

А. Г. Михайловский*, Е. С. Погорелова, И. П. Рудакова,
А. В. Старкова, Н. Н. Першина

АНТИАРИТМИЧЕСКАЯ, ГЕМОСТАТИЧЕСКАЯ, АНТИГЕЛЬМИНТНАЯ И ЛАРВИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ 3,3-ДИАЛКИЛ-ЗАМЕЩЕННЫХ АНАЛОГОВ ДРОТАВЕРИНА

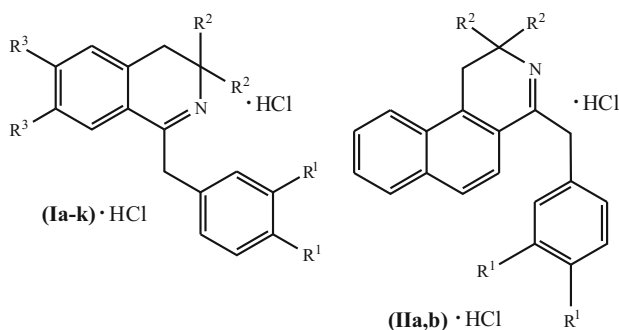
ФГБОУ "Пермская государственная фармацевтическая академия" Минздрава РФ, Россия, 614990, Пермь, ул. Полевая, 2.

* e-mail: neorghim@pfa.ru

Полученные ранее гидрохлориды 1-[3,4-(R¹)₂-бензил]-3,3-(R²)₂-6,7-(R³)₂-3,4-дигидроизохинолинов (R¹ = H, MeO, EtO, R² = Alk, R³ = MeO, EtO) и их бензо[*f*]-аналоги являются водорастворимыми соединениями. Это преимущество позволяет использовать их для дополнительных биологических испытаний на ряд активностей, таких как антиаритмическая, гемостатическая, антигельминтная и ларвицидная. Гидрохлориды всех изохинолинов испытаны на антиаритмическую активность (хлоридкальциевая модель), 7 соединений из 13 показали антиаритмическую активность, максимальный антиаритмический индекс составил 3,97. По влиянию на свертываемость крови полученные изохинолины являются преимущественно коагулянтами (гемостатиками), наиболее активное соединение повышает свертываемость крови на 46,6 %. Все соединения по антигельминтной активности превосходят пирантел, по ларвицидной (инсектицидной) активности наиболее активное соединение показывает эффект, равный диазину.

Ключевые слова: гидрохлориды 1-[3,4-(R¹)₂-бензил]-3,3-(R²)₂-6,7-(R³)₂-3,4-дигидроизохинолинов и их бензо[*f*]-аналоги; хлоридкальциевая модель аритмии; гемостатическая активность; антигельминтная активность; ларвицидная активность.

Ранее по реакции Риттера получены гидрохлориды 3,3-диалкилзамещённых аналогов дротаверина общей формулы **(Ia-k)** · HCl и схожих с ними бензо[*f*]изохинолинов **IIa,b** · HCl (структура заместителей приведена далее в табл. 1), изучена анальгетическая активность синтезированных соединений [1].



В результате получены данные по анальгетической (антиноцицептивной) активности для 13 соединений. Необходимо сказать, что в приводимых методиках не использовано важное с точки зрения фармакологии свойство полученных веществ — их растворимость в воде. Известно, что применяемые в медицине изохинолины представляют собой водорастворимые гидрохлориды [2 – 5]. Водорастворимость повышает биодоступность, лекарство сразу при введении поступает в кровь, эффект наступает часто уже “на кончике иглы”. Вещество становится перспективным в качестве потенциального средства скорой помощи, что особенно важно при сердечно-сосудистых заболеваниях, таких как аритмия, артериальная гипертензия, повышенная или пониженная свертываемость крови и т.п.

Целью данной работы является дальнейшее изучение активности веществ **(Ia-k)** · HCl и **IIa,b** · HCl с учётом их водорастворимости, а также связи активно-

сти со строением. Для фармакологических исследований выбраны такие виды действия как антиаритмическое, влияние на свертываемость крови, изучены также антигельминтная и инсектицидная (ларвицидная) активность.

Антиаритмическая активность изохинолинов вызывает постоянный интерес исследователей, что отражено, например, в работах [6, 7]. Ранее исследована антиаритмическая активность хлоридов 3,3-диалкил-3,4-дигидроизохинолинов с разнообразными заместителями в положении 1 [8 – 11]. Изучено также влияние соединений этого ряда на свертываемость крови, при этом среди исследуемых веществ оказались как антиагреганты и антикоагулянты [12 – 19], так и гемостатики [20]. С учетом ранее полученных данных об антигельминтной и инсектицидной активности 3,3-диалкил-1,2,3,4-тетрагидроизохинолинов [21] представляет интерес исследование веществ **(Ia-k)** · HCl и **IIa,b** · HCl на данные виды активности.

Экспериментальная химическая часть описана в работе [1].

Экспериментальная фармакологическая часть

Опыты проводились на беспородных белых мышках обоего пола массой 18 – 24 г, полученных из питомника “Андреевка” Московской области. Животные содержались в типовом виварии с естественным 12-часовым светотеневым циклом, при температуре воздуха 20 ± 2 °С. Их питание осуществлялось в соответствии с нормами кормов для экспериментальных животных. У животных был неограниченный доступ к воде с помощью специальных поилок для грызунов. Предварительно производился санитарно-химический и бактериологический анализ воды. Содержание животных

соответствовало правилам лабораторной практики (GLP) и Приказу МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г. “Практика надлежащей лабораторной практики”.

Острую токсичность соединений определяли при внутривенном способе введения [22]. Антиаритмическую активность исследовали на модели аритмии, вызванной внутривенным введением 3 % раствора хлорида кальция, в дозе 280 мг/кг [23], в качестве препарата сравнения использовали новокаинамид.

Исследуемые вещества вводили за 2 мин до воспроизведения аритмии, их активность оценивали по способности предупреждать смертельные нарушения сердечного ритма.

Среднесмертельную и эффективную антиаритмическую дозы определяли экспресс-методом [22]. Для определения каждой дозы использовали группу из 8 животных.

Исследования влияния соединений на время свертывания крови проведены с помощью коагулометра АПГ-02-П (Россия). Использовали цитратную (3,8 %) кровь (9:1) кроликов. Для определения активности в кювету помещали 50 мкл крови и добавляли 50 мкл 0,2 % раствора исследуемого соединения. Все соединения исследовали в одинаковой концентрации. Для контроля добавляли 50 мкл изотонического раствора хлорида натрия. В качестве препарата сравнения использовали 50 мкл раствора этамзилата в концентрации 0,2 % и гепарина в концентрации 1 ед. на мл крови. Пробы инкубировали 60 с, добавляли 50 мкл 1 % раствора хлорида кальция и проводили измерения.

Этамзилат выбран в качестве препарата сравнения, так как это наиболее часто назначаемый препарат при нарушениях свертываемости крови и других геморрагических состояниях. Использовали раствор для внутривенного и внутримышечного введения 125 мг/мл в ампулах по 2 мл, производитель Lek (Словения).

Статистическую обработку проводили с использованием критерия Стьюдента [24]. Эффект считали достоверным при $p < 0,05$.

Исследование антигельминтной активности проводили на дождевых червях по методике М. П. Николаева [25]. В чашку Петри помещали 5 мл 0,5 % раствора исследуемого соединения и погружали 5 особей дождевых червей, отобранных в соответствии с их длиной 5 – 8 см и диаметром 3 – 5 мм. Время наступления смерти каждой особи фиксировали по прекращению двигательной активности в ответ на механическое раздражение. В воде очищенной черви могут жить около суток (контроль). Препаратами сравнения выбраны широко применяемые в практике антигельминтные препараты пирантел и левамизол [26].

Ларвицидная активность изучалась сходно с антигельминтной. В чашку Петри помещали 5 мл 0,1 % водного раствора исследуемых соединений и погружали 5 личинок комаров *Chironomidae* (мотыль). Время наступления смерти каждой особи фиксировали по прекращению двигательной активности в ответ на механическое раздражение. В качестве препаратов сравнения взяты имидаклоприд, пиримифос и диазинон [27, 28].

В опытах использованы таблетки пирантел (Польфа, Польша), декарис (левамизол) фирмы Гедеон Рихтер (Венгрия), имидаклоприд (танрек) производства ЗАО “Август” (Россия), диазинон фирмы Фокс и Ко (Россия) и пиримифос производства ООО “Сингента” (Россия).

Результаты опытов статистически обработаны с использованием коэффициента Стьюдента, достоверным считали отличие при $p \leq 0,05$. Количество опытов составило 6 при определении антигельминтной активности и 10 при исследовании инсектицидной. При отсутствии антигельминтного или ларвицидного эффекта в течение 200 мин вещество рассматривалось в качестве мало перспективного для дальнейшего наблюдения.

Т а б л и ц а 1

Антиаритмическая активность соединений (Ia-k) · HCl и Па,b · HCl

Соединение	R ¹	2R ²	R ³	Антиаритмическая активность			
				ЛД ₅₀ , мг/кг	ЭД ₅₀ , мг/кг	АИ	относительная активность
Ia · HCl	OEt	2Me	OEt	12,9 (29,0 – 42,0)	–	–	–
Ib · HCl	OMe	2Me	OEt	14,1 (12,0 – 17,0)	–	–	–
Ic · HCl	H	2Me	OEt	14,1 (11,0 – 17,0)	–	–	–
Id · HCl	OEt	2Et	OEt	51,5 (42,0 – 63,0)	12,9 (11,0 – 15,0)	3,99	1,9
Ie · HCl	OMe	2Et	OEt	12,9 (11,0 – 15,0)	6,0 (4,8 – 7,4)	2,2	1,0
If · HCl	H	2Et	OEt	14,1 (11,0 – 17,0)	–	–	–
Ig · HCl	OMe	(CH ₂) ₄	OEt	14,1 (11,0 – 17,0)	7,0 (5,9 – 8,4)	2,0	1,0
Ih · HCl	H	(CH ₂) ₄	OEt	12,9 (11,0 – 15,0)	–	–	–
Ii · HCl	OEt	2Me	OMe	28,2 (24,0 – 32,0)	14,6 (11,0 – 20,0)	1,9	0,9
Ij · HCl	OEt	(CH ₂) ₄	OMe	28,2 (24,0 – 32,0)	–	–	–
Ik · HCl	OEt	(CH ₂) ₅	OMe	14,6 (11,0 – 20,0)	6,5 (5,6 – 7,5)	2,2	1,0
IIa · HCl	OEt	2Me	–	25,8 (21,0 – 32,0)	13,7 (10,0 – 19,0)	1,9	0,9
IIb · HCl	OEt	(CH ₂) ₄	–	29,0 (21,0 – 40,0)	7,3 (5,3 – 10,0)	3,97	1,8
	Новокаинамид			110 (100,0 – 121)	52 (40,0 – 67,5)	2,1	1

Влияние соединений (Ia-k) · HCl и IIa,b · HCl на свертываемость крови

Соединение	Время свертывания, с, контроль	Время свертывания, с, опыт	% Изменения свертываемости крови	N	p
Ia · HCl	152,1 ± 6,19	96,2 ± 4,00	+ 36,8	10	< 0,001
Ic · HCl	175,5 ± 5,69	113,8 ± 6,39	+ 35,2	10	< 0,001
Ie · HCl	163,8 ± 4,35	120,2 ± 6,94	+ 26,6	10	< 0,001
If · HCl	160,1 ± 3,98	129,9 ± 4,61	+ 18,9	10	< 0,001
Ig · HCl	189,4 ± 1,57	101,1 ± 3,52	+ 46,6	10	< 0,001
Ih · HCl	158,8 ± 3,69	131,7 ± 6,89	+ 17,1	10	< 0,01
Ii · HCl	148,6 ± 2,99	126,9 ± 3,68	+ 14,6	10	< 0,02
Ij · HCl	166,0 ± 4,74	128,1 ± 6,89	+ 22,8	10	< 0,02
Ik · HCl	178,8 ± 2,86	112,1 ± 3,24	+ 37,3	10	< 0,001
IIa · HCl	162,8 ± 3,55	140,8 ± 4,56	+ 13,5	10	< 0,01
Этамзилат	144,1 ± 7,83	121,0 ± 7,20	+ 16,0	10	< 0,05
Ib · HCl	149,3 ± 4,46	179,2 ± 4,52	- 20,0	10	< 0,001
Id · HCl	158,9 ± 3,16	178,2 ± 2,30	- 12,1	10	< 0,001
IIb · HCl	168,0 ± 4,49	177,7 ± 5,47	- 5,8	10	> 0,05
Гепарин	145,7 ± 9,64	618,3 ± 55,88	- 324,4	10	< 0,001

Результаты и их обсуждение

При исследовании антиаритмической активности получены результаты, приведенные в табл. 1.

Как видно из полученных данных (табл. 1), величины ЛД₅₀ исследуемых гидрохлоридов при внутривенном введении находятся в интервале 12,9 – 51,5 мг/кг, т.е. все вещества более токсичны, чем новокаинамид, у которого эта величина равна 110 мг/кг. Антиаритмический эффект проявили 7 соединений из 13. Величина ЭД₅₀ составляет 6,0 – 13,7 мг/кг, что превосходит новокаинамид, у которого ЭД₅₀ равна 52 мг/кг. Наиболее высокий антиаритмический индекс (АИ) имеет бензо[*f*]изохинолин IIb · HCl, у которого эта величина составляет 3,97, что превосходит новокаинамид (АИ = 2,1).

Исследования влияния на гемостаз (табл. 2) показали, что 9 веществ повышают свертываемость крови на 17,1 – 46,6 %, т.е. проявляют коагулянтное (гемостатическое) действие, превосходя по уровню эффекта этамзилат (16,0 %), соединение IIa несколько менее активно, чем этамзилат (13,5 %). Наиболее активным гемостатиком является гидрохлорид Ig, повышающий свертываемость крови на 46,6 %. Три соединения показали слабую антикоагулянтную активность (5,8 – 20,0 %).

Из данных табл. 3 видно, что все соединения проявляют антигельминтное действие, превосходя по уровню действия пирантел, уступая в то же время левамизолу, за исключением соединения IIi · HCl, эффект которого практически равен действию левамизола.

Как видно из табл. 3, 10 из 13 соединений проявляют ларвицидную активность, 5 из них имеют по данному виду активности показатель 18,0 – 39,2 мин (продолжительность жизни личинок комаров), что превосходит действие имидаклоприда (43,5 мин). Наиболее активно соединение 2с · HCl, равное по активности диазинону, вызывающее гибель личинок в течение 18 мин.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что проявлению антиаритмического эффекта в данном ряду соединений способствует наличие алкоксигрупп в обеих частях молекулы: как в изохинолиновом цикле, так и в бензильном фрагменте. Эффект также усиливается при бензо[*f*]-аннелировании изохинолинового цикла.

По влиянию на свертываемость крови изученные 1-бензилизохинолины являются преимущественно коагулянтами (гемостатиками). Уровень гемостатической активности снижается при отсутствии алкокси-

Таблица 3
Антигельминтная и ларвицидная активность соединений Ia-k · HCl и IIa,b · HCl

Соединение	Антигельминтная активность: продолжительность жизни червей, мин	Ларвицидная активность: продолжительность жизни личинок, мин
Ia · HCl	53,2 ± 5,70	36,0 ± 7,28
Ib · HCl	56,8 ± 3,14	39,2 ± 4,20
Ic · HCl	35,8 ± 1,93	18,0 ± 1,70
Id · HCl	35,0 ± 1,26	38,0 ± 4,74
Ie · HCl	29,6 ± 0,51	37,0 ± 8,42
If · HCl	31,4 ± 2,36	48,0 ± 7,83
Ig · HCl	38,4 ± 0,40	67,0 ± 9,76
Ih · HCl	35,4 ± 0,51	79,4 ± 11,63
Ii · HCl	18,0 ± 3,39	> 200
Ij · HCl	56,2 ± 2,69	45,6 ± 2,27
Ik · HCl	38,0 ± 0,84	57,6 ± 7,29
IIa · HCl	> 200	> 200
IIb · HCl	88,4 ± 10,32	> 200
Пирантел	215,0 ± 0,37	–
Левамизол	20,2 ± 2,08	–
Пиримифос	–	24,5 ± 1,69
Диазинон	–	17,0 ± 1,87
Имидаклоприд (танрек)	–	43,5 ± 3,39

групп в бензильной части молекулы. Бензо[f]-аннелирование на данный вид активности не влияет.

Антигельминтная и инсектицидная (ларвицидная) активность характерна для веществ, имеющих в своей структуре 1-бензилизохинолин, но не его бензо[f]-конденсированный аналог.

На основании анализа 4 видов действия для исследуемых веществ можно отметить гемостатическую активность, с учетом того, что в настоящее время круг гемостатиков довольно ограничен, а повышенная свертываемость крови часто является нежелательной.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Г. Михайловский, Е. С. Погорелова, С. В. Чашина, Н. Н. Першина, *Хим.-фарм. журн.*, **55**(1), 19 – 24 (2021); *Pharm. Chem. J.*, **55**(1), 17 – 22 (2021).
2. Е. А. Толмачев (ред.), *Справочник Видаль*, Видаль Рус, Москва (2018).
3. Г. Л. Вышковский (ред.), *Регистр лекарственных средств: Энциклопедия лекарств*, РЛС, Москва (2008).
4. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Новая волна, Москва (2017).
5. В. Г. Карцев (ред.), *Избранные методы синтеза и модификации гетероциклов. Природные изохинолины: химия и биологическая активность*, Ч. 8, ИСРФ, Москва (2011).
6. Э. А. Маркарян, Ж. С. Арустамян, С. В. Аветисян и др., *Хим.-фарм. журн.*, **34**(12), 5 – 7 (2000); *Pharm. Chem. J.*, **34**(12), 632 – 634 (2000).
7. С. В. Аветисян, Э. А. Маркарян, Ж. С. Арустамян, Р. Э. Маркарян, *Хим.-фарм. журн.*, **40**(7), 16 – 17 (2006); *Pharm. Chem. J.*, **40**(7), 360 – 362 (2006).
8. Р. З. Даутова, В. С. Шкляев, Б. Я. Сыропятов, А. Г. Михайловский, *Хим.-фарм. журн.*, **23**(2), 172 – 176 (1989); *Pharm. Chem. J.*, **23**(2), 133 – 136 (1989).
9. V. G. Kartsev, G. A. Tolstikov (eds.), *Nitrogen-containing Heterocycles and Alkaloids*, Iridium-Press, Moscow (2001).
10. Б. Я. Сыропятов, А. А. Горбунов, В. С. Шкляев и др., *Хим.-фарм. журн.*, **30**(11), 13 – 14 (1996); *Pharm. Chem. J.*, **30**(11), 675 – 677 (1996).
11. А. Г. Михайловский, О. В. Гашкова, И. П. Рудакова, Д. А. Перетягин, *Хим.-фарм. журн.*, **51**(7), 25 – 27 (2017); *Pharm. Chem. J.*, **51**(7), 546 – 549 (2017).
12. А. Г. Михайловский, А. В. Долженко, Б. Я. Сыропятов и др., *Хим.-фарм. журн.*, **36**(6), 8 – 10 (2002); *Pharm. Chem. J.*, **36**(6), 288 – 291 (2002).
13. А. Г. Михайловский, Б. Я. Сыропятов, А. В. Долженко, М. И. Вахрин, *Хим.-фарм. журн.*, **36**(7), 33 – 35 (2002); *Pharm. Chem. J.*, **36**(7), 374 – 376 (2002).
14. М. Ю. Дормидонтов, Б. Я. Сыропятов, А. Г. Михайловский и др., *Хим.-фарм. журн.*, **24**(12), 22 – 24 (1990); *Pharm. Chem. J.*, **24**(12), 882 – 885 (1990).
15. Ger. Offen. 4220312 (1994); *РЖ Химия*, 1995, 8062П (1995).
16. Е. В. Балебанова, В. В. Давыдов, А. Н. Зорин и др., *Хим.-фарм. журн.*, **30**(8), 17 – 19 (1996); *Pharm. Chem. J.*, **30**(8), 507 – 509 (1996).
17. В. А. Глушков, К. А. Арапов, О. В. Минова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **40**(7), 18 – 20 (2006); *Pharm. Chem. J.*, **40**(7), 363 – 366 (2006).
18. Ю. В. Шкляев, В. А. Глушков, Б. Я. Сыропятов и др., *Вопросы биол., мед. и фарм. химии*, № 1, 50 – 53 (2003).
19. В. А. Глушков, О. Г. Стряпунина, А. В. Долженко и др., *Хим.-фарм. журн.*, **43**(5), 14 – 17 (2009); *Pharm. Chem. J.*, **43**(5), 245 – 248 (2009).
20. О. В. Гашкова, А. Г. Михайловский, И. П. Рудакова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **53**(6), 25 – 28 (2019); *Pharm. Chem. J.*, **53**(6), 507 – 510 (2021).
21. А. Г. Михайловский, А. С. Юсов, Р. Р. Махмудов и др., *Хим.-фарм. журн.*, **52**(8), 36 – 40 (2018); *Pharm. Chem. J.*, **52**(8), 716 – 720 (2018).
22. В. В. Прозоровский, М. П. Прозоровская, В. М. Демченко, *Фармакол. и токсикол.*, **41**(4), 497 – 502 (1978).
23. В. В. Горбунова, Н. П. Горбунов, *Фармакол. и токсикол.*, **46**(3), 48 – 50 (1983).
24. М. Л. Беленький, *Элементы количественной оценки фармакологического эффекта*, 2-е изд., Медицинская литература, Ленинград (1963).
25. М. П. Николаев, *Экспериментальные основы фармакологии и токсикологии*, Медгиз, Москва (1941).
26. И. А. Архипов, *Антигельминтики: фармакология и применение*, Медицина, Москва (2009).
27. М. М. Ганиев, В. Д. Недорезков, *Химические средства защиты растений*, Лань, Санкт-Петербург (2013).
28. О. Ю. Еремина, Ю. В. Лопатина, *Дезинфекц. дело*, № 2, 46 – 50 (2004).

Поступила 16.02.21

ANTIARRHYTHMIC, HEMOSTATIC, ANTHELMINTIC AND LARVICIDAL ACTIVITY OF 3,3-DIALKYL-SUBSTITUTED ANALOGS OF DROTAVERINE

A. G. Mikhailovskii¹, E. S. Pogorelova¹, I. P. Rudakova¹, A. V. Starkova¹, and N. N. Pershina¹

¹ Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, 614990 Russia

* e-mail: neorghim@pfa.ru

Previously obtained hydrochlorides of 1-[3,4-(R¹)₂-benzyl]-3,3-(R²)₂-6,7-(R³)₂-3,4-dihydroisoquinolines (R¹ = H, MeO, EtO, R² = Alk, R³ = MeO, EtO) and their benzo[f] analogs proved to be water-soluble compounds. This advantage allows their additional biological testing for a number of activity types such as antiarrhythmic, hemostatic, anthelmintic and larvicidal. Hydrochlorides of all isoquinolines were tested for antiarrhythmic activity on the calcium chloride model and some compounds (7 of 13) showed significant activity with the maximum antiarrhythmic index (AI) of 3.97. In respect of the influence on blood clotting, the obtained compounds acted predominantly as coagulants (hemostatics). The most active compound increased blood coagulation by 46.6%. All compounds with anthelmintic activity exceeded the effect of pyrantel; the larvicidal (insecticide) effect of most active compound was comparable with that of diazinone.

Keywords: hydrochlorides of 1-[3,4-(R¹)₂-benzyl]-3,3-(R²)₂-6,7-(R³)₂-3,4-dihydroisoquinolines (R¹ = H, MeO, EtO; R² = Alk; R³ = MeO, EtO); benzo[f] analogs; chloride calcium model of arrhythmia; hemostatic activity; anthelmintic activity; larvicidal activity.