля вводили только анализаторы в указанных выше дозах. Исследуемые соединения вводили в/б в дозе $1/10\,$ ЛД₅₀ за 30 минут до введения анализаторов. Результаты экспериментов отражены в таблице 14.

Таблица 14 — Оценка влияния исследуемых соединений на длительность гиперкинезов, вызванных ареколином и гармином

Illudo acadunama	Порта (ма/ма)	Анализаторы			
Шифр соединения	Дозы (мг/кг)	Ареколин 25 мг/кг	Гармин 10 мг/кг		
Б-1	9,6	10,0±0,5*	14,6±0,51		
Б-8	31	10,2±0,7*	11,4±1,3*		
Б-12	23	13,8±1,2*	12,4±0,6*		
Контроль	-	19,4±0,4	15,0±0,32		

Анализ результатов проведенных исследований показал, что все соединения в испытанных дозах уменьшают чувствительность М-холинорецепторов ЦНС к ареколину, под влиянием соединений Б-8 и Б-12 сокращается длительность гарминовых гиперкинезов (Рисунок 8, Рисунок 9).

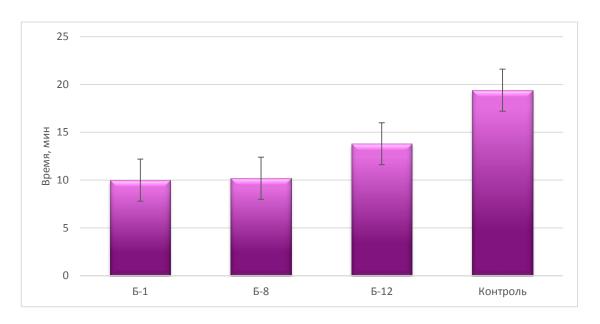


Рисунок 8 – Оценка влияния изучаемых соединений на продолжительность гиперкинезов, вызванных ареколином (мин).

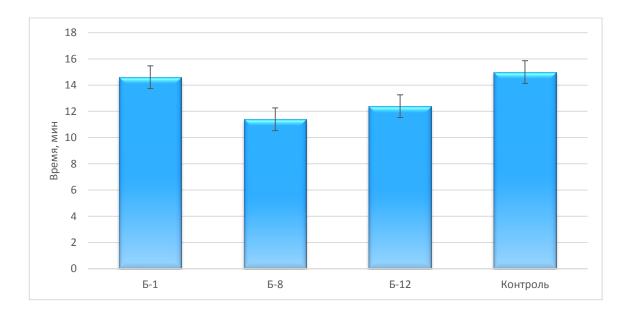


Рисунок 9 – Оценка влияния изучаемых соединений на продолжительность гиперкинезов, вызванных гармином (мин).

5.1.3. Оценка влияния соединений на продолжительность стереотипии у крыс, вызванной апоморфином

приводит Установлено, ЧТО апоморфина (2 $M\Gamma/K\Gamma$) назначение возникновению стереотипного поведения животных (непостоянное случаи зевательных движений). В таблице 15 отражены принюхивание, результаты проведенных исследований.

Таблица 15 – Оценка влияния соединений на продолжительность стереотипного поведения у крыс Wistar

Шифр	Дозы	Продолжительность
соединения	(мг/кг)	стереотипии, мин
Б-1	9,6	28,6±5,24
Б-8	31	32,3±4,15
Б-12	23	29,3±4,28
Контроль	_	31,3±5,14

Результаты проведенных исследований показали, что в/б введение соединений Б-1, Б-8 и Б-12 в дозах 1/10 от ЛД₅₀ не влияет на продолжительность апоморфиновой стереотипии у животных, что свидетельствует об отсутствии влияния наиболее активных соединений на центральные звенья дофаминергической системы.

5.1.4. Оценка влияния наиболее активных соединений на эффекты никотина

Никотин в больших дозах (7 мг/кг, в/б) способен усиливать нервномышечную передачу и приводить к возникновению тремора и судорог у лабораторных животных, что позволяет исследовать влияние изучаемых соединений на эффекты N-холиномиметика.

В таблице 16 отражены результаты проведенных исследований. Изучаемые вещества, за исключением соединения Б-1, не оказывают существенного влияния, по сравнению с контролем, на продолжительность тремора, вызванного подкожным введением никотина в дозе 7 мг/кг. Под влиянием соединения Б-1 наблюдается увеличение более чем в 3 раза, по сравнению с контролем, продолжительности никотинового тремора. Следует отметить, в опытных группах

животных и у мышей контрольной группы была зарегистрирована гибель 20-30% животных.

Таблица 16 - Влияние исследуемых соединений на продолжительность тремора у мышей линии Balb/c, вызванного введением никотина в дозе 7 мг/кг

Шифр	Дозы	Длительность
соединения	(мг/кг)	тремора, мин
Б-1	9,6	28,6±1,54*
Б-8	31	6,37±1,08
Б-12	23	5,36±0,72
Контроль	-	6,40±2,14

5.2. Исследование анальгетических свойств отобранных соединений

Исследования по изучению анальгетических свойств отобранных соединений проводили методом определения порога болевой чувствительности Рэндалл-Селитто на 40 крысах Wistar по сравнению с референс-препаратом анальгином на приборе Ugo Basile (Италия).

Результаты проведенных исследований показали, что изучаемые вещества в испытанных дозах обладают умеренными анальгетическими свойствами, менее выраженными в сравнении с анальгином (Таблица 17).

Таблица 17 — Оценка влияния изучаемых соединений на порог болевой чувствительности

Шифр соединения	Дозы (мг/кг)	Болевой порог
Б-1	9,6	13,3±1,04
Б-8	31	12,8±1,04
Б-12	23	14,2±2,81
Контроль	-	10,6±1,69
Анальгин	100	22,7±1,04*

5.3. Изучение влияние отобранных соединений на функцию почек

Изучение влияния потенциального лекарственного средства на функциональное состояние нефрона имеет большое значение в экспериментальной фармакологии. В основе изучения почечных эффектов лежит

методика, разработанная Е.В. Берхиным [10]. Исследования проведены на 40 крысах Wistar (самцы, масса тела 180-220 г.), разделенных на 4 группы, по 10 животных в каждой. При проведении эксперимента животные находились в специально оборудованных метаболических индивидуальных клетках, предназначенных для сбора мочи. Животные предварительно проходили период адаптации в клетках на протяжении 5 дней. Перед проведением эксперимента осуществляли серию контрольных определений, позволяющих выявить исходные показатели функциональных параметров нефрона. Отбраковывались животные, средний диурез которых составлял менее 2 мл и более 10 мл.

Учет количества мочи в эксперименте проводили ежечасно в течение 5 часов после водной нагрузки.

Анализ результатов проведенных исследований показал, что у животных группы контроля после водной нагрузки мочеотделение происходило однотипно: в первые 2 часа оно было максимальным и составляло около 85% от введенного количества воды, затем уменьшалось и заканчивалось к 4 часу. К 5-му часу количество выделенной мочи немного увеличивалось и составляло около 11%. Суммарный диурез за 5 часов наблюдения был в среднем $104,3\% \pm 7,79\%$ к общему объему введенной жидкости (Рисунок 10).

Изучаемые соединения Б-1, Б-8 и Б-12 в испытанных дозах не оказывали существенного влияния, по сравнению с контролем, на показатели диуреза у крыс. Влияние соединения Б-1 показало статистически достоверное (р < 0,05) торможение диуреза в первый час после нагрузки, в последующие 2 часа отмечалось его компенсаторное увеличение. Суммарный диурез за первые два часа проведения пробы у подопытных животных составил 86% от введенного количества воды и не отличался от контроля.

Под влиянием соединения Б-8 отмечалось увеличение диуреза только в первый час после нагрузки, и не влияло на показатели суммарного диуреза.

Назначение соединения Б-12 приводило к компенсаторному увеличению диуреза на 3-й час проведения пробы, что не оказало влияние на показатели суммарного диуреза.

Таким образом, все соединения в условиях водной нагрузки в испытанных дозах не оказывали существенного влияния на показатели суммарного 5-ти часового диуреза по сравнению с контролем.

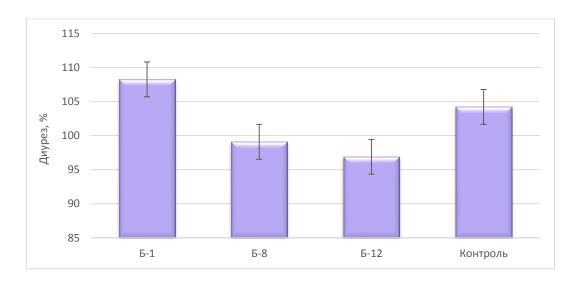


Рисунок 10 – Показатели суммарного диуреза соединений Б-1, Б-8 и Б-12.

5.4. Оценка влияния отобранных соединений на артериальное давление

Выбранный нами метод исследования основан на неинвазивном измерении артериального давления и других параметров сердечно-сосудистой системы в хвостовой артерии неанестезированных крыс при помощи окклюзионной хвостовой манжеты [110, 111, 172]. При помощи датчика перепада давления производили оценку следующих показателей: частота сердечных сокращений, диастолическое и систолическое артериальное давление, среднее артериальное давление на приборе Coda Kent Scientific (США).

Исследования были проведены на 40 неанестезированных крысах Wistar (масса тела 200-250 г.), разделенных на 4 группы для каждого соединения по 10 крыс в каждой. Группе контроля вводили в/б физиологический раствор NaCl,

изучаемые соединения вводили за 10 минут до проведения эксперимента в дозах 1/10 от ЛД₅₀ (для мышей при в/б введении).

Предварительно оценивали фоновые показатели. Подавляющее большинство крыс Wistar показало несколько спонтанную повышенную частоту сердечных сокращений и уровень артериального давления. В таблице 18 приведены данные, отражающие спектр изменения физиологических показателей у крыс через 10 мин после в/б введения наиболее активных соединений.

Таблица 18 - Влияние исследуемых соединений на физиологические показатели артериального давления крыс Wistar

Дараметры	ЧСС		АД		АД		АД	
	$(y\partial \cdot$	в мин.)	Систо	Систолическое		Диастолическое		реднее
			(мм. ј	рт. ст.)	(мм. ј	рт. ст.)	(мм. рт. ст.)	
Соединения,	Исх.	После	Исх.	После	Исх.	После	Исх.	После
дозы, мг/кг.		введения		введения		введения		введения
Б-1	319±7	333±15	186±4	180±3	165±4	162±5	175±6	160±11
(9,6 мг/кг)	319±7	333±13	180±4	160±3	103±4	102±3	1/3±0	100±11
Б-8	357±4	351±7	185±3	189±6	170±7	161±4	174±4	173±3
(31 мг/кг)	33/±4	331±7	163±3	189±0	1/0±/	101≖4	1/4=4	1/3±3
Б-12	354±8	325±10	180±6	183±7	179±4	167±6	176±7	179±6
(23 мг/кг)	<i>33</i> 4±8	323±10	100±0	105±7	1 / プ エ 4	10/±0	1/0±/	1/940
Контроль	346±7	356±14	187±5	188±5	160±7	165±8	167±4	166±7

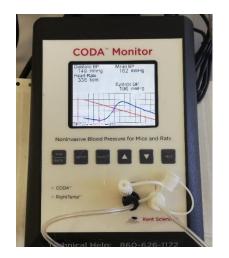




Рисунок 11 – Исследование физиологических показателей артериального давления крыс Wistar на мониторе CODA (Kent Scientific, США).

Таким образом, результаты проведенных экспериментальных исследований показали, что под влиянием изучаемых наиболее активных соединений в испытуемых дозах уровень артериального давления у животных практически не изменялся, гипо и гипертензивных эффектов исследуемых препаратов не выявлено.

Также установлено, что введение наиболее активных соединений с условными шифрами Б-1 (2 мг/кг), Б-8 (2,5 мг/кг) и Б-12 (1,3 мг/кг) в предполагаемых терапевтических дозах не оказывает влияние на параметры ЭКГ (Рисунок 12).

Результаты, представленные в данной главе, изложены в следующих публикациях:

- 1. Иванова А.И., Борисова Н.Ю., Борисова Е.Я., Федорова Г.А., Васильева Г.А., Афанасьева Е.Ю., Арзамасцев Е.В., Самарова О.С. Синтез и биологическая активность N-(2-аминоэтил)-N-(2-ацилоксилокексил)карбоксамидов циклогексанового ряда. Известия Академии наук. Серия химическая, №1, 2015, с. 92-98.
- 2. Калдыркаева О.С., Арзамасцев Е.В., Борисова Е.Я., Хоанг Дык Коанг, Борисова Н.Ю. Фармакологические свойства и токсикологическая характеристика функционально N-замещенных аминоамидов. Сборник материалов XXIII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». Тезисы докладов/Главный редактор Чучалин А.Г.-М.: Видокс, 2016, с. 180.
- 3. Хоанг Д.К., Борисова Е.Я., Борисова Н.Ю., Асилова Н.Ю., Калдыркаева О.С., Арзамасцев Е.В., Терехова О.А., Афанасьева Е.Ю., Левицкая Е.Л. Синтез и биологическая активность N-(2-аминоэтил)-N-(2-гидрокси-2-фенилэтил)карбоксамидов арилалифатического ряда. Известия Академии наук. Серия химическая, №1, 2018, с.131-136.

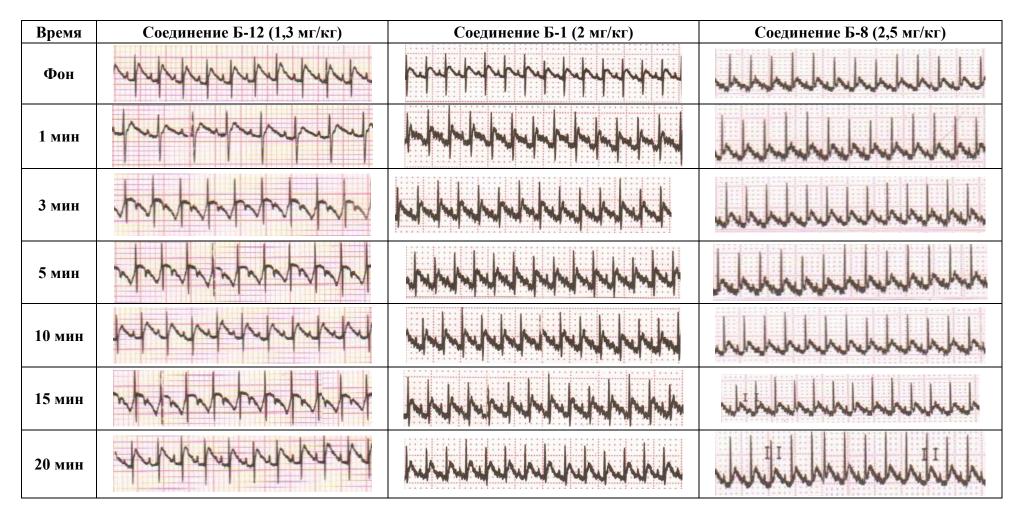


Рис. 12: Влияние отобранных наиболее активных соединений Б-1, Б-8 и Б-12 на параметры ЭКГ у крысы после в/в введения в рекомендуемых терапевтических дозах

ГЛАВА 6. ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НАИБОЛЕЕ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Для успешного внедрения в клиническую практику новых лекарственных препаратов необходимо наличие их доказанных в соответствии с современными требованиями данных не только высокой фармакологической эффективности, но и их безопасности.

Доказанное результатами проведенных токсикологических испытаний в экспериментах на лабораторных животных отсутствие токсического действия и нежелательных побочных эффектов является надежным обоснованием перспектив их дальнейшей разработки, безопасности проведения клинических испытаний и последующего внедрения в медицинскую практику.

Главе 3 данной работы была проведена и описана первичная соединений токсикологическая оценка впервые синтезированных класса N, N – дизамещенных аминоамидов при однократном внутрибрюшинном введении мышами линии Balb/c. Было представлено описание общетоксического действия веществ, установлена изучаемых зависимость токсичности химической структуры соединений, а также проведен выбор диапазона доз для скрининговых исследований и более детального изучения антиаритмической активности.

Для обоснования и оценки целесообразности разработки на основе отобранных в скрининговых исследованиях наиболее активных соединений N, N — дизамещенных аминоамидов лекарственных препаратов для лечения нарушений сердечного ритма были дополнительно проведены следующие исследования: изучение токсичности при различных способах однократного введения мелким лабораторным животным, исследование кумулятивных свойств, изучение некоторых параметров токсикокинетики, субхроническая токсичность

наиболее активного соединения Б-12, исследование его мутагенности, изучение репротоксичности, иммунотоксичности и аллергезирующих свойств.

6.1. Оценка особенностей видовой и половой чувствительности при однократном введении лабораторным животным

Оценка особенностей видовой и половой чувствительности соединений с наиболее выраженными антиаритмические свойствами проведена на двух видах лабораторных животных: 180 мышах линии Balb/c (самцы и самки, масса тела 18-22 г.) и 105 крысах Wistar (самцы и самки, масса тела 180-220 г.) при внутрибрюшинном (в/б) и внутримышечном (в/м) однократном способах введения.

Исследуемые соединения вводили лабораторным животным в виде свежеприготовленных водных растворов в ранее установленных диапазонах доз. В таблице 19 представлены установленные показатели токсичности наиболее активных соединений у различных видов животных с использованием метода пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксону [137].

Таблица 19 – Параметры токсичности соединений при однократном введении лабораторным животным

Шифр	Параметрыи токсичности, мг/кг								
соединения			Самцы		Самки				
	ЛД10	ЛД ₁₆	$\iint_{50\pm m}$	ЛД ₈₄	ЛД ₁₀	ЛД ₁₆	$\iint \!\! \mathcal{J}_{50\pm m}$	ЛД ₈₄	
			Мыши лин	uu Balb/	′c, в/б				
Б-1	63	71	95±10,4	130	75	83	108±14,8	152	
Б-8	263	275	310±7,7	341	274	288	312±18,9	351	
Б-12	128	149	223±16,4	328	134	158	238±17,9	344	
			Мыши лин	uu Balb/	′с, в/м				
Б-1	78	87	108±14,0	146	93	101	136±12,6	169	
Б-8	281	293	346±13,5	361	292	306	324±23,1	367	
Б-12	147 163 241±23,6 345				157	172	251±23,8	352	
Крысы Wistar, в/б									
Б-1	51	60	83±17,0	118	63	71	95±21,1	139	
Б-8	252	262	293±14,6	327	250	268	298±15,4	340	

Анализ полученных данных показал, что большинство исследуемых соединений являются малотоксичными веществами, при этом наиболее

токсичным из них оказалось соединение Б-1, $\Pi \Pi_{50}$ которого при в/б введении мышам составила $95\pm10,4$ мг/кг. В результате проведенных исследований не выявлено значимых различий в чувствительности животных в зависимости от пола и вида.

6.2. Изучение кумулятивных свойств соединения Б-12

Исследование кумулятивных свойств наиболее активного соединения Б-12 проведено на 70 мышах линии ВАLВ/с (самцы, масса тела 18-20 г.). Метод основан на регистрировании и оценки летальности животных при введении изучаемого вещества в дозах, повышающиеся на 50% каждые 4 дня, начиная с первоначальной дозы $1/10~\rm{J}$ Д₅₀. Первые 4 дня эксперимента животным ежедневно вводили соединение Б-12 в дозе, составляющей $1/10~\rm{ero}~\rm{J}$ Д₅₀ (23 мг/кг), затем доза увеличивается и с 5 по 8 дни составляет 0,15 \rm{J} Д₅₀, с 9 по 12 дни 0,22 \rm{J} Д₅₀ и т.д.

При проведении экспериментов использовали результаты исследований по оценке токсичности при однократном в/б введении соединения Б-12, которые позволили определить параметры токсикометрии: ЛД₁₀= 130 мг/кг, ЛД₁₆ = 152 мг/кг, ЛД₅₀ = 230 ± 13.9 мг/кг, ЛД₈₄ = 330 мг/кг.

Для проведения эксперимента животные были разделены на 7 групп, по 10 мышей в каждой (по числу испытуемых доз и сроков введения изучаемого вещества).

Установлено, что мыши подопытных групп, получавших в течение 16 дней изучаемый препарат в нарастающих дозах, хорошо его переносили, не отмечалось признаков интоксикации. Признаки интоксикации и гибель подопытных животных (2 мыши) были зарегистрированы на 16-й день эксперимента, когда суммарная доза препарата, полученного животными, уже составила 748 мг/кг (3,25 ЛД₅₀). В таблице 20 представлены суммарные дозы, полученные животными различных групп, и показатели их летальности.

При этом 2 мыши погибли на 17 день эксперимента при получении суммарной дозы препарата в 1208 мг/кг, по 7 и 9 животных погибли соответственно на 22 и 23 дни эксперимента, при получении суммарных доз препарата к этим срокам 1554 и 1727 мг/кг.

Таблица 20 - Суммарные дозы и показатели летальности мышей-самцов линии Balb/с при изучении кумуляции соединения Б-12

Группы	Испыт	Испытуемые дозы,		ууемые суммарные дозы,	Гибель животных	
животных	при в	введении в	получає	гмые животными за весь	числитель-число	
(дни	тече	ние 4 дней		эксперимент	погибших,	
введения)	мг/кг	доли от	мг/кг	доли от ЛД50	знаменатель — число	
		$Л\! \! \! \! \! \! \! \! \! \! \! \! \! \! \! \! \! \! \! $			животных в группе	
1-4	23	0,10	92	0,40	0/70	
5-8	35	0,15	232	1,01	0/60	
9-12	51	0,22	436	1,89	0/50	
13-16	78	0,34	748	3,25	2/40	
17-20	115	0,50	1208	5,25	3/30	
21-24	173	0,75	1900 8,26		16/20	
25-28	258	1,12	2932	12,74	-	

При статистической обработке данных полученные показатели токсикометрии соединения Б-12 при его длительном введении в повышающихся дозах отражены в таблице 21.

Таблица 21 - Показатели токсичности соединения Б-12 при введении мышам линии Balb/с в повышающихся дозах

Показатели токсичности, мг/кг				
JJJ_{10} JJJ_{16} $JJJ_{50\pm m}$ JJJ_{84}				
1220	1345	1554	1750	

Коэффициент кумуляции *Кк* составил 6,75. Анализ полученных данных свидетельствует о том, что при в/б введении мышам-самцам линии Balb/c в больших дозах соединение Б-12 не обладает кумулятивными свойствами.

6.3. Исследование некоторых параметров токсикокинетики наиболее активных соединений

Исследование первичной фармакокинетики наиболее активных соединений Б-1, Б-8, Б-12 было проведено методом «элиминации токсического эффекта» [18].

Исследования проведены на 300 мышах-самцах линии Balb/с (масса тела 18-22 г.). Оценку токсического эффекта проводили по уменьшению процента погибших животных после введения первых доз (Д₁), равных для соединений Б-1 - 45 мг/кг, Б-8 - 150 мг/кг, Б-12 - 115 мг/кг, и последующего введения вторых доз (Д₂), которые составляли 115, 218 и 245 мг/кг соответственно. Нулевой интервал соответствовал одновременному введению доз Д₁ и Д₂.

Интервалы между введением первой и второй дозы составляли 5, 20, 40, 60, 90, 120, 180 мин и 1 сутки. После введения дозы Д₂ регистрировали время и общую летальность животных, применяли метод пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксону для перевода процента смертности животных в соответствующие дозы исследуемых соединений, затем описывали зависимость «доза-эффект» следующими уравнениями:

$$P = A \times lg \mathcal{A} - B \tag{6}$$

где Р – смертность (в пробитах),

Д – доза соединений (мг/кг),

А и В – величины, вычисленные для данных веществ из анализа наклона прямой «доза-эффект»

для соединения Б-1 $P = 7,45 \times lg \mu - 9,75$

для соединения Б-8 $P = 23,42 \times lg \text{Д} - 53,33$

для соединения Б-12 $P = 8,63 \times lg \Pi - 15,37$

На основании снижения гибели мышей с увеличением интервала времени между введением 1-й и 2-й доз за счет метаболизма и экскреции вещества были определены их некоторые параметры токсикокинетики: период полувыведения из

организма — $T_{1/2}$, а также величины остаточных доз через определенные промежутки времени после введения. Результаты исследований отражены в таблице 22. Учитывалась также продолжительность жизни погибших мышей в опытных группах животных.

Таблица 22 – Элиминация токсических эффектов наиболее активных соединений

Интервал, мин	Домг	/кг	Кол-во животных	Гибель, %	Де, мг/кг	Эффективная остаточная доза		Де, остаточная Продолжительное		Продолжительность жизни мышей, мин
	\mathcal{I}_{1}	\mathcal{I}_2				M2/K2	%0	Ρ		
	Б-1									
0	45	115	10	90	141	121	268	6,28	11,5±1,23	
5	45	115	10	80	123	103	228	5,84	15,78±0,56	
20	45	115	10	80	123	103	228	5,84	21,12±2,05	
40	45	115	10	70	112	92	204	5,52	35,23±1,32	
60	45	115	10	60	102	82	182	5,25	44,36±1,15	
90	45	115	10	50	95	75	167	5,00	51,03±2,12	
120	45	115	10	30	81	61	136	4,48	63,43±3,54	
180	45	115	10	10	63	43	96	3,72	75,12±1,12	
1 сутки	45	115	10	0	20	0	0	0	-	
-					(Дк)					
					Б-8					
0	150	218	10	100	398	212	141	-	4,5±2,12	
5	150	218	10	80	331	145	97	5,84	12,35±2,32	
20	150	218	10	60	316	130	87	5,25	14,38±1,69	
40	150	218	10	50	309	123	82	5,00	16,56±3,56	
60	150	218	10	40	295	109	73	4,75	22,13±4,32	
90	150	218	10	30	288	102	68	4,48	29,14±2,43	
120	150	218	10	20	281	95	63	4,16	37,57±5,12	
180	150	218	10	10	269	83	55	3,72	44,34±4,61	
1 сутки	150	218	10	0	186	0	0	0	-	
-					(Дк)					
					Б-12					
0	115	245	10	90	316	256	223	6,28	12,45±4,65	
5	115	245	10	90	316	256	223	6,28	15,63±7,48	
20	115	245	10	80	288	228	198	5,84	26,48±5,73	
40	115	245	10	70	263	203	177	5,52	30,25±2,78	
60	115	245	10	60	240	180	157	5,25	34,24±6,49	
90	115	245	10	50	229	169	147	5,00	44,76±6,43	
120	115	245	10	40	214	154	134	4,75	67,65±7,45	
180	115	245	10	20	182	122	106	4,16	135,21±6,78	
1 сутки	115	245	10	0	60	0	0	0	-	
•					(Дк)					

Анализ результатов проведенных исследований с соединениями Б-1, Б-8 и Б-12 свидетельствует о том, что гибель животных с увеличением интервалов между дозами для данных соединений уменьшается, хотя суммарные дозы остаются постоянными (160, 368 и 360 мг/кг соответственно для изучаемых соединений.

На основании анализа данных установлено, что с увеличением интервала времени введения двух доз соединений, достоверно уменьшаются величины остаточных доз. Корреляции могут быть апроксимированы пробит-линейной зависимостью.

Линейную функцию выражали с помощью следующих уравнений:

для соединения Б-1: $Д_e = 6,55-0,75T$;

для соединения Б-8 $Д_e = 6,71-0,53T;$

для соединения Б-12 $Д_e = 5,95$ -0,45T, где $Д_e$ — процент остаточной дозы в пробитах, T — время после введения препарата, часы.

В таблицах 23 – 24 отражены параметры элиминации соединений Б-1, Б-8 и Б-12 из организма мышей для различных уровней остаточных доз ($T_{0.8}$ - $T_{0.2}$).

Таблица 23 – Уровни остаточных доз отобранных соединений

Остаточные дозы	Продолжительность сохранения остаточных доз, часы				
соединений, мг/кг	Б-1	Б-1 Б-8			
$T_{0,8}$	0,94 (0,87±0,51)	1,64 (0,67±0,32)	0,24 (0,18±0,12)		
T _{0,7}	1,37 (1,23±0,94)	2,24 (1,86±0,78)	0,95 (0,76±1,21)		
T _{0,6}	1,73 (1,54±0,43)	2,75 (2,45±1,1)	1,55 (0,89±0,14)		
$T_{0,5}$	2,06 (1,98±0,63)	3,22 (3,01±1,13)	2,11 (1,56±0,87)		
$T_{0,4}$	2,40 (2,02±1,1)	3,69 (3,23±1,06)	2,66 (1,52±1,14)		
$T_{0,2}$	3,18 (2,3±0,54)	4,81 (4,57±3,26)	3,97 (2,12±0,76)		

Проведенные исследования по оценке первичной фармакодинамики отобранных наиболее активных соединений класса N, N — дизамещенных аминоамидов показали, что к 5 часу наблюдения в организме мышей остается

0,2% соединения Б-8, 0,4% соединения Б-12 и лишь 0,1% соединения Б-1 от введенной дозы.

Таблица 24 – Элиминация токсических эффектов отобранных соединений

Время, часы	Элиминация остаточной дозы, %			
	Б-1 Б-8		Б-12	
0,5	11 (9,3±2,51)	38 (33,5±8,6)	9 (7,56±5,82)	
1	22 (17,5±3,08)	59 (49,6±7,0)	18 (14,8±7,87)	
2	58 (48,0±6,46)	79 (65,6±5,67)	45 (38,7±8,65)	
3	91 (87,3±5,32)	89 (82,5±8,47)	58 (51,4±8,93)	
4	99,4 (87,8÷10,4)	91 (9,1±8,68)	88 (79,2±11,74)	
5	99,9 (89,7±8,69)	98 (95,7±6,89)	96 (89,6±9,56)	

6.4. Оценка субхронической токсичности соединения Б-12

Доклиническое изучение субхронической токсичности соединения Б-12 проведено на 60 крысах Wistar (самцы и самки, масса тела 180-200 г.). При изучении субхронической токсичности соединения Б-12 в течение одного месяца на крысах при ежедневном в/б введении исследовали две дозы - 13 мг/кг и 26 мг/кг. Изучаемые дозы в 10 и 20 раз превышали предполагаемую высшую терапевтическую дозу для человека весом 75 кг — 97,5 мг/человека или 1,3 мг/кг для крыс.

Установлено, что в/б введение соединения Б-12 в условиях субхронического эксперимента не влияет на общее состояние и поведение крыс. Животные поедали корм и сохраняли двигательную активность, характерную для нормальных условий. Масса тела животных в опытных и контрольных группах существенно не отличалась. Не выявлено статистически значимых различий в морфологическом составе крови в зависимости от пола животного (Таблица 25, Таблица 26).

Таблица 25 – Морфологический состав крови у крыс-самцов при в/б введении соединения Б-12

Гематологические показатели	Контроль (n=10)	13 мг/кг (n=10)	26 мг/кг (n=10)
	Фоновы	е показатели до с	введения
Эритроциты, 10^{12} /л	7,43±0,39	7,66±0,45	7,35±0,57
Гемоглобин, г/л	142±4	145±5	143±4
Гематокрит,%	38,90±1,88	40,11±2,42	38,15±2,22
Объем эритроцитов, фл	53±3	52±2	52±2
Содержание гемоглобина в эритроците, ПГ	18,8±0,9	18,1±0,9	18,5±0,9
Лейкоциты, $10^9 / \pi$	11,91±1,20	11,28±1,03	10,71±0,89
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	9,36±0,93	8,72±0,79	8,32±0,75
Моноциты-эозинофилы, 10^9 /л	0,09±0,01	0,10±0,04	0,09±0,02
Гранулоциты, $10^9 / \mathrm{л}$	3,12±0,43	2,66±0,33	2,58±0,35
Лимфоциты, %	74,6±6,8	74,9±4,5	74,2±6,9
Моноциты/эозинофилы, %	0,6±0,09	0,7±0,09	0,7±0,08
Гранулоциты,%	24,8±2,8	24,4±3,0	25,1±3,1
Тромбоциты, $10^9 / \pi$	663±36	671±41	677±36
Объем тромбоцитов, фл	6,6±0,2	6,4±0,3	6,6±0,4
		1 месяц	
Эритроциты, 10^{12} /л	8,09±0,43	7,90±0,81	8,11±0,63
Гемоглобин, г/л	150±4	147±8	147±7
Гематокрит,%	41,46±2,03	40,97±2,49	40,01±1,87
Объем эритроцитов, фл	50±2	52±4	50±2
Содержание гемоглобина в эритроците, ПГ	17,5±0,6	18,1±1,2	17,9±0,9
Лейкоциты, $10^9 / \pi$	10,64±0,98	10,76±1,76	10,21±0,64
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	8,96±0,61	7,53±0,72	8,62±0,50
Моноциты-эозинофилы, 10^9 /л	0,11±0,09	0,11±0,07	0,10±0,05
Гранулоциты, 10^9 /л	3,17±0,33	2,86±0,24	2,90±0,28
Лимфоциты, %	70,7±6,7	70,0±6,2	73,4±5,7
Моноциты/эозинофилы, %	0,6±0,03	0,7±0,07	0,6±0,08
Гранулоциты,%	28,7±2,9	29,3±3,0	26,0±2,7
Тромбоциты, $10^9 / \pi$	682±36	709±29	690±38
Объем тромбоцитов, фл	6,5±0,4	6,6±0,5	6,5±0,4

Таблица 26 — Морфологический состав крови у крыс-самок при в/б введении соединения Б-12

Гематологические показатели	Контроль (n=10)	13 мг/кг (n=10)	26 мг/кг (n=10)
	Фоновые	ведения	
Эритроциты, 10^{12} /л	7,77±0,70	7,62±0,47	7,75±0,39
Гемоглобин, г/л	145±7	145±7	147±5
Гематокрит,%	40,15±2,53	39,43±1,91	40,23±1,03
Объем эритроцитов, фл	52±2	53±2	52±0
Содержание гемоглобина в эритроците, ПГ	19,1±0,7	18,0±1,1	18,9±0,8
Лейкоциты, 10^9 /л	9,11±0,77	9,41±0,95	9,50±0,71
Лимфоциты, 10^9 /л	7,73±0,54	8,02±0,83	8,30±0,63
Моноциты-эозинофилы, 10^9 /л	0,08±0,01	0,08±0,01	0,10±0,02
Гранулоциты, 10 ⁹ /л	2,50±0,33	2,77±0,39	3,23±0,38
Лимфоциты, %	76,1±6,0	71,0±5,1	73,0±7,0
Моноциты/эозинофилы, %	0,7±0,08	0,7±0,09	1,0±0,2
Гранулоциты,%	23,2±3,0	28,3±3,0	26,0±3,2
Тромбоциты, $10^9 / \pi$	682±47	659±36	707±49
Объем тромбоцитов, фл	6,6±0,4	6,4±0,3	6,4±0,2
		1 месяц	
Эритроциты, 10^{12} /л	$7,68\pm0,40$	8,23±0,81	7,59±0,76
Гемоглобин, г/л	145±6	150±6	146±6
Гематокрит,%	40,92±1,74	41,72±1,22	40,69±2,38
Объем эритроцитов, фл	53±2	54±4	54±2
Содержание гемоглобина в эритроците, ПГ	18,9±0,8	18,2±1,5	19,3±0,9
Лейкоциты, 10^9 /л	10,16±1,00	9,53±0,89	10,32±0,49
Лимфоциты, 10^9 /л	7,59±0,73	7,55±0,61	7,67±0,73
Моноциты-эозинофилы, 10^9 /л	$0,09\pm0,01$	0,09±0,06	0,08±0,07
Гранулоциты, 10 ⁹ /л	2,78±0,28	2,97±0,27	3,13±0,32
Лимфоциты, %	76,8±3,9	70,1±5,0	74,7±6,2
Моноциты/эозинофилы, %	0,7±0,09	3,6±0,4*	3,9±0,4*
Гранулоциты,%	22,5±2,2	26,3±2,1	21,4±2,4
Тромбоциты, $10^9 / \pi$	672±46	679±34	675±35
Объем тромбоцитов, фл	6,7±0,3	6,5±0,3	6,6±0,2

Не отмечено влияния на уровень общего белка в сыворотке крови подопытных животных при в/б введении соединения Б-12 в дозах 13 и 26 мг/кг (Таблица 27).

Таблица 27 – Показатели общего белка (г/л) крови крыс при в/б введении соединения Б-12

Период	Контроль (n=10)	13 мг/кг (n=10)	26 мг/кг (n=10)	
		Самцы		
Фон	65,6±1,05	68,0±1,97	69,4±0,74	
1 месяц	62,9±0,25	65,4±0,54	66,5±0,42	
	Самки			
Фон	75,0±0,86	77,8±1,49	70,8±1,87	
1 месяц	67,0±0,83	73,2±0,74	70,7±1,22	

Показатели уровней мочевины и креатинина в сыворотке крови соответствовали средним величинам и существенно не отличались от исходных данных в начале эксперимента, что свидетельствует об отсутствии повреждающего действия соединения Б-12 на функцию почек (Таблица 28).

Таблица 28 – Показатели мочевины и креатинина в сыворотке крови при в/б введении соединения Б-12

Папиоди	Контроль	Б-12 13 мг/кг	Б-12 26 мг/кг				
Периоды	(n=10)	(n=10)	(n=10)				
	Самцы						
	Моче	вина, ммоль/л					
Фон	9,90±0,34	9,66±0,39	10,0±0,32				
1 месяц	10,9±0,24	9,48±0,24	11,1±0,60				
	Креати	инин, мкмоль/л					
Фон	59,6±1,46	59,1±2,33	63,8±1,12				
1 месяц	66,8±2,59	65,7±1,82	75,7±3,23				
		Самки					
	Моче	вина, ммоль/л					
Фон	12,3±0,42	13,4±0,76	11,6±0,71				
1 месяц	10,8±0,38	13,2±0,95	12,6±0,65				
	Креатинин, мкмоль/л						
Фон	77,0±3,38	85,0±4,26	82,6±5,62				
1 месяц	71,3±2,50	83,8±4,52	78,7±3,70				

Для оценки возможного влияния соединения Б-12 на функцию печени изучали активность ферментов: щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аланин - и аспартатаминотрансфераз (АЛТ и АСТ), уровень общего билирубина в сыворотке крови крыс. Результаты проведенных исследований не выявили существенных отклонений в уровне активности ферментов сыворотки крови и общего билирубина после введения соединения Б-12 (Таблица 29).

Таблица 29 - Активность ферментов печени и содержание общего билирубина в сыворотке крови при введении соединения Б-12

Периоды	Контроль	13 мг/кг	6 мг/кг
Периооо	(n=10)	(n=10)	(n=10)
		Самцы	
	Общий би	лирубин, мкмоль/л	
Фон	$9,17\pm0,76$	7,71±0,37	8,51±0,35
1 месяц	8,73±0,69	9,0±0,46	9,2±0,47
	Щелочна	я фосфатаза, ед/л	
Фон	969,0±37,0	981,3±54,7	958,6±54,8
1 месяц	871,8±41,1	976,1±56,9	895,5±41,8
_	Лактатде	гидрогеназа, ед/л	
Фон	737,4±85,7	741,2±74,5	771,2±50,5
1 месяц	$1014\pm68,7$	849,4±85,0	924,2±46,8
_	Аспартатамі	инотрансфераза, ед/л	
Фон	92,8±4,89	108,3±2,23	111,8±2,76
1 месяц	107,2±2,30	111,9±5,38	112,3±3,59
	Аланинами	нотрансфераза, ед/л	
Фон	55,3±1,37	61,5±3,50	63,1±1,78
		Самки	
	Общий би	лирубин, мкмоль/л	
Фон	8,58±0,44	10,6±0,71	8,92±1,00
1 месяц	13,0±0,44	11,8±1,68	8,79±0,95
	Щелочна	я фосфатаза, ед/л	
Фон	639,0±50,7	640,1±51,4	629,6±38,5
1 месяц	720,0±45,6	678,5±66,4	706,0±71,9
	Лактатде	гидрогеназа, ед/л	
Фон	735,2±94,3	895,9±80,0	730,6±67,5
1 месяц	646,9±28,6	716,2±42,1	746,0±72,4
·	Аспартатамі	инотрансфераза, ед/л	
Фон	115,8±3,99	116,6±4,54	111,4±6,29
1 месяц	100,8±2,84	111,0±10,5	108,5±3,04
1		нотрансфераза, ед/л	
Фон	62,2±1,30	58,7±2,20	60,6±3,18
1 месяц	59,2±2,05	57,6±3,47	61,2±3,17

Для оценки возможного влияния отобранного наиболее активного соединения Б-12 на углеводный обмен определяли содержание глюкозы в сыворотке крыс. Результаты проведенных исследований не показали значимых изменений уровня глюкозы у крыс обоего пола в условиях субхронического эксперимента по сравнению с контрольными животными и с исходными параметрами (Таблица 30).

Таблица 30 – Уровень глюкозы (ммоль/л) в сыворотке крови крыс при в/б введении соединения Б-12

Период	Контроль (n=10)	13 мг/кг (n=10)	26 мг/кг (n=10)		
		Самцы			
Фон	9,81±0,22	9,56±0,39	10,3±0,25		
1 месяц	10,4±0,31	9,64±0,39	9,81±0,44		
	Самки				
Фон	10,2±0,33	9,88±0,26	10,3±0,50		
1 месяц	9,19±0,24	8,69±0,25	9,25±0,34		

Влияние соединения Б-12 на липидный обмен оценивали по содержанию общего холестерина и триглицеридов в крови лабораторных животных. Полученные результаты не выявили существенных изменений в показателях по сравнению с исходными и контрольными данными (Таблица 31).

Таблица 31 - Показатели липидного обмена у крыс при субхроническом в/б введении соединения Б-12

Периоды	Контроль (n=10)	13 мг/кг (n=10)	26 мг/кг (n=10)			
	Самцы					
	Общий хол	естерин, ммоль/л				
Фон	2,03±0,05	2,07±0,10	2,15±0,08			
1 месяц	1,94±0,06	1,96±0,05	1,98±0,06			
	Триглице	ериды, ммоль/л				
Фон	1,26±0,09	1,09±0,12	1,45±0,20			
1 месяц	1,09±0,21	$0,88\pm0,08$	1,18±0,18			
		Самки				
	Общий хол	естерин, ммоль/л				
Фон	2,06±0,10	2,25±0,12	2,05±0,11			
1 месяц	2,74±0,07	2,34±0,20	2,24±0,11			
	Триглицериды, ммоль/л					
Фон	1,14±0,10	1,34±0,17	1,16±0,13			
1 месяц	1,25±0,15	0,90±0,10	1,70±0,29			

Результаты проведенных исследований показали, что при ежедневном в/б введении соединения Б-12 на протяжении месячного эксперимента в дозах 13 и 26 мг/кг (10- и 20-кратные предполагаемые высшие суточные дозы для человека) не выявлено существенно значимого влияния на поведение и общее состояние и гематологические показатели крыс.

6.5. Исследование эмбриотоксичности и тератогенности соединения Б-12

В группах беременных самок, получавших исследуемое соединение Б-12 с 1 по 19 день гестации в дозах 13 и 26 мг/кг, показатели динамики прибавки массы тела не отличались от соответствующих данных группы контроля (Таблица 32).

Таблица 32 - Изменение массы тела беременных крыс (% к исходной)

Группа животных	Кол-во животных	1 неделя	2 неделя	3 неделя
Контроль	22	111,3±0,7	125,3±1,0	143,4±1,2
Б-12 13 мг/кг	22	110,1±0,8	123,9±0,9	148,7±1,0
Б-12 26 мг/кг	22	113,6±1,2	127,0±1,1	150,3±1,1

Показатели эмбриотоксичности у беременных крыс, получавших соединение Б-12 в двух изучаемых дозах, статистически достоверно не отличались от соответствующих показателей контрольной группы животных (Таблица 33).

Показатели предимплантационной и постимплантационной гибели в опытных группах беременных самок существенно не превышали соответствующие показатели в контрольных группах.

При макроскопическом осмотре и микроанатомическом исследовании (по Вильсону-Дыбану) плодов, подвергавшихся воздействию соединения Б-12 в испытанных дозах 13 и 26 мг/кг в пренатальном периоде, а также в контрольных группах, пороков развития внутренних органов или каких-либо уродств не выявлено (Таблица 34).

Таблица 33 - Показатели эмбриотоксичности после в/б введения соединения Б-12 беременным крысам

Показатели	Контроль	13 мг/кг	26 мг/кг
Количество беременных самок, подвергшихся эвтаназии	12	12	12
Продолжительность беременности,сут	23,4±0,2	23,1±0,2	23,0±0,0
Количество желтых тел	11,0±0,3	9,5±0,5	9,4±0,6
Количество мест имплантации	10,8±0,4	9,4±0,5	9,2±0,5
Количество живых эмбрионов на 1 крысу	10,3±0,4	9,0±0,5	8,6±0,5
Количество мертвых эмбрионов	0	0	0
Количество резорбций	0,4±0,1	0,4±0,1	0,6±0,2
Предимплантационная гибель, %	1,8	1,1	2,1
Постимплантационная гибель, %	4,6	4,3	6,5
Масса плода, г	2,2±0,03	2,2±0,04	2,3±0,04
Кранио-каудальный размер плода, мм	30,6±0,2	30,0±0,3	30,2±0,2

Таблица 34 — Отклонения в развитии плодов на 20-е сутки пренатального периода

Показатели	Группы животных		
Показатели	Контроль	13 мг/кг	26 мг/кг
Внешние гематомы (гематомы в ткани тела)	0	1 (3,3%)	0
Кровоизлияние в брюшную полость	1 (2,8%)	1 (3,3%)	0
Кровоизлияние в перикард	1 (2,8%)	0	1 (3,2%)

Для изучения развития костной системы у эмбрионов, подвергшихся в пренатальном периоде воздействию соединения Б-12 в испытанных дозах 13 и 26 мг/кг, препараты окрашивали ализарином. Результаты исследования показали отсутствие снижения, по сравнению с контролем, числа центров окостенения и замедления оссификации костного скелета. У потомства не выявлено каких-либо пороков развития скелета.

Аналих полученных данных не установил заметного влияния соединения Б-12 в испытуемых дозах на количество родившихся крысят и их смертность в опытной и контрольной группе (Таблица 35).

Таблица 35 – Параметры постнатального развития крысят при введении беременным самкам крыс соединения Б-12

Показатели	Группы животных		
	Контроль	13 мг/кг	26 мг/кг
Количество родившихся крысят на крысу	9,2±0,6	9,1±0,3	9,4±0,4
Постнатальная смертность, %	0	0	0
Масса тела крысят, г:			
при рождении	6,2±0,3	6,6±0,2	6,7±0,2
1-я неделя	16,5±0,9	16,6±0,6	16,7±0,6
2-я неделя	30,9±0,5	28,4±0,7	28,4±0,6
3-я неделя	48,3±1,0	46,0±1,1	46,7±1,4
4-я неделя	80,5±0,9	82,2±1,2	81,3±1,1

Показатели постнатального развития (количество родившихся крысят на одну самку, масса тела и динамика массы тела новорожденных крысят в течение 4-х недель постнатального развития) в экспериментальных и контрольных группах значительно не различались. Развитие потомства на протяжении всего периода наблюдения по другим принятым параметрам (открытие глаз, покрытие шерстью, отлипание ушных раковин, появление резцов, открытие вагины, опускание яичек и др.) происходило без отклонения от характерных сроков для нормального физиологического развития животных этого вида.

Развитие сенсорно-двигательных рефлексов (отрицательный геотаксис, переворачивание на плоскости, избегание обрыва, обонятельная реакция, реакция на акустический стимул, мышечная сила) в течение первого месяца жизни крысят, подвергавшихся в пренатальном периоде воздействию соединения Б-12 в исследуемых дозах, происходило без отклонения от сроков, характерных для нормального физиологического развития крысят.

6.6. Исследование влияния соединения Б-12 на репродуктивную функцию животных

При исследовании плодовитости не выявлено уменьшения беременностей крыс в группах, подвергавшихся воздействию соединения Б-12 и группе беременных самок от самцов, получавших исследуемое соединение по сравнению с контролем (Таблица 36).

Таблица 36 - Параметры плодовитости крыс, получавших соединение Б-12

	Группы животных		
Показатели	Контроль	Б-12 (самцы)	Б-12 (самки)
Количество ссаженных самок	22	22	22
Количество оплодотворенных самок	21	20	20
Количество беременных самок	19	19	18
Индекс плодовитости, %	95,5	90,9	90,9
Индекс беременности, %	90,5	95,0	94,7

На основании полученных данных следует, что в/б введение соединения Б-12 в испытанной дозе не вызывало изменений в таких показателях репродуктивной функции крыс, как количество живых плодов, желтых тел, мест имплантации и количество резорбций. Показатели пред- и постимплантационной гибели в экспериментальных и контрольных группах не отличались.

Таблица 37 - Влияние соединения Б-12 на репродуктивную функцию крыс

Показатели	Контроль	<i>Б-12 (самцы)</i>	<i>Б-12 (самки)</i>
Количество беременных самок	12	12	12
Количество желтых тел	10,8±0,4	10,4±0,3	11,1±0,4
Количество мест имплантации	10,5±0,4	10,0±0,2	10,7±0,6
Количество живых плодов	9,9±0,6	9,3±0,3	10,1±0,5
Количество резорбций	$0,6\pm0,3$	$0,6\pm0,2$	$0,6\pm0,2$
Предимплантационная гибель, %	2,8	3,8	3,6
Постимплантационная гибель, %	5,7	7,0	5,6

Таблица 38 - Показатели постнатального развития крысят

	Группы животных					
Показатели		Б-12	Б-12			
110 kusumesta	Контроль	(вводили	(вводили			
		самцам)	самкам)			
Количество родившихся крысят на 1 самку	$9,4\pm0,4$	$10,4\pm0,4$	11,3±0,4			
Постнатальная смертность, %	0	0	0			
Масса тела новорожденных крысят, г	5,8±0,1	5,9±0,2	5,6±0,1			

В результате проведенных исследований не было выявлено проявлений репротоксичности при в/б введении соединения Б-12 в дозе 13 мг/кг половозрелым крысам Wistar обоего пола. Такие показатели, как длительность беременности и инстинкт материнства у подопытных самок, получавших изучаемое соединение, а также в группе самок, беременных от самцов, подвергавшихся воздействию соединения Б-12, не отличались от аналогичных показателей у животных контрольных групп. Также не установлено увеличения гибели плодов по сравнению с контрольными показателями в постнатальном развитии крысят (Таблица 38).

6.7. Изучение мутагенных свойств отобранных соединений

6.7.1. Оценка мутагенной активности в тесте Эймса

Одной из задач доклинических токсикологических исследований фармакологического вещества является оценка его потенциального мутагенного действия. Учет генных мутаций с применением штамма Salmonella Typhimurium LT-2 дикого типа входит в необходимый минимальный набор испытаний для оценки мутагенности [72]. Наличие мутагенного эффекта учитывают по индукции ими обратных мутаций от ауксотрофности к прототрофности по гистидину.

Мутагенный потенциал анализировали в присутствии/отсутствии метаболической активности (фракции S9 печени). Использовали штаммы TA100 Salmonella Typhimurium для детектирования точечных мутаций и TA98 и TA 1537 для детектирования мутаций в рамке считывания. Результаты проведенных

исследований по оценке мутагенного действия соединений Б-1, Б-8 и Б-12 представлены в таблицах 39-41.

Таблица 39 – Влияние изучаемых соединений на индикаторный штамм бактерий ТА98 в тесте Эймса

Исследуемое	Доза (мкг)					Salmon	ella Ty	yphimu	rium T	A 98			
соединение	на чашку		-S9					+S9					
			Mi	ı	M	M_0/M_k	MA		Mi		M	M_0/M_k	MA
Контроль (ДМСО)	100	25	21	21	22,2		-	27	25	23	24,9		-
2AA	20							1352	1196	1430	1322	53	+
4NQO	0,5	562	592	566	573	26	+						
	1,0	15	18	20	17,5	0,79	-	21	20	23	21,3	0,85	-
	10	15	20	17	17,2	0,77	-	19	20	20	19,7	0,79	-
Б-1	100	11	15	17	14,1	0,63	-	11	12	18	13,3	0,54	-
	1000	8	9	9	8,65	0,39	-	13	11	10	11,2	0,45	-
	5000	4	4	5	4,3	0,19	-	5	7	5	5,6	0,22	-
	1,0	20	26	25	23,5	1,06	-	25	25	19	23,0	0,92	-
	10	20	19	21	20,0	0,90	-	24	24	20	22,6	0,91	-
Б-8	100	24	26	19	23,0	1,04	-	29	24	18	23,6	0,95	-
	1000	27	29	24	26,7	1,20	-	35	18	21	24,6	0,99	-
	5000	18	21	19	19,3	0,87	-	23	24	24	23,7	0,95	-
	1,0	21	24	18	21,0	0,94	-	23	24	29	25,3	1,02	-
	10	20	25	24	23,0	1,03	-	25	27	20	24,0	0,96	-
Б-12	100	26	26	24	25,3	1,14	-	35	35	25	31,6	1,27	-
	1000	21	34	28	27,6	1,24	-	36	25	25	28,6	1,15	-
	5000	29	23	30	27,3	1,23	-	34	26	25	28,3	1,13	-

Условные обозначения и сокращения: Mi — число реверантов на чашку, M — среднее геометрическое, M_0/M_κ — отношение числа ревертантов в опыте к числу ревертантов в контроле, MA — мутагенная активность: «+» - наличие активности, «-» - отсутствие активности. 2AA - 2-аминоантрацен; $\mathcal{L}MCO$ — диметилсульфоксид; 4NQO - 4-нитрохинолина-N-оксид; 9AA — 9- аминоакридин.

Оценку полученных данных проводили по алгоритму, описанному в Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств [52]. При проверке тест-системы установлено, что положительные контроли - 2AA (2-аминоантрацен); 4NQO (N-оксид 4-нитрохинолина); 9AA (9-аминоакридин) вызывают статистически достоверное увеличение количества ревертантов в опытных штаммах.

Таблица 40 – Влияние изучаемых соединений на индикаторный штамм бактерий TA100 в тесте Эймса

Исследуем	Доза				Sc	almonella	а Тур	himuri	um TA .	100			
ое соединение	(мкг) на чашку			-	S9			+S9					
			Mi		M	M_0/M_k	M A		Mi		M	M_0/M_k	MA
Контроль (ДМСО)	100	112	121	130	120,8			130	138	126	131,2		
2AA	20							1344	1064	1362	1249	9,5	+
Азид Na	2,0	121 0	1352	119 6	1251	10	+						
	1,0	101	105	90	98,4	0,81	-	107	101	120	109,0	0,83	-
	10	112	90	95	98,6	0,82	-	125	123	119	122,3	0,93	-
Б-1	100	93	81	84	85,8	0,72	-	96	89	92	92,2	0,70	-
	1000	75	80	80	78,3	0,65	-	148	149	142	146,3	1,11	-
	5000	101	132	126	118,9	0,98	-	4	4	5	4,3	0,03	-
	1,0	85	98	100	94,3	0,78	-	100	121	90	103,6	0,79	-
	10	92	98	96	95,3	0,79	-	102	94	129	108,3	0,83	-
Б-8	100	94	116	102	104,0	0,86	-	92	112	99	101,0	0,77	-
	1000	106	128	86	106,6	0,88	-	93	120	123	112,0	0,85	-
	5000	122	96	107	108,3	0,89	-	121	114	115	116,7	0,88	-
	1,0	123	99	127	116,3	0,96	-	133	102	130	121,7	0,93	-
	10	85	102	122	103,0	0,85	-	117	85	102	101,3	0,77	-
Б-12	100	87	97	131	105,0	0,87	-	99	120	97	105,3	0,80	-
	1000	93	111	107	103,6	0,86	-	83	98	107	96,0	0,73	-
	5000	105	133	106	114,7	0,95	-	96	130	122	116,0	0,88	-

В то же время, наиболее активные вещества Б-1, Б-8 и Б-12, по антиаритмическому действию, и их метаболиты в концентрации от 1,0 до 5000 мкг/чашку не вызывают у индикаторных штаммов Salmonella Typhimurium TA98,

TA100 и TA1537 увеличения количества ревертантов в тесте Эймса, как в присутствии активирующей смеси, так и без нее.

Таблица 41 - Влияние исследуемых соединений на индикаторный штамм бактерий TA1537 в тесте Эймса

Исследуемое соединение	Доза (мкг) на	(мкг) Salmonella Typhimurium TA 1537 на											
	чашку			-5	59						+59		
			Mi		M	M_0/M_k	MA		Mi		M	M_0/M_k	MA
Контроль (ДМСО)	100	12	11	17	13,1			15	18	14	15,6		-
2AA	20							35	33	38		23	+
9AA	100	5621	5249	5361	5408	413	+	0	2	9	356		
	1,0	11	10	12	10,9	0,84	-	18	12	12	13,7	0,88	-
	10	9	10	11	9,97	0,76	-	11	11	13	11,6	0,75	-
Б-1	100	9	8	10	8,96	0,68	-	14	10	11	11,5	0,74	-
	1000	9	9	9	9,00	0,69	-	9	8	8	8,30	0,53	-
	5000	4	5	5	4,64	0,35	-	7	5	5	5,59	0,36	-
	1,0	5	6	6	5,70	0,43	-	10	9	7	8,70	0,56	-
	10	4	5	6	5,00	0,38	-	11	9	6	8,70	0,56	-
Б-8	100	6	4	7	5,70	0,43	-	10	6	7	7,70	0,49	-
	1000	5	6	6	5,70	0,43	-	6	4	5	5,00	0,32	-
	5000	5	5	3	4,30	0,33	-	4	4	6	4,70	0,29	-
	1,0	12	12	12	12,0	0,91	-	12	11	12	11,7	0,75	-
	10	14	11	12	12,3	0,94	-	14	11	13	12,7	0,81	-
Б-12	100	11	11	12	11,3	0,86	-	12	12	12	12,3	0,79	-
	1000	12	12	12	12,0	0,91	-	11	13	12	11,7	0,75	-
	5000	11	10	11	10,7	0,81	-	11	14	11	12,0	0,77	-

6.7.2. Оценка хромосомных аберраций в клетках костного мозга млекопитающих

Предварительная оценка «острой» токсичности соединения Б-12 на мышах показала, что оптимальной максимальной дозой в данном эксперименте при в/б введении является доза 130 мг/кг (100-кратная высшая терапевтическая доза для человека (1,3 мг/кг)), что не противоречит общепринятому подходу к схеме исследования, описанной в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [52].

Результаты проведенных исследований представлены в таблице 42. Оценку данных проводили путем сравнения количества клеток с хромосомными аберрациями в контрольной и опытных группах.

Однократное введение циклофосфамида в дозе 20 мг/кг вызывает статистически значимое увеличение числа хромосомных аберраций в клетках костного мозга мышей гибридов F1(CBA/C57Bl6). Внутрижелудочное четырехкратное введение раствора натрия хлорида не вызывало увеличения числа спонтанных хромосомных аберраций в клетках костного мозга.

Однократное в/б введение соединения Б-12 в дозе 130 мг/кг (100-кратная предполагаемая высшая суточная терапевтическая доза для человека — 1,3 мг/кг), а также 4-х кратное в/б введение однократно в сутки в течение 4 дней соединения Б-12 в дозе 13 мг/кг (10-кратная высшая суточная терапевтическая доза для человека), также не вызывали увеличения числа аберраций хромосом в клетках костного мозга мышей F1 (СВАхС57В16), по сравнению с показателями контрольной группы.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что в испытанных дозах и способах введения, соединение Б-12 на основе N, N - дизамещенных аминоамидов не обладает мутагенными свойствами при в/б введении мышам-гибридам F1 (CBAxC57Bl6) в тесте учета аберраций хромосом в клетках костного мозга.

Таблица 42 – Общая характеристика структурных нарушений в клетках костного мозга мышей в тесте учета хромосомных аберраций

Вариант	$\mathcal{N}_{\!$	Количе	ество клеток			Аберраци	u		Доля клеток
опыта,		Иссле	C	Фрагл	ленты				C
		довано	аберрациями	Одиноч.	Парные	Обмены	Множест	Пробелы	аберрациями
1. Соедин	ение !	Б-12 130 м	иг/кг, самцы, од	нократно, і	внутрибрю	шинно (100	-кратная сут	очная терап	евтическая)
	1	100	1	0	0	0	0	1	1,0
	2	100	5	4	0	0	0	1	5,0
	3	100	2	1	0	0	0	1	2,0
	4	100	1	0	0	0	0	1	1,0
	5	100	3	0	0	0	0	3	3,0
Всего	5	500	12	5	0	0	0	7	2,4±0,8
2. Соедине	ение :	Б-12 13 мі	г/кг, самцы, 4-х	кратно, вну	трибрюши	нно (10-кра	атная суточна	я терапевти	ческая)
	6	100	0	0	0	0	0	0	0,0
	7	100	2	0	0	0	0	2	2,0
	8	100	3	2	0	0	0	1	3,0
	9	100	2	1	0	0	0	1	2,0
	10	100	6	2	0	0	0	4	0,0
Всего	5	500	13	5	0	0	0	8	2,6±1,0
3. Соедин	ение 1	Б-12 13 мі	г/кг, самки, 4-х в	сратно, вну	трибрюши	но (10-кра	тная суточна	я терапевти	ческая)
	11	100	2	0	0	0	0	2	2
	12	100	5	2	0	0	0	3	5
	13	100	0	0	0	0	0	0	0
	14	100	4	1	0	0	0	3	4
	15	100	6	1	0	0	0	5	0
Всего	5	500	17	4	0	0	0	13	3,4±1,1
4.Раствор	для и	нфузий N	aCl 0,9%, самць	ı, 4-х кратн	о, внутриб	рюшинно ((Контроль)		
	16	100	2	0	0	0	0	2	2,0
	17	100	4	2	0	0	0	2	4,0
	18	100	0	0	0	0	0	0	0,0
	19	100	3	0	0	0	0	3	0,0
	20	100	1	0	0	0	0	1	1,0
Всего	5	500	10	2	0	0	0	8	2,0±0,7
			/кг, самцы, 1-кр				тельный конт	гроль)	
	21	100	26	0	0	1	20	5	26,0
	22	100	17	5	1	1	10	0	17,0
	23	100	28	0	1	7	20	0	28,0
	24	100	25	6	0	3	11	5	25,0
	25	100	16	0	0	0	10	6	16,0
Всего	5	500	112	11	2	12	71	16	22,4±2,5

6.7.3. Доминантный летальный тест

Доминантные летальные мутации - индуцированные в родительских зародышевых клетках изменения в генетической структуре, приводящие к летальности на эмбриональной стадии развития. Мутагенный эффект проявляется в виде повышенной эмбриональной смертности. Если яйцеклетка оплодотворена сперматозоидом, несущим доминантную леталь, смерть развивающегося эмбриона может произойти как до, так и после имплантации [52]. Оценку мутагенных свойств проводили по учету постимплантационной смертности.

Исследование было проведено в 3 этапа. На первом этапе самцам мышей-гибридов $F_1(CBA/C_{57}Bl_6)$ вводили соединение Б-12 (в/б, 130 мг/кг). В качестве контрольных веществ использовали стерильный 0,9% раствор NaCl и стерильный раствор циклофосфамида (210 мг/кг).

На следующий день после введения изучаемых веществ (второй этап) проводили визуальный осмотр каждого животного и, при отсутствии признаков интоксикации и отклонений в поведении животного, к каждому самцу подсаживали по 3 интактных половозрелых виргинных самки весом не ниже 20 г. Самок отсаживали через 7 дней - времени первой недели сперматогенеза, достаточного для оплодотворения всех самок, а к самцам подсаживали по 3 новых интактных виргинных самки для анализа влияния изучаемого соединения на последующие этапы сперматогенеза.

На третьем этапе проводили учет постимплантационной летальности. На 16 день беременности проводили эвтаназию самок, вскрывали брюшную полость и исследовали оба рога матки. Регистрировали количество живых и мертвых эмбрионов. Полученные результаты приведены в таблице 43.

На основании полученных данных показано значительное увеличение уровня постимплантационных потерь у животных, которым вводили циклофосфамид (в/б, 210 мг/кг), что доказывает адекватность экспериментальной модели. В то же время, однократное введение соединения Б-12 в предполагаемой

100-кратной высшей терапевтической дозе для человека (1,3 мг/кг) - 130 мг/кг в/б, достоверно не влияло на уровень постимплантационных потерь ни в один из изученных сроков сперматогенеза.

Можно сделать вывод о том, что в исследованной дозе и сроках наблюдения соединение Б-12 не вызывает индукции доминантных летальных мутаций в зрелых спермиях, поздних и ранних сперматидах.

Таблица 43 - Оценка влияния соединения Б-12 в дозе 130 мг/кг на генетические изменения доминантных летальных мутаций у мышей-гибридов F1(CBA/C57Bl6)

Стадия спермат огенеза	<i>№</i>	Доза, вводимая самцам	Кол- во самок	Число берем енных самок	Ферт ильно сть %	Всего живых эмбрио нов	Всего мерт вых эмбри онов	Пости мплан- тацио нные потери	χ^2
1	1	СоединениеБ-12	30	26	87	188	10	0,051	
Зрелые Спермии	2	0,9% p-p NaCl	30	26	87	226	13	0,054	
	3	Циклофосфамид (210 мг/кг)	30	15	50	32	31	0,49	73,3
Поздние	1	СоединениеБ-12	30	28	93	238	15	0,059	
Спермати	2	0,9% p-p NaCl (в/б)	30	24	80	205	10	0,047	
ды	3	Циклофосфамид (210 мг/кг)	30	17	57	38	28	0,44	58,4
	1	СоединениеБ-12	30	28	93	257	13	0,048	
Ранние Спермати	2	0,9% p-p NaCl	30	25	83	227	14	0,058	
ды	3	Циклофосфамид (210 мг/кг, в/б	30	23	77	101	69	0,41	77,4

6.8. Оценка иммунотоксичности соединения Б-12

Одной из основных задач изучения влияния потенциальных лекарственных средств на иммунную систему является исключение возможности развития иммунотоксического действия, вызванного фармакологическим веществом или его метаболитами, в эксперименте на лабораторных животных [36, 60, 140, 141].

6.8.1. Оценка влияния соединения Б-12 на реакцию гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) у мышей при однократном введении

Эксперименты по изучению влияния соединения Б-12 на реакции ГЗТ показали, что при однократном в/б введении изучаемого вещества, интенсивность реакций клеточного типа не изменяется. Таким образом, можно сделать вывод о том, что соединение Б-12 в дозах 26 и 13 мг/кг не оказывает влияния на клеточный иммунитет.

Таблица 44 - Влияние соединения Б-12 на развитие реакции ГЗТ к эритроцитам барана при в/б введении мышам F1(CBAxC57Bl6)

Группы животных, испытанные дозы	Число животных в группе	Индекс реакции
7 группа, дистил. Вода для инъекций, день «+1» контроль	10	27,39±1,01
1 группа 26 мг/кг, день «-1»	10	27,29±1,54
2 группа 13 мг/кг, день «-1»	10	26,95±1,52
3 группа 26 мг/кг, день «0»	10	26,47±2,54
4 группа 13 мг/кг, день «0»	10	29,33±2,14
5 группа 26 мг/кг, день «+1»	10	27,60±1,64
6 группа 13 мг/кг, день «+1»	10	25,88±1,23

6.8.2. Оценка влияния соединения Б-12 на число антителообразующих клеток (АОК) в селезенке мышей при однократном введении

Влияние соединения Б-12 на число АОК в селезенках мышей при однократном введении было изучено методом прямого локального гемолиза, который позволяет определить клетки, образующие иммуноглобулин М – антитела с высокой гемолитической активностью [123].

Результаты экспериментов представлены в таблице 45. Соединение Б-12 в испытанных дозах и схеме иммунизации не влияет на число АОК в селезенке мышей и, следовательно, не воздействует на первичный иммунный ответ.

Таблица 45 - Оценка влияния соединения Б-12 на количество АОК у мышей-гибридов F1(CBAxC57Bl6)

Испытанные дозы Б-12	Кол-во животных в группе	Число АОК в селезенке, 1х10 ⁴
7 группа, дистиллированная вода, день «+1» (контроль)	10	7,65±0,35
1 группа 26 мг/кг день «-1»	10	6,79±0,38
2 группа 13 мг/кг день «-1»	10	6,81±0,28
3 группа 26 мг/кг день «0»	10	6,70±0,30
4 группа 13 мг/кг день «0»	10	7,24±0,37
5 группа 26 мг/кг день «+1»	10	7,38±0,40
6 группа 13 мг/кг день «+1»	10	6,82±0,37

6.8.3. Оценка влияния соединения Б-12 на число АОК в селезенке мышей

при курсовом введении

Оценку влияния соединения Б-12 на количество АОК у мышей F1(CBAxC57Bl6) проводили при курсовом введении, а также после восстановительного периода (14 дней).

Установлено, что соединение Б-12 в испытанных дозах и схеме иммунизации не влияет на число АОК в селезенке мышей, иммунизированных эритроцитами барана, и, следовательно, не влияет на первичный иммунный ответ (Таблица 46, Таблица 47).

Таким образом, соединение Б-12 при однократном и многократном внутрибрющинном введении в испытанных дозах 26 и 13 мг/кг не влияет на количество АОК, также не вызывает реакции ГЗТ у мышей, следовательно, не оказывает влияние на гуморальный и клеточный иммунитет. Обратимость изменений следует рассматривать как показатель иммунологической безопасности соединения Б-12.

Таблица 46 - Оценка влияния соединения Б-12 при курсовом введении на количество антителообразующих клеток у мышей-гибридов F1(CBAxC57B16)

Группы животных, испытанные дозы	Число животных в группе	Количество антителообразующих клеток в селезенке, 1х10 ⁴
7 группа, дистиллированная вода, день «+1» (контроль)	10	5,88±0,47
1 группа 26 мг/кг день «-1»	10	5,76±0,48
2 группа 13 мг/кг день «-1»	10	7,21±0,51
3 группа 26 мг/кг день «0»	10	6,42±0,55
4 группа 13 мг/кг день «0»	10	7,05±0,55
5 группа 26 мг/кг день «+1»	10	7,15±0,43
6 группа 13 мг/кг день «+1»	10	7,07±0,37

Таблица 47 - Оценка влияния соединения Б-12 на количество антителообразующих клеток у мышей-гибридов F1(CBAxC57Bl6) при курсовом введении после восстановительного периода

Группы животных, испытанные дозы	Число животных в группе	Количество антителообразующих клеток в селезенке, 1х10 ⁴
7 группа, 1% крахмальный гель, день «+1»(контроль)	10	0,016±0,005
1 группа 26 мг/кг день «-1»	10	0,015±0,004
2 группа 13 мг/кг день «-1»	10	0,017±0,005
3 группа 26 мг/кг день «0»	10	0,018±0,007
4 группа 13 мг/кг день «0»	10	0,016±0,005
5 группа 26 мг/кг день «+1»	10	0,015±0,006
6 группа 13 мг/кг день «+1»	10	0,014±0,006

6.9. Изучение аллергезирующих свойств соединения Б-12

6.9.1. Оценка анафилактогенной активности

Анализ результатов проведенных исследований показал, что соединение Б-12 в дозах 1,3 и 13 мг/кг при в/ж введении морским свинкам на 14 и на 21 день сенсибилизации не вызывает развитие анафилактического шока (Таблица 48).

Таблица 48 - Оценка анафилактогенной активности соединения Б-12 на 14 и на 21 дни сенсибилизации

	Количество	Сенсибилизирующая	Разреша-	Оценка реакции		
№ группы	животных	доза, кратность, путь введения	ющая доза	на 14 день	на 21 день	
1 группа Контроль	5	0				
2 группа Б-12 1,3 мг/кг	5	1,3 мг/кг, 5-кратно; внутрижелудочно	13 мг/кг	Отсутствие анафилаксии	Отсутствие анафилаксии	
3 группа Б-12 13 мг/кг	5	13 мг/кг, 5-кратно; внутрижелудочно		-	_	

6.9.2. Оценка реакции гиперчувствительности III типа

Результаты исследований показали, что реакция гиперчувствительности III типа в испытанных дозах соединения Б-12 - 1,3 и 13 мг/кг у морских свинок в опытных и контрольных группах была отрицательной (Таблица 49).

Таблица 49 – Оценка влияния соединения Б-12 на реакцию гиперчувствительности III типа

№ группы	Кол-во животных	Сенсибилизирующие дозы, кратность, путь введения	Разрешающая доза,путь введения	Оценка реакции	
1группа/ Контроль	5	0	13 мг/кг; п/кож	Omerwannye	
2 группа Б-12 1,3 мг/кг	5	1,3 мг/кг; пятикратно; в/ж	13 мг/кг; п/кож	Отсутствие гиперимии, отека	
3 группа Б-12 13 мг/кг	5	13 мг/кг; пятикратно; в/ж	13 мг/кг; п/кож	и воспаления	

Таким образом, соединение Б-12 при однократном и многократном внутрибрющинном введении в испытанных дозах 20- и 10-кратные высшие суточные терапевтические дозы, рекомендованные для человека (26 и 13 мг/кг) не влияет на количество антителообразующих клеток и клеточность селезенки, а также не вызывает реакции гиперчувствительности замедленного типа у мышей, следовательно, не влияет на гуморальный и клеточный иммунитет.

Полученные экспериментальные данные показали, что внутрижелудочное введение соединения Б-12 не приводит к развитию анафилактического шока и к возникновению реакции ГЗТ III типа у морских свинок.

Результаты, представленные в данной главе, изложены в следующих публикациях:

- 1. Калдыркаева О. С., Арзамасцев Е. В., Борисова Е. Я., Терехова О. А., Афанасьева Е. Ю., Борисова Н. Ю., Левицкая Е. Л., Кудрявцева Э. В., Гайсинюк Т. В. Токсичность и биологическое действие новых N-замещенных аминоамидов. Токсикологический вестник, №4 (151). М.: Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ, 2018, с. 46-49.
- 2. Калдыркаева О.С., Арзамасцев Е.В. Неинвазивное измерение кровяного давления лабораторных животных в доклинических исследованиях. Сборник материалов XXV Российского национального конгресса «Человек и лекарство». Тезисы докладов/Главный редактор Чучалин А.Г.-М.: Видокс, 2018, с. 70.
- 3. Калдыркаева О.С., Арзамасцев Е.В., Терехова О.А., Афанасьева Е.Ю., Левицкая Е.Л., Кудрявцева Э.В., Полуэктова В.П., Гайсинюк Т.В., Борисов, Е.Я., Борисова Н.Ю., Асилова Н.Ю., Зубин Е.М., Крылов А.В. Антиаримические свойства и токсикологическая характеристика N-(2-(2-(диалкиламино)этокси)этил)карбоксамидов. Кардиологический вестник. 2022; 17(2):47-54.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты изучения впервые синтезированных 20 оригинальных соединений N, N — дизамещенных аминоамидов показали, что большинство веществ имеет относительно низкую токсичность, некоторые из них обладают выраженными антиаритмическими свойствами на моделях нарушения сердечного ритма у лабораторных животных.

Токсичность N, N — дизамещенных аминоамидов зависит от строения и расположения фенильных радикалов в углеродной цепи, характера замещения у аминного атома азота, уменьшаясь в ряду пиперидино>диэтиламино>морфолино. Установлено, что наличие в структуре соединения пиперидиновой группы приводит к более высокой антиаритмической активности.

Отобранные в результате скрининговых исследований на модели политопной аконитиновой аритмии у крыс соединения Б-1, Б-8 и Б-12, обладающие наиболее выраженными антиаритмическими свойствами, сравнивали с известными и широко применяющимися в медицинской практике антиаритмиками. Химическое строение и токсикологическая характеристика отобранных наиболее активных веществ представлены в таблице 50.

В результате экспериментальных исследований были выявлены важные преимущества - меньшая токсичность, более высокие показатели антиаритмических индексов ($\Pi Z_{50}/\Im Z_{50}$) и индексов Шнейдера-Брокка ($\Pi Z_{10}/\Im Z_{90}$), существенно превышающие значения референс-препаратов.

Наиболее активные соединения подтвердили высокую эффективность антиаритмического действия, как при лечебном, так и при профилактическом назначении животным на аконитиновой, хлоридбариевой и хлоридкальциевой моделях нарушений сердечного ритма.

Таблица 50 - Параметры токсичности и химическое строение наиболее активных соединений N, N – дизамещенных аминоамидов

Шифр	Химическое строение	Показатели токсичности, мг/кг				
соединения		ЛД ₁₀	ЛД ₁₆	$ЛД_{50\pm m}$	ЛД ₈₄	
Б-1	Дигидрохлорид N-(2- (диэтиламино)этил)-N-(2- пиперидиноэтил)-2-(2,4- дихлорфенокси)ацетамида	60	70	96±3,8	129	
Б-8	Дигидрохлорид N-(2- (диэтиламино)этил)-N-(2- пиперидиноэтил)-2-феноксиацетамида	269	279	310±6,5	342	
Б-12	Гидрохлорид N-{2-[2- (пиперидино)этокси]этил} феноксиацетамид	130	152	230±13,9	330	

В таблице 51 отражены обобщенные данные и сравнительная характеристика антиаритмического действия наиболее активных соединений и референспрепаратов на различных моделях нарушения сердечного ритма у лабораторных животных.

По эффективности антиаритмического действия наиболее активные N. N дизамещенные аминоамиды представлены следующей последовательностью: Б-12 > Б-8 > Б-1. Данные соединения не уступали референс-препаратам И некоторых случаях превосходили их, что подтверждалось высокими показателями индекса Шнейдера-Брокка, который представляет более жесткий критерий оценки широты терапевтического действия изучаемых веществ.

Таблица 51 – Антиаритмическая активность отобранных соединений и референс-препаратов на различных моделях нарушения сердечного ритма

Показатели токсичности и эффективности антиаритмического действия	Б-1	Б-8	Б-12	Амиодарон	Новокаинамид	Пропранолол	Верапамил
ЛД ₅₀	96±3,8	310±6,56	230±13,9	430±12,5	300±10,8	85±3,5	
Аконитин 40 мкг/кг ЭД ₅₀	0,64	0,8	0,52	6,5	14	3	
Антиаритмический индекс ЛД ₅₀ /ЭД ₅₀	117	114	319	86	21	28	
Индекс Шнейдера- Брокка ЛД ₁₀ /ЭД ₉₀	158	727	520	21	12	8	
$CaCl_{2,}$ (250 мг/кг), крысы Доза, мг/кг / процент выживших животных	2/80 1/100	5/30 2/70	2/100 0,5/80				1/20 3/90
<i>BaCl</i> ₂ ,(25 мг/кг), крысы ЭД ₅₀	0,82	2,7	0,72	5,0			

По результатам полученных данных об антиаритмической активности оригинальных, впервые синтезированных веществ, перспективных для разработки в качестве лекарственных средств, было получено 2 патента в Российской Федерации, один из которых (патент № RU2712638) награжден Дипломом Федеральной службы по интеллектуальной собственности в номинации «100 лучших изобретений России за 2019 год и первое полугодие 2020 года».

Анализ полученных данных о влиянии наиболее активных соединений на состояние ЦНС при введении соединения Б-8 в испытанном диапазоне доз показал увеличение длительности наркотического сна, вызванного уретаном в дозе 1500 мг/кг и этанолом 40% в дозе 14 мл/кг. Под влиянием соединения Б-12 установлено достоверное сокращение длительности наркотического сна.

Отобранные наиболее активные соединения с условными шифрами Б-1, Б-8 и Б-12 не оказывают влияния на чувствительность М-холинорецепторов к ареколину, не изменяют продолжительность гарминовых гиперкинезов. Все

вещества, за исключением соединения Б-1, не оказывают существенного воздействия на продолжительность тремора, вызванного подкожным введением никотина в дозе 7 мг/кг. Под влиянием соединения Б-1 наблюдается увеличение более чем в 3 раза, по сравнению с контролем, продолжительности никотинового тремора.

Введение исследуемых соединений также не показало статистически значимого действия на продолжительность стереотипии, вызванной апоморфином. При изучении анальгетических свойств установлено, что отобранные наиболее активные по антиаритмическому действию соединения в испытанных дозах обладают слабо выраженной анальгетической активностью.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что изучаемые соединения в дозах 1/10 от ЛД₅₀ для мышей при в/б введении также не оказывают заметного влияния на функциональное состояние почек у крыс в условиях водной нагрузки. Установлено также, что активные соединения в эффективных антиаритмических дозах не влияют на уровень артериального давления у ненаркотизированных крыс. В таблице 52 представлены обобщающие данные о фармакологических свойствах изучаемых веществ с наиболее выраженной антиаритмической активностью.

действия Особенности антиаритмического исследуемых соединений заключаются в том, что они одновременно обладают рядом специфических свойств, свойственных лекарственным средствам для профилактики и лечения нарушений сердечного ритма различных групп. Так, отобранные при скрининге на аконитиновой модели нарушений сердечного ритма наиболее активные соединения Б-1, Б-8 и Б-12 проявили выраженное антиаритмическое действие как на модели хлоридкальциевой аритмии, так и на модели хлоридбариевой аритмии, превосходили показателям антиаритмического широко И ПО индекса используемые в клинической практике референс-препараты.

Таблица 52 - Фармакологическая активность соединений, обладающих наиболее выраженными антиаритмическими свойствами

Фармакологические эффекты	Б-1	Б-8	Б-12
Влияние на ЦНС: <i>Наркотическое действие</i> Этанол 40% 14 мл/кг Уретан 1500 мг/кг <i>Противосудорожная активность</i>	-	↑ ↑	↓
Ареколин 0,1% 25 мг/кг Гармин 0,1% 10 мг/кг Стереотипное поведение Апоморфин 2 мг/кг Никотин 7 мг/кг	- -	↓ ↓ -	↓ ↓ -
Анальгетическая активность	↓	↓	↓
Влияние на функциональное состояние почек	-	-	-
Влияние на артериальное давление	-	-	-

Условные обозначения: ↓ - уменьшение, ↑ - усиление, - отсутствие влияния

При токсикологическом изучении обладающие выраженными антиаритмическими свойствами вещества оказались малотоксичными. В соответствии с Согласованной на глобальном уровне системой классификации и маркировки химических веществ (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS) изучаемые соединения, по показателям ЛД₅₀ при однократном введении лабораторным животным, можно отнести к III-IV классу токсичности и опасности химических веществ.

При ежедневном в/б введении соединения Б-12 крысам Wistar на протяжении 1-го месячного эксперимента в дозах 13 и 26 мг/кг (10- и 20-кратные предполагаемые высшие суточные дозы для человека) не выявлено влияния на общее состояние, крыс, динамику массы тела животных, биохимические показатели крови и ее морфологический состав.

Экспериментальные дозы соединения Б-12 13 и 26 мг/кг в 10 и 20 раз превышали рекомендуемую высшую суточную дозу для человека (1,3 мг/кг), хорошо переносились животными и, по данным проведенных биохимических и

гематологических испытаний, не влияли на функциональное состояние важнейших органов И систем организма. Также ПО результатам патоморфологических исследований, проведенных после окончания эксперимента, не вызывали токсического повреждения внутренних органов подопытных животных и не оказывали местнораздражающего действия. При этом чувствительности к установлено существенных различий у крыс в токсическому действию соединения Б-12 в зависимости от пола животных.

В результате проведенных исследований при изучении эмбриотоксичности и тератогенности установлено, что наиболее активное соединение Б-12 при в/б введении беременным крысам с 1 по 19 день гестации не влияет на динамику массы тела беременных животных и продолжительность беременности. Также не установлено влияния в испытанных дозах на такие критерии эмбриотоксичности, как количество живых плодов, мест имплантации и желтых тел, массу тела эмбрионов и их кранио-каудальный размер. В испытанных дозах 13 и 26 мг/кг соединение Б-12 не вызывает у потомства каких-либо уродств и пороков развития. Также не наблюдается повышения пред- и постимплантационной гибели эмбрионов. Соединение Б-12 в испытанных дозах не замедляет процессов оссификации костного скелета у эмбрионов.

В испытанных дозах 13 и 26 мг/кг при в/б введении крысам с 1 по 19 день гестации соединение Б-12 не влияет на количество родившихся крысят, динамику их массы тела и показатели смертности в первые 4 недели постнатального развития. Установлено, что введение соединения Б-12 в/б в дозе 13 мг/кг половозрелым крысам Wistar обоего пола не влияет на репродуктивную функцию этого вида животных.

При изучении мутагенного действия наиболее активных соединений Б-1, Б-8, Б-12 не установлено проявлений мутагенного потенциала ни у исследуемых соединений, ни их метаболитов в тесте Эймса на индикаторных штаммах Salmonella typhimurium TA98, TA100 и TA1537. Наиболее активное соединение Б-12 не вызывает индукции доминантных летальных мутаций в зрелых спермиях,

поздних и ранних сперматидах, не является мутагеном при в/б введении мышамгибридам F1 (CBAxC57Bl6) в тесте учета хромосомных аберраций в клетках костного мозга мышей.

Соединение Б-12 при однократном и многократном в/б введении в испытанных 20-ти и 10-кратных высших суточных терапевтических дозах, рекомендованных для человека, не оказывает влияния на количество антителообразующих клеток и клеточность селезенки, а также не вызывает реакции гиперчувствительности замедленного типа у мышей, тем самым, не оказывает влияния на гуморальный и клеточный иммунитет.

Соединение Б-12, обладающее наибольшей антиаритмической активностью, не проявляет кумулятивных свойств и не обладает аллергенным потенциалом.

Подводя ИТОГИ исследований ПО поиску новых препаратов ДЛЯ профилактики и лечения нарушений сердечного ритма среди соединений класса N, N - дизамещенных аминоамидов следует отметить, что выявленные при скрининге наиболее активные вещества обладают выраженными свойствами антиаритмическими не уступающими, a ряде случаев превосходящими по эффективности референс-препараты, такие как: амиодарон, новокаинамид, верапамил. Их пропранолол, высокая антиаритмическая активность, хорошая переносимость, низкая токсичность и достаточно большой период полувыведения, установленные при изучении токсикокинетики, свойств отсутствие мутагенных И результаты предварительного фармакодинамического изучения соединений Б-1, Б-8 и Б-12 свидетельствуют о целесообразности разработки на основе новых высокоэффективных ИХ лекарственных средств для лечения и профилактики нарушений сердечного ритма.

выводы

- 1. Впервые синтезированные оригинальные функционально N, N дизамещенные аминоамиды являются малотоксичными веществами, ряд из которых обладает выраженной антиаритмической активностью, сопоставимой, и в ряде случаев, превосходящей активность референс-препаратов известных антиаритмических лекарственных средств.
- 2. Наличие у N, N дизамещенных аминоамидов пиперидина в качестве заместителя в аминогруппе обеспечивает соединениям более выраженную антиаритмическую активность.
- 3. Токсичность N, N дизамещенных аминоамидов зависит от химической структуры углеродной цепи, характера заместителей у аминного атома азота, уменьшаясь в ряду пиперидино > диэтиламино > морфолино, строения ацильной группы, количества и расположения фенильных радикалов.
- 4. Отобранные при скрининговых исследованиях на моделях аритмий у лабораторных животных наиболее активные соединения Б-1, Б-8 и Б-12 обладают выраженными антиаритмическими свойствами при назначении, как с лечебной, так и профилактической целью. Указанные вещества малотоксичны и превосходят по показателям антиаритмических индексов (ЛД₅₀/ЭД₅₀) и индексов Шнейдера-Брокка (ЛД₁₀/ЭД₉₀) эффективность референс-препаратов, что делает их перспективными для разработки на их основе новых антиаритмических лекарственных средств.
- 5. Выраженная антиаритмическая активность, относительно низкая токсичность, хорошая переносимость при длительном назначении, отсутствие мутагенных, аллергезирующих свойств, результаты исследований по изучению иммунотоксичности, репротоксичности, токсикокинетики, также ряд свойств фармакологических свидетельствуют целесообразности перспективности разработки на основе соединения Б-12 нового безопасного и препарата для профилактики и лечения высокоэффективного сердечного ритма.

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

- 1. Результаты проведенных исследований по поиску антиаритмических средств среди впервые синтезированных N, N дизамещенных аминоамидов, а также углубленного изучения на различных моделях нарушения сердечного ритма особенностей антиаритмического действия выявленных при скрининге наиболее активных соединений (Б-1, Б-8, Б-12), свидетельствуют о важности и перспективности разработки на их основе новых высокоэффективных лекарственных средств для лечения и профилактики нарушений сердечного ритма.
- 2. Установленные зависимости токсичности и антиаритмической активности от химической структуры веществ в ряду N, N дизамещенных аминоамидов позволяют наметить пути дальнейшего направленного синтеза соединений с низкой токсичностью и высокой антиаритмической активностью данного класса химических веществ.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

EMA - European Medicines Agency, Европейское агентство по лекарственным средствам

FDA - Food and Drug Administration, Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов

ААС – антиаритмические средства

АД – артериальное давление

АТФ - аденозинтрифосфат

АВ – атриовентрикулярный

БАБ – β-адреноблокаторы

 $\mathbf{B}/\mathbf{6}$, \mathbf{B}/\mathbf{m} , \mathbf{B}/\mathbf{k} — внутрибрюшинное, внутримышечное, внутривенное, подкожное, внутрижелудочное введение веществ и лекарственных препаратов

ЖТ – желудочковая тахикардия

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМ – инфаркт миокарда

ИЭКС – имплантация электрокардиостимулятора

КА ПЖТ – катехоламинергическая полиморфная желудочковая тахикардия

НАМС – неполная активирующая микросомальная смесь

ПАМС – полная микросомальная активирующая смесь

ПД – потенциал действия

РПД – ранняя постдеполяризация

СА – синоатриальный

СН – сердечная недостаточность

СССУ – синдром слабости синусового узла

ТСХ – тонкослойная хроматография

ФЖ – фибрилляция желудочков

ФП – фибрилляция предсердий

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Абделилах, 3.Э. Клиническая эффективность и безопасность купирования фибрилляции и трепетания предсердий антиаритмическим препаратом IC класса пропафеноном: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.06 / Абделилах Захар Елфеккак- Томск, 2004. 24 с.
- 2. Акчурин, Р.С., Кардиология. Национальное руководство / Р.С. Акчурин, Ю.А. Алексеева, Б.Г. Алекян [и др] / Под ред. Е. В. Шляхто. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 800 с.
- 3. Андреева, Н.И. Методические указания по изучению антидепрессантной активности фармакологических веществ / Н.И. Андреева // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ; под общ. ред. Р.У. Хабриева. 2-изд., перераб. и доп. М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. С. 244-253.
- 4. Афанасьева, Е.Ю. Токсичность новых функционально замещенных аминов / Е.Ю. Афанасьева, Е.Я. Борисова, Е.В. Арзамасцев [и др.] // Микроэлементы в медицине. -2005. T. 6. N 2. C. 74-77.
- 5. Бартенева, Е.В. Анализ и стандартизация нового отечественного брадикардического средства брадизол / Е.В. Бартенева, О.Б. Степаненко, Н.И. Авдюнина [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. 2004. Т. 38. № 12. С. 54-56.
- 6. Беленький, М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. 2-изд., перераб. и доп. Л.: Гос. изд. мед. лит., 1963. 146 с.
- 7. Белицкий, Г.А. Совол как индуктор микросомальных ферментов, активирующие проканцерогены / Г.А. Белицкий, Л.М. Фоншейн, В.В. Худолей [и др.] // Экспериментальная онкология. 1987. №3. С 20-23.
- 8. Беннетт, Д.Х. Аритмии сердца: практические заметки по интерпритации и лечению: перевод с английского под редакцией проф. С. П. Голицына / Дэвид Х. Беннетт. М.: МЕДпресс-информ. 2016. С. 131-133.
- 9. Бердяев, С.Ю. Современные аспекты поиска новых антиаритмических средств / С.Ю. Бердяев // Фармакология и токсикология. 1987. №4. С. 5-14.
- 10. Берхин, Е.Б. Фармакология почек и ее физиологические основы / Е.Б. Берхин. М.: Медицина, 1979. 336 с.
- 11. Благова, О. В. Медикаментозное лечение нарушений ритма сердца / Благова О. В. , Гиляров М. Ю. , Недоступ А. В. и др. / Под ред. В. А. Сулимова Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2011. 448 с.
- 12. Борисова, Н.Ю. Функционально замещенные амины гетероалифатического и алифатического рядов : Синтез, свойства, биологическое действие :

- диссертация ... кандидата химических наук : 02.00.03, 02.00.10. Москва, 2003. 142 с.
- 13. Брегвадзе, И.Н. Эффективность и безопасность нибентана при медикаментозной кардиоверсии у больных с персистирующей формой фибрилляции и трепетании предсердий: роль ограничения доз препарата и применения магния сульфата / И.Н. Брегвадзе, Е.Б. Майков, С.Ф. Соколов [и др.] // Кардиология. 2007. №3. С. 48-55.
- 14. Воронина, Т. А. Методические рекомендации по доклиническому изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия лекарственных средств / Т.А. Воронина, Р.У. Островская, Т.Л. Гарибова // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. 2012. Т. 1.
- 15. Галенко-Ярошевский, П.А. Антиаритмические средства: фармакотерапевтические аспекты, методы поиска и доклинического изучения / П.А. Галенко-Ярошевский, Ю.Р. Шейх-Заде, В.П. Михин [и др.]. Краснодар: ООО "Просвещение-Юг", 2012. 431 с.
- 16. Гиляров, М.Ю. Сравнительная характеристика эффективности и безопасности электрической кардиоверсии нибентаном у больных с персистирующей формой фибрилляции и трепетания предсердий / М.Ю. Гиляров, Н.А. Новикова, В.А. Сулимов [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук. 2007. № 5. С. 22-26.
- 17. Голицын, С.П. Диагностика и лечение фибрилляции предсердий / С.П. Голицын, Е.П. Панченко, Е.С. Кропачева [и др.] // Евразийский кардиологический журнал. 2019. №4., с. 85.
- 18. Давыдов, Б.И. Элиминация цистамина в организме и пролонгирование его радиозащитного действия / Б.И. Давыдов, П.П. Саксонов, В.Н. Черниговский // Проблемы космической биологии. Радиобиологические аспекты реактивности организма в связи с космическими полетами. М.: Наука, 1971. С. 137-158.
- 19. Джанашия, П.Х. Медикаментозное лечение нарушений ритма сердца: роль антиаритмических препаратов первого класса / П.Х. Джанашия, Н.М. Шевченко // Атмосфера. Новости кардиологии. 2003. №4. С. 42-44.
- 20. Долгошей, Т.С. Случай синдрома удлиненного интервала Q—Т, индуцированного приемом кордарона и хинидина / Т.С. Долгошей, Кохковский, А.Б., Т.Г. Лискович [и др.] // Клиническая медицина, 2007. № 3. С.69-71.
- 21. Дощицин, В.Л. Применение антиаритмических препаратов: рекомендации и реальная клиническая практика / В.Л. Дощицин, В.Л. Сыров, Т.В. Павлова // Consilium Medicum.- 2019. №10.

- 22. Егоров, О.С. Структура и биологическое действие аналогов и производных биогенных полиамидов / О.С. Егоров, Н.Ю. Борисова, Е.Я. Борисова [и др.] // Тонкие химические технологии, 2021. С. 287-306.
- 23. Иванова, А.И. Синтез и биологическая активность N-(2-аминоэтил)-N-(2-ацилоксилокексил)карбоксамидов циклогексанового ряда / А.И. Иванова, Н.Ю. Борисова, Е.Я. Борисова [и др.] // Известия Академии наук. Серия химическая, 2015. с. 92-98.
- 24. Каверина, Н.В. Методические рекомендации по экспериментальному (фармакологическому) изучению препаратов, предлагаемых для клинических испытаний в качестве средств для профилактики и лечения нарушений сердечного ритма / Н.В. Каверина, З.П. Сеннова // Руководящие методические материалы по экспериментальному и клиническому изучению новых лекарственных средств. М., 1981. С. 97-103.
- 25. Каверина, Н.В. Методические рекомендации по экспериментальному (фармакологическому) изучению новых препаратов, предлагаемых для клинических испытаний в качестве антиангинальных средств / Н.В. Каверина, Г.Г. Чичканов // М., 1982. 9 с.
- 26. Калдыркаева, О. С. Поиск антиаритмических средств среди производных N, N дизамещенных аминоамидов. Тезисы V Евразийский конгресс кардиологов. / О.С. Калдыркаева, Е.В. Арзамасцев // Евразийский кардиологический журнал, 2017. №3. с. 129.
- 27. Калдыркаева, О.С. Неинвазивное измерение кровяного давления лабораторных животных в доклинических исследованиях / О.С. Калдыркаева, Е.В. Арзамасцев // Сборник материалов XXV Российского национального конгресса «Человек и лекарство». Тезисы докладов/Главный редактор Чучалин А.Г. М.: Видокс, 2018. с. 70.
- 28. Калдыркаева, О.С. Токсичность и биологическое действие новых N-замещенных аминоамидов / О.С. Калдыркаева, Е.В. Арзамасцев, Е.Я. Борисова [и др.] // Токсикологический вестник, №4 (151). М.: Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ, 2018. с. 46-49.
- 29. Калдыркаева, О.С. Фармакологические свойства и токсикологическая характеристика функционально N-замещенных аминоамидов / О.С. Калдыркаева, Е.В. Арзамасцев, Е.Я. Борисова [и др.] // Сборник материалов XXIII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». Тезисы докладов/Главный редактор Чучалин А.Г. М.: Видокс, 2016. с. 180.
- 30. Калдыркаева, О.С. Антиаритмическая активность функционально N-замещенных аминоамидов / О.С. Калдыркаева, Е.В. Арзамасцев, О.А. Терехова О.А. [и др.] // Сборник материалов XXIV Российского

- национального конгресса «Человек и лекарство». Тезисы докладов/Главный редактор Чучалин А.Г.- М.: Видокс, 2017. с. 98.
- 31. Калдыркаева, О.С. Антиаримические свойства и токсикологическая характеристика N-(2-(2-(диалкиламино)этокси)этил)карбоксамидов / О.С. Калдыркаева, Е.В. Арзамасцев, О.А. Терехова [и др.] // Кардиологический вестник, 2022. № 17(2). С. 47-54.
- 32. Кардиология: национальное руководство / под. ред. Е.В. Шляхто. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭотар-медиа, 2020, 816 с.
- 33. Карпов, Ю. А. Антиангинальная терапия: фокус на ранолазин / Ю. А. Карпов // Трудный пациент. 2014. Т. 12. № 3. С. 18-23.
- 34. Котляров, А.А. Несколько слов об истории и перспективах развития фармакотерапии аритмий / А.А. Котляров // Российский кардиологический журнал, 2001. №4. С. 67-69.
- 35. Крюков, Е.В. Алгоритм ведения пациентов, получающих амиодарон, в зависимости от функционального состояния щитовидной железы / Е.В. Крюков, Н.П. Потехин, А.Н. Фурсов [и др.] // Клиническая медицина, 2017. №10. С. 901—905.
- 36. Кудрина, Г.П. Методические рекомендации по оценке иммунотоксических свойств фармакологических средств / Г.П. Кудрина, Ю.В. Буров, Р.Д. Алтынбаева [и др.] // М-во здравоохранения СССР, Упр. по внедрению новых лекарств. средств и мед. техники, Фармакол. ком. М.: Изд. офиц. 1988. 19 с.
- 37. Лукьянова, И.Ю. Изучение эффективности и безопасности препаратов для медикаментозной кардиоверсии у больных с пароксизмальной формой фибрилляции предсердий на догоспитальном этапе / И.Ю. Лукьянова, А.В. Кузнецов, В.М. Комарницкий, А.Г. Козырева // Скорая медицинская помощь. 2017. Т. 18. № 4. С. 43-47.
- 38. Майков, Е.Б. Рефралон (ниферидил) новый антиаритмический препарат III класса для медикаментозной кардиоверсии персистирующей фибрилляции и трепетания предсердий / Е.Б. Майков, Ю.А. Юричева, Н.Ю. Миронов // Терапевтический архив. 2015. Т. 87. № 1. С. 38-48.
- 39. Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. 16-е изд., перераб., испр. и доп. М.: Новая волна: Изд. Умеренков, 2012. 1216 с.
- 40. Миллер, О.Н. Клинические рекомендации и мнения экспертов по применению антиаритмических препаратов в реальной практике / О.Н. Миллер, А.В. Сыров, В.Л. Дощицин [и др.] // Consilium Medicum. 2019. Т. 21. № 5. С. 43-50.

- 41. Миронов, Н.Ю. Способ лечения фибрилляции предсердий // Патент РФ RU2728715C1 / Н.Ю. Миронов, Х.М. Дзаурова, Ю.А. Юричева [и др.]. 30.07.2020.
- 42. Миронов, Н.Ю. Проспективное рандомизированное исследование эффективности и безопасности электрической и медикаментозной кардиоверсии при персистирующей фибрилляции предсердий. Часть 2: оценка безопасности / Н. Ю. Миронов, В. В. Влодзяновский, Ю. А. Юричева [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. − 2018. − Т. 14. − № 6. − С. 826-830.
- 43. Миронов, Н.Ю. Новые достижения в диагностике и лечении фибрилляций предсердий: от экспериментальных исследований до повседневной клинической практики / Н. Ю. Миронов, Л. Ю. Лайович, Е. С. Миронова [и др.] // Терапевтический архив. − 2019. − Т. 91. − № 6. − С. 11-18.
- 44. Национальный стандарт Российской Федерации (ГОСТ 33044-2014) «Принципы надлежащей лабораторной практики» / «Стандартинформ», М.: 2015.
- 45. Патент № 2128163 С1 Российская Федерация, МПК С07С 235/18, А61К 31/16, А61Р 9/06. Арилалифатические аминоамиды феноксиуксусной или замещенных феноксиуксусных кислот, проявляющие антиаритмическую, местноанестезирующую и анальгетическую активность : № 97112411/04 : заявл. 25.07.1997 : опубл. 27.03.1999 / Е. Я. Борисова, Е. В. Арзамасцев, М. И. Черкашин [и др.].
- 46. Патент № 2645080 С1 Российская Федерация, МПК С07С 233/02, С07С 233/04, С07С 233/11. N,N-бис(2-(диалкиламино)этил)карбоксамиды и их дигидрохлориды, проявляющие антиаритмическую активность, и фармацевтические композиции на их основе : № 2017125047 : заявл. 13.07.2017 : опубл. 15.02.2018 / Е. Я. Борисова, Д. К. Хоанг, О. С. Калдыркаева [и др.].
- 47. Патент № 2712638 С1 Российская Федерация, МПК С07С 235/34, С07D 295/145, С07D 295/15. N-(2-(2-(диалкиламино)этокси)этил)карбоксамиды и их гидрохлориды, обладающие антиаритмической активностью, и фармацевтические композиции на их основе : № 2019109598 : заявл. 02.04.2019 : опубл. 30.01.2020 / Н. Ю. Борисова, Е. Ю. Афанасьева, Е. Я. Борисова [и др.].
- 48. Подзолков, В.И. Антиаритмическая терапия в лечении фибрилляции предсердий: вчера, сегодня, завтра / В. И. Подзолков, А. И. Тарзиманова // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2019. Т. 18. № 3. С. 81-87.

- 49. Попова, Е.П. О классификации и принципах действия антиаритмических средств / Е. П. Попова, В. П. Фисенко // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2016. Т. 79. № 5. С. 33-44.
- 50. Рекомендация Коллегии Евразийской экономической комиссии от 22.12.2020г. № 33 «О руководстве по изучению токсикинетики и оценке системного воздействия в токсикологических исследованиях лекарственных препаратов».
- 51. Решение Коллегии Евразийской экономический Комиссии от 26 ноября 2019г. N 202 "Об утверждении руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов" // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2019. № 4. С. 8-9.
- 52. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / ФГБУ «НЦЭСМП» Минздравсоцразвития России. Москва : Гриф и К, 2012. 944 с.
- 53. Сивякова, О. Н. Случай множественных побочных эффектов амиодарона / О.Н. Сивякова, Н.Ю. Шманова, А.П. Дулеба // Consilium Medicum. 2018. Т. 20. № 5. С. 71-74.
- 54. Сметнев, А.С. Диагностика и лечение нарушений ритма сердца / А.С. Сметнев, А.А. Гросу, Н.М. Шевченко // Кишинев: Штиница, 1990. 325 с.
- 55. Сыров, А.В. Ивабрадин в клинической практике / А. В. Сыров // Consilium Medicum. 2017. Т. 19. № 5. С. 68-71.
- 56. Тимершина, А. А. Сравнительная характеристика других антиангинальных средств: ивабрадин и ранолазин / А. А. Тимершина // Forcipe. 2019. Т. 2. № S1. С. 855.
- 57. Толстиков, Г.А. Синтез и реакционная способность N-замещенных аминоамидов, антиаритмическая и местноанестезирующая активность / Успехи химии, т. 60, вып. 4, 1991 г, с. 852-888.
- 58. Федеральный закон №61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010 г.
- 59. Фомина, И.Г. Пропафенон при восстановлении синусового ритма у больных с персистирующей формой фибрилляции предсердий / И.Г. Фомина, А.И. Тарзиманова, А.В. Ветлужский [и др.] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2006. Т. 2. № 1. С. 37-40.
- 60. Хаитов, Р.М. Методические указания по оценке иммунотоксического действия фармакологических веществ / Р.М. Хаитов, А.С. Иванова, Т.Б. Мастернак [и др.] // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2005. С. 70-86.

- 61. Харкевич, Д.А. Основы фармакологии / Д. А. Харкевич. 2-е издание, исправленное и дополненное. Москва: Общество с ограниченной ответственностью Издательская группа "ГЭОТАР-Медиа", 2015. 720 с.
- 62. Хоанг, Д.К. Синтез и биологическая активность N-(2-аминоэтил)-N-(2-гидрокси-2-фенилэтил)карбоксамидов арилалифатического ряда / Д.К. Хоанг, Е.Я. Борисова, Н.Ю. Борисова [и др.] // Известия Академии наук. Серия химическая. 2018. № 1. С. 131-136.
- 63. Хоанг, Д.К. Алифатические и арилалифатические N-(аминоалкил)амиды. Синтез, свойства и биологическое действие : диссертация ... кандидата химических наук : 02.00.03 / Хоанг Дык Куанг; [Место защиты: Моск. гос. технол. ун-т]. Москва, 2018. 149 с. : ил.
- 64. Чазов, Е.И. Создание лекарственных средств аналогов защитных систем организма / Е. И. Чазов // Казанский медицинский журнал. $2011. T. 92. N_2 5. C. 672-676.$
- 65. Чазов, Е.И. Защитные системы организма как основа поиска и разработки новых оригинальных лекарственных средств / Е.И. Чазов // Вестник Российской академии медицинских наук. 2012. Т. 67. № 5. С. 6-7.
- 66. Чазов, Е.И. Обращение главного редактора Академика Чазова Е. И / Е.И. Чазов // Евразийский кардиологический журнал. 2011. № 1. С. 5.
- 67. Черногоров, И.А. Нарушения ритма сердца / И.А. Черногоров. М.: Медгиз, 1962 г. 371 c.
- 68. Чичканов, Г.Г. Сопоставление фармакодинамики и фармакокинетики нового специфического брадикардического средства Брадизола / Г. Г. Чичканов, В.П. Жердев, И.Б. Цорин [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2000. Т. 63. № 3. С. 29-32.
- 69. Чучалин, А.Г. Российская терапевтическая школа: Д.Д. Плетнев, А.Л. Мясников, Е.И. Чазов / А.Г. Чучалин // Атеросклероз и дислипидемии. 2019. № 3(36). С. 45-50.
- 70. Шейх-Заде, Ю.Р. Особенности кардиотропного влияния аконитина / Ю.Р. Шейх-Заде, И.Л. Чередник, П.А. Галенко-Ярошевский // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2000. Т. 129. № 4. С. 434-436.
- 71. 2017 AHA/ACC/HRS guideline for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society / S. M. Al-Khatib, W. G. Stevenson, M. J. Ackerman [et al.] // Heart Rhythm. 2018. Vol. 15. No 10. P. 73-189.

- 72. Ames, B.N. An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens / B.N. Ames, F.D. Lee, W.E. Durston // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1973. No 3. P. 782-786.
- 73. Afzal, M.R. Techniques for successful early retrieval of the Micra transcatheter pacing system: A worldwide experience / M.R. Afzal, E.G. Daoud, R. Cunnane [et al.] // Heart Rhythm. 2018. No 15(6). P. 841-846.
- 74. Al-Khatib, S.M., 2017 AHA/ACC/HRS guideline for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death: Executive summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society / S.M. Al-Khatib, W.G. Stevenson, M.J. Ackerman [et al.] // Heart Rhythm. 2018. Vol. 15. No 10. P. 190-252.
- 75. Al-Khatib, S.M., 2020 ACC/AHA guideline for the management of patients with valvular heart disease: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines / S.M. Al-Khatib, A. Armbruster, K.K. Britcher [et al.] // Thorac Cardiovasc Surg. 2021. Vol. 62. No 2. P. 183-353.
- 76. Antonelli, D. Propafenone dose for emergency conversion of paroxysmal atrial fibrillation / D. Antonelli, A. Darawsh, S. Rimbrot [et al.] / Harefuah. 1999. Vol. 136. No 11. P. 857-915.
- 77. Arzamastsev, E.V. The safety of drugs at the stage of screening and preclinical toxicological studies / E.V. Arzamastsev // Lab. Zhyvotnue. 1991. Vol. 1. No 2. P. 60-64.
- 78. Baryshnikova, G.A. Use of Verapamil and Dilthiasem in treating patients at high cardiovascular risk (review of literature) / G.A. Baryshnikova, S.A. Chorbinskayva, I.I. Stepanova [et al.] // Meditsina truda i promyshlennaia ekologiia. 2016. Vol. 2. P. 15-18.
- 79. Beaussier, M. Perioperative Use of Intravenous Lidocaine / M. Beaussier, A. Delbos, A. Maurice-Szamburski [et al.] // Drugs. 2018. Vol. 78. No 12. P. 1229-1246.
- 80. Belardinelli, L. Cardiac late Na⁺ current proarrhythmic effects, roles in long QT syndromes, and pathological relationship to CaMKII and oxidative stress / L. Belardinelli, W.R. Giles, S. Rajamani, H.S. Karagueuzian // Heart Rhythm. 2015. Vol. 12. P. 440-448.
- 81. Bohnen, M.S. Molecular pathophysiology of congenital long QT syndrome / M.S. Bohnen, G. Peng, S.H. Robey [et al.] // Physiol Rev. 2017. Vol. 97. P. 89–134.

- 82. Bongiorni, M.G. Future management of cardiac arrhythmias: the shape of the world to come / M.G. Bongiorni // Minerva Cardioangiol. 2018. Vol. 66. No 1. P.38-39.
- 83. Boriani, G. Propafenone for conversion of recent-onset atrial fibrillation: a controlled comparison between oral loading dose and intravenous administration / G. Boriani, A. Capucci, T. Lenzi [et al.] // Chest. 1995. Vol. 108. P.355–358.
- 84. Bozic, B. The Role of Quinidine in the Pharmacological Therapy of Ventricular Arrhythmias 'Quinidine' / B. Bozic, T.V. Uzelac, A. Kezic [et al.] // Mini Rev Med Chem. 2018. Vol.18. No 6. P. 468-475.
- 85. Brodniewicz, T. Preclinical drug development / T. Brodniewicz, G. Grynkiewicz // Acta Pol Pharm. 2010. Vol. 67. No 6. P. 578-585.
- 86. Calcium Channel Blockers. In: LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2017.
- 87. Calvo, D. Mechanisms and drug development in atrial fibrillation / D. Calvo, D. Filgueiras-Rama, J. Jalife // Pharmacol Rev. 2018. Vol. 70. P. 505–525.
- 88. Camm, A.J. A Randomized Active-Controlled Study Comparing the Efficacy and Safety of Vernakalant to Amiodarone in Recent-Onset Atrial Fibrillation / A.J. Camm, A. Capucci [et al.] // Journal of the American College of Cardiology. 2011. Vol. 57. No 3.
- 89. Camm, A.J. Hopes and disappointments with antiarrhythmic drugs / A.J. Camm // International Journal of Cardiology. 2017. Vol. 237. P. 71-74.
- 90. Camm, A.J. Cardiac electrophysiology of four new antiarrhythmic drugs-encainide, flecainide, lorcainide and tocainide / A.J. Camm // Eur Heart J. 1984. P. 75-79.
- 91. Campbell, T.J. Therapeutic drug monitoring: antiarrhythmic drugs / T.J. Campbell, K.M. Williams // Br J Clin Pharmacol. 2001. Vol. 52. Suppl. P. 21-34.
- 92. Capel, R.A. The importance of Ca(2+)-dependent mechanisms for the initiation of the heartbeat / R.A. Capel, D.A. Terrar // Front Physiol. 2015. Vol. 6. P. 80.
- 93. Chadda, K.R. Sodium channel biophysics, late sodium current and genetic arrhythmic syndromes / K.R. Chadda, K. Jeevaratnam, M. Lei, C.L. Huang // Pflugers Arch. 2017. Vol. 469. P. 629–641.
- 94. Dahlbom, R., Lignocaine / R. Dahlbom, A. Hollman // Br Heart J. 1991. Vol. 65. No 3. P. 165.
- 95. David, D. Substituted sulfonamidobenzamidea and method of treating arrhythmias / United States Patent № 4629739 // D. David, N.J. Sucassunna, C. William. Dec. 16, 1987.

- 96. Deichman, W.B. Determination of the approximate lethal dose with about six animals / W.B. Deichman, T.J. Le Blanc // J. Indust. Hyg. ToxicoL. 1943. Vol. 25. No 9. P. 415.
- 97. Deneer, V. Oral antiarrhythmic drugs in converting recent onset atrial fibrillation / V. Deneer, M. Borgh, J. Kingma [et al.] // Pharm World Sci. 2004. Vol. 26. No 2. P. 66–78.
- 98. Diness, J.G. Termination of Vernakalant-Resistant Atrial Fibrillation by Inhibition of Small-Conductance Ca2+-Activated K+ Channels in Pigs / J.G. Diness, L. Skibsbye, R. Simó-Vicens [et al.] // Circ Arrhythm Electrophysiol. 2017. Vol. 10. No 10.
- 99. Djerada, Z. Intravenous single administration of amiodarone and breastfeeding / Z. Djerada // Fundam Clin Pharmacol. 2019. Vol. 33. No 3. P. 365-366.
- 100. Doki, K. Use of Pharmacogenetic Information for Therapeutic Drug Monitoring of an Antiarrhythmic Drug / K. Doki, // Yakugaku Zasshi. 2018. Vol. 138. No 9. P. 1145-1150.
- 101. Drayer, D.E. N-acetylprocaineamide: an active metabolite of procaineamide / D.E. Drayer, M.M. Reidenberg, R.W. Sevy // Proceedings of the society for Experimental Biology and Medicine. -1977. –Vol. 146. No 2. P.358-363.
- 102. Dunn, L.K. Perioperative Use of Intravenous Lidocaine / L.K. Dunn, M.E. Durieux // Anesthesiology. 2017. Vol. 126. No 4. P. 729-737.
- 103. Eiriksson, C.E. Lorcainide. A preliminary review of its pharmacodynamic properties and therapeutic efficacy / C.E. Eiriksson, R.N. Brogden // Drugs. 1984. Vol. 27. No 4. P. 279-300.
- 104. Epstein, A.E. Practical Management Guide for Clinicians Who Treat Patients with Amiodarone / A.E. Epstein, B. Olshansky, G.V. Naccarelli [et al.] // Med. 2016. –Vol. 129. No 5. P. 468-475.
- 105. Etchegoyen, C.V. Drug-induced QT Interval Prolongation in the Intensive Care Unit. / C.V. Etchegoyen, G.A. Keller, S. Mrad [et al.] // Curr Clin Pharmacol. 2017. Vol. 12. No 4. P. 210-222.
- 106. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, ETS 123, Strasbourg, 1986.
- 107. Ferrari, F. Digoxin in Atrial Fibrillation: An Old Topic Revisited / F. Ferrari, R. Stein // Curr Cardiol Rev. 2020. Vol. 16. No 2. P. 141-146.
- 108. Fetsch, T. Prevention of atrial fibrillation after cardioversion: results of the PAFAC trial / T. Fetsch, P. Bauer, R. Engberding [et al.] // Eur Heart J. 2004. Vol. 25. P. 1385–1394.
- 109. Foster, M.N. KATP channels in the cardiovascular system / M.N. Foster, W.A. Coetzee // Physiol Rev. 2016. Vol. 96. P. 177–252.

- 110. Gangwar, A. Noninvasive measurement of systolic blood pressure in rats: a novel technique / A. Gangwar, P. Kumar, A. Rawat, S. Tiwari // Indian J Pharmacol. 2014. Vol. 46. No 3. P. 351-352.
- 111. Graeff, Ch. Noninvasive Cardiac Arrhythmia Ablation With Particle Beams / Ch. Graeff, Chr. Bert // Med Phys. 2018. Vol. 45. No 11. P. 1024-1035.
- 112. Hall, A.J. Introducing Vernakalant into Clinical Practice / A.J., Hall, A.R. Mitchell // Arrhythm Electrophysiol Rev. 2019. Vol. 8. No 1. P. 70-74.
- 113. Haverkamp, W. Clinical aspects of treatment with amiodarone / W. Haverkamp, C. Israel, A. Parwani // Herzschrittmacherther Elektrophysiol. 2017. Vol. 28. No 3. P. 307-316.
- 114. Hirakawa, R. Block of Na+ currents and suppression of action potentials in embryonic rat dorsal root ganglion neurons by ranolazine / R. Hirakawa, N. El-Bizri, J.C. Shryock [et al.] // Neuropharmacology. 2012. Vol. 62. No 7. P. 2251-2260.
- 115. Hoffman, B.F. Cellular mechanisms for cardiac arrhythmias / B.F. Hoffman, M.R. Rosen // Circ Res. 1981. Vol. 49. P. 1–15.
- 116. Hofmann, F. L-type CaV1.2 calcium channels: from in vitro findings to in vivo function / F. Hofmann, V. Flockerzi, S. Kahl, J.W. Wegener // Physiol Rev. 2014.- Vol. 94. P. 303–326.
- 117. Huang, C.L. Murine electrophysiological models of cardiac arrhythmogenesis / C.L. Huang // Physiol Rev. 2017. Vol. 97. P. 283–409.
- 118. Huang, C.L. Update on antiarrhythmic drug pharmacology / C.L Huang, L. Wu, K. Jeevaratnam, M. Lei // J. Cardiovasc. Electrophysiol. 2020. Vol. 31. No 2. P. 579-592.
- 119. Hund, T.J. Role of CaMKII in cardiac arrhythmias / T. J. Hund, P.J. Mohler // Trends Cardiovasc Med. 2015. Vol. 25. P. 392–397.
- 120. Ide, T. Ivabradine for the Treatment of Cardiovascular Diseases / T. Ide, K. Ohtani, T. Higo [et al.] // Circ J. 2019, Vol. 83. No 2. P. 252-260.
- 121. January, C.T. 2014 AHA/ACC/HRS guideline for the management of patients with atrial fibrillation: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society / C.T. January, L.S. Wann, J.S. Alpert // J Am Coll Cardiol. 2014. Vol. 64. P. 1-76.
- 122. Jeevaratnam, K. Sodium channel haploinsufficiency and structural change in ventricular arrhythmogenesis / K. Jeevaratnam, L. Guzadhur, Y.M. Goh, Y.M. [et al.] // Acta Physiol (Oxf). 2016. Vol. 216. P. 186–202.
- 123. Jerne, N.K., Plaque Formation in Agar by Single Antibody-Producing Cells / N.K. Jerne, A.A. Nordin // Science. 1963. Vol. 26. No 140. P. 405.

- 124. John, R.M. Ventricular arrhythmias and sudden cardiac death / R.M. John, U.B. Tedrow, B.A. Koplan [et al.] // The Lancet. 2012. vol. 380. No 9852. P. 1520-1529.
- 125. Keefe, D.L. Pharmacology of lorcainide / D.L. Keefe // Am J Cardiol. 1984. Vol. 13. No 4. P. 18-21.
- 126. Kidwell, G.A. Drud-induced ventricular proarrhythmia / G.A. Kidwell // Cardiovascular clinics. 1992. Vol. 22. P. 317.
- 127. Kilbey, B.J. Handbook of Mutagenicity Test Procedures / B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nicholson, C. Ramel // ELSEVIER, 1984.
- 128. Khan, I. Single oral loading dose of propafenone for pharmacological cardioversion of recent-onset atrial fibrillation / I. Khan // J Am Coll Cardiol. 2001, Vol. 37. No 2. P. 542–547.
- 129. Kudenchuk, P.J. Antiarrhythmic Drugs for Nonshockable-Turned-Shockable Out-of-Hospital Cardiac Arrest: The ALPS Study (Amiodarone, Lidocaine, or Placebo). Resuscitation Outcomes Consortium Investigators / P.J. Kudenchuk, B.G. Leroux, M. Daya [et al.] // Circulation. 2017. Vol. 136. No 22. P. 2119-2131.
- 130. Kumar, P.D. Review: Digoxin does not affect all-cause mortality but reduces hospital admissions / P.D. Kumar // Ann Intern Med. 2015. Vol. 163. No 12. P. 11.
- 131. Kurtenbach, S. Gap junction modulation and its implications for heart function / S. Kurtenbach, G. Zoidl // Front Physiol. 2014. Vol. 5. P. 82.
- 132. Lafuente-Lafuente, C. Antiarrhythmics for maintaining sinus rhythm after cardioversion of atrial fibrillation / C. Lafuente-Lafuente, M. Longas-Tejero, J. Bergmann, J. Belmin // Cochrane Database Syst Rev. 2012. Vol. 5.
- 133. Lam, P.H. Role of High-Dose Beta-Blockers in Patients with Heart Failure with Preserved Ejection Fraction and Elevated Heart Rate / P.H Lam, N. Gupta, D.J. Dooley [et al.] // Am J Med. 2018. Vol. 131. No 12. P. 1473-1481.
- 134. Lei, M. Modernized classification of cardiacantiarrhythmic drugs / M. Lei, L. Wu, D.A. Terrar, C.L. Huang // Circulation. 2018. Vol. 138. P. 1879–1896.
- 135. Li, W. How CaV1.2-bound verapamil blocks Ca2+ influx into cardiomyocyte: Atomic level views / W. Li, G. Shi // Pharmacol Res. 2019. Vol.139. P. 153-157.
- 136. Lim, R.K. A method for evaluation of cumulation and tolerance by the determination of acute and subchronic median effective doses / R.K. Lim, K.G. Rink, H.G. Glass // Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 1961. No130. P.336-353.
- 137. Litchfild, J.T. A simplified method of evaluating dose-effect experiments / J.T. Litchfild, F. Wilcoxon // J Pharmacol Exp Ther. 1949. Vol. 96. No 2. P. 99-113.

- 138. Lopes, R.D. Digoxin and Mortality in Patients With Atrial Fibrillation / R.D. Lopes, R. Rordorf, G.M. De Ferrari [et al.] // J Am Coll Cardiol. 2018. Vol. 71. No 10. P. 1063-1074.
- 139. Lumma, W.C. Rational design of 4-[(methylsulfonyl)amino]benzamides as class III antiarrhythmic agents / W.C. Lumma, R.A. Wohl, D.D. Davey [et al.] // J Med Chem. 1987. Vol. 30. No 5. P. 755-758.
- 140. Luster, M.I. Immunotoxicology testing: past and future / M.I. Luster, G.F. Gerberick // Methods Mol Biol. 2010. Vol. 598. P. 3-13.
- 141. Luster, M.I. A historical perspective of immunotoxicology / M.I. Luster // J Immunotoxicol. 2014. Vol. 11. No 3. P. 197-202.
- 142. Martínez-Milla, J. Role of Beta-blockers in Cardiovascular Disease in 2019 / J. Martínez-Milla, S. Raposeiras-Roubín, D.A. Pascual-Figal, B. Ibáñez // Rev Esp Cardiol (Engl Ed). 2019. Vol. 72. No 10. P. 844-852.
- 143. Masoudi, F.A. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: executive summary: a report of the American College of Cardiology 2013; Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines / F.A. Masoudi, P.E. McBride, J.J. McMurray [et al.] // Circulation. 2013. Vol. 128. P. 1810–1852.
- 144. Morgan, J.R. Substituted 4-(1H-imidazol-1-yl)benzamides as antiarrhythmic agents / United States Patent № US-4804662-A // J.R. Morgan, K. Nickisch, L. Randall, J.R. Lumma, W. Ronald // Feb. 14, 1989.
- 145. Namdar, M. Emerging biomarkers for cardiac arrhythmias / M. Hamdar, A. Hammerer-Lercher, N. Vuilleumier N // Clin Biochem. 2020. Vol. 75. P. 1-6.
- 146. Nattel, S. Arrhythmogenic ion-channel remodeling in the heart: heart failure, myocardial infarction, and atrial fibrillation / S. Nattel, A. Maguy, S. Le Bouter, Y.H. Yeh // Physiol Rev. 2007. Vol. 87. P. 425–456.
- 147. Ogrodowczyk, M. Beta-Blockers: Current State of Knowledge and Perspectives / M. Ogrodowczyk, K. Dettlaff, A. Jelinska // Mini Rev Med Chem. 2016. Vol. 16. No 1. P. 40-54.
- 148. Oliver, E. Beta-blockers: Historical Perspective and Mechanisms of Action / E. Oliver, F. Jr.Mayor, P. D'Ocon // Rev Esp Cardiol (Engl Ed). 2019. Vol. 72. No 10. P. 853-862.
- 149. Page, R.L. Evidence Review Committee Chair. 2015 ACC/AHA/HRS guideline for the management of adult patients with supraventricular tachycardia: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society / R.L. Page, J.A. Joglar, M.A. Caldwell [et al.] // Circulation. 2016. Vol. 133. P. 506–574.
- 150. Pieters, R. The popliteal lymph node assay in predictive testing for autoimmunity / R. Pieters // Toxicol Lett. 2000. Vol. 15. P. 112-113.

- 151. Pieters, R. Detection of autoimmunity by pharmaceuticals / R. Pieters // Methods. 2007. Vol. 41. No 1. P. 112-117.
- 152. Polytarchou, K. Ranolazine and its Antiarrhythmic Actions / K. Polytarchou, A.S. Manolis // Cardiovasc Hematol Agents Med Chem. 2015. Vol. 13. No 1. P. 31-39.
- 153. Randall, L.O. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue / L.O. Randall, J.J. Selitto // Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 1957. -Vol. 111. No 4. P. 409-419.
- 154. Rathbun, R.C. Amitriptuline and nortriptyline as antagonists of central and peripheral cholinergic activation / R.C. Rathbun, J.H. Slater // Psychopharmacol. 1963. Vol.13d. No 40. P. 111-125.
- 155. Ravel, G. Popliteal lymph node assay: facts and perspectives / G. Ravel, J. Descotes // J Appl Toxicol. 2005. Vol. 25. No 6. P. 451-458.
- 156. Roden, D. Torsade de pointes / D. Roden // Clinical Cardiology. 1993. Vol. 16. No 9. P. 656–683.
- 157. Rosen, M.R. Consequences of the Sicilian Gambit / M.R. Rosen // Eur Heart J. 1995. Vol.16 (suppl G). P. 32–36.
- 158. Rosen, M.R. Concept of the vulnerable parameter: the Sicilian Gambit revisited / M.R. Rosen, M.J. Janse // Cardiovasc Pharmacol. 2010. Vol. 55. P. 428–437.
- 159. Salvage, S.C. Multiple targets for flecainide action: implications for cardiac arrhythmogenesis / S.C. Salvage, K.H. Chandrasekharan, K. Jeevaratnam [et al.] // Br J Pharmacol. 2018. Vol. 175. P. 1260–1278.
- 160. Sanchez-Nadales, A. Disopyramide for Hypertrophic Cardiomyopathy / A. Sanchez-Nadales, A. Anampa-Guzmán, A. Khan // Cureus. 2019. Vol. 23. No 11. P. 4526.
- 161. Savio-Galimberti, E. Channel activity of cardiac ryanodine receptors (RyR2) determines potency and efficacy of flecainide and R-propafenone against arrhythmogenic calcium waves in ventricular cardiomyocytes / E. Savio-Galimberti, B.C. Knollmann // PLoS One. 2015. Vol. 10.
- 162. Scalese, M.J. Role of Digoxin in Atrial Fibrillation / M.J. Scalese, D.J. Salvatore // J Pharm Pract. 2017. Vol. 30. No 4. P. 434-440.
- 163. Sheikh-Zade, Y.R. Features of cardiotropic influence of aconitine / Y.R. Sheikh-Zade, I.L. Cherednik, P.A. Galenko-Yaroshevsky // Bull. of Exper. biol. and med. 2000. Vol.129. No 4. P. 434-436.
- 164. Schmitt, N. Cardiac potassium channel subtypes: new roles in repolarization and arrhythmia / N. Schmitt, M. Grunnet, S.P. Olesen // Physiol Rev. -2014. Vol. 94. P. 609-653.

- 165. Schneider, B. Arzneimittelsicherheit und therapeutischer Index. Prinzipien des pharmakologishen Screenings und der ÜbertragbarkeitErgebnisse auf die Klinik / B. Schneider / Arzneim. Forsch. 1982. Vol. 32. No 5. P. 471-474.
- 166. Schönenberger, H. Synthese und Prüfung auf Herz-Kreislauf-Wirkung von N-(3'-Methoxybenzamidomethyl)-D-norephedrin und analogen Verbindungen / H. Schönenberger, A. Petter, V. Kühling, L. Bindl // Arch Pharm (Weinheim). 1976. –Vol. 309. No 4. P. 289-301.
- 167. Somani, P. Antiarrhythmic effects of flecainide / P. Somani // Clin Pharmacol Ther. 1980. Vol. 27. No 4. P. 464-470.
- 168. Sundjaja, J.H. Disopyramide / J.H. Sundjaja, A.N. Makaryus // In: StatPearls [Internet]. 2022. PMID: 32491366.
- 169. Szekeres, L. Experimental models for the study of antiarrhytmic agents / L. Szekeres // Progr. Pharmacol. 1979. Vol. 2. No 4. P. 25-31.
- 170. Task Force of the Working Group on Arrhythmias, the European Society of Cardiology. The Sicilian Gambit: a new approach to the classification of antiarrhythmic drugs based on their actions on arrhythmogenic mechanisms. Circulation. 1991. Vol. 84. P. 1831–1851.
- 171. The Cardiac Arrhythmia Suppression trial (CAST) Investigators. Preliminary report: effect of encainide and flecainide on mortality in a randomized trial of arrhythmia suppression after myocardial infarction // N. Engl. J. Med. 1989. Vol. 321. No 6. P. 406-412.
- 172. Torres Filho, I.P. Automated noninvasive evaluation of blood flow and oxygenation in rats integrated with systemic physiological monitoring [published correction appears in J Trauma Acute Care Surg. 2020 Apr;88(4):577] / I.P. Torres Filho, D. Barraza, C. Williams, K. Hildreth, M.A. Dubick // J Trauma Acute Care Surg. 2019. Vol. 87. Suppl 1. P. 110-118.
- 173. Tsuda, T. Amiodarone-induced reversible and irreversible hepatotoxicity: two case reports / T. Tsuda, H. Tada, Y. Tanaka [et al.] // J Med Case Rep. 2018. Vol. 14. No 12. P. 95.
- 174. Uhlig, C. Betablocker im septischen Schock / C. Uhlig, P.M. Spieth // Anasthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther. 2018. Vol. 53. No 11. P. 787-792.
- 175. Vamos, M. Digoxin-associated mortality: a systematic review and meta-analysis of the literature / M. Vamos, J.W. Erath, S.H. Hohnloser // Eur Heart J. 2015. Vol. 36. No 28. P. 1831-1838.
- 176. Vaughan Williams, E.M. Classification of antidysrhythmic drugs / E.M. Vaughan Williams // Pharmacol Ther B. 1975. Vol. 1. P. 115–138.
- 177. Vitali Serdoz, L. Quinidine-A legacy within the modern era of antiarrhythmic therapy / L. Vitali Serdoz, H. Rittger, F. Furlanello, D. Bastian // Pharmacol Res. 2019. Vol. 144. P. 257-263.

- 178. Wang, Y. Novel insights into mechanisms for Pak1-mediated regulation of cardiac Ca(²⁺) homeostasis / Y. Wang, H. Tsui, E.L. Bolton [et al.] // Front Physiol. 2015. P. 76.
- 179. Wang, Z.Q. Digoxin Is Associated With Increased All-cause Mortality in Patients With Atrial Fibrillation Regardless of Concomitant Heart Failure: A Meta-analysis / Z.Q. Wang, R. Zhang, M.T. Chen [et al.] // J Cardiovasc Pharmacol. 2015. Vol. 66. No 3. P. 270-275.
- 180. Weaver, J.L. Evaluation of a lymph node proliferation assay for its ability to detect pharmaceuticals with potential to cadrug reactions / J.L. Weaver, J.M. Chapdelain, J. Dascotes //J. Immunotoxicol. 2005. Vol. 2. No 1. P. 11-20.
- 181. Wray, H. Flecainide (Tambocor)-a new anti-arrhythmia agent / H. Wray, M. Corbey // Tidsskr Nor Laegeforen. 1989. Vol. 109. No 1. P. 92-94.
- 182. Yancy, C.W. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: executive summary: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines / C.W. Yancy, M. Jessup, B. Bozkurt [et al.] // Circulation. 2013. Vol. 128. P. 1810–1852.