

АНТИАРИТМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ 8-ЗАМІЩЕНИХ 7-*n*-ХЛОРБЕНЗИЛ-3-МЕТИЛКСАНТИНУ

Самура І. Б., Григор'єва Л. В. *, Самура Б. А.**

Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя

*Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, м. Харків

**Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Згідно даних експертів ВООЗ, порушення серцевого ритму є однією з найнебезпечніших маніфестацій патології серцево-судинної системи. В останні десятиліття спостерігається поширеність серцевих аритмій серед людей працездатного віку в Україні. Різноманітність її форм, іноді відсутність ефективного лікування, наявність пароксизмі призводить до раптової серцевої (аритмічної) смерті. Частота виникнення раптової серцевої смерті у різних країнах становить більше ніж 1 випадок на 1000 осіб на рік. У 83% випадків її причинами є шлуночкові аритмії, у 17% – брадіаритмії. Для кардіологів в останні роки усе більшу актуальність здобуває фармакотерапія злоякісних аритмій (пароксизми шлуночкової тахікардії, епізоди тріпотіння чи фібриляції шлуночків), проблема профілактики раптової смерті, коли прогноз украй несприятливий, а цілями лікування є не тільки профілактика пароксизмів, але і продовження життя [1-3].

Аритмогенна дія, кардіотоксичні та інші несприятливі ефекти антиаритмічних засобів (ААЗ) диктують необхідність створення нових ААЗ, що не володіють подібними побічними ефектами і, насамперед, позбавлені негативної інотропної дії [1]. Слід зазначити, що спроби створення нових лікарських засобів на основі відомих антиаритміків найчастіше не мали помітного успіху. Майже всі ефективні ААЗ, що відносяться до ІА, ІС, ІІ і ІІІ класів, мають негативну інотропну дію, унаслідок чого фармакотерапія цими препаратами у хворих із систолічною дисфункцією лівого шлуночка найчастіше недостатньо ефективна.

В цьому зв'язку, актуальною проблемою експериментальної фармакології є пошук високоефективних антиаритмічних препаратів з низькою токсичністю та широкою фармакодинамікою [5-10].

Увагу дослідників привертають сполуки, механізм дії яких не дозволяє віднести їх до того чи іншого класу антиаритмічних препаратів. Прикладом можуть служити похідні пурину. Похідні пурину є природними метаболітами і беруть активну участь у регуляції різних фізіологічних процесів. У ряді досліджень показано, що деякі похідні пурину виявляють антиаритмічні властивості [5,7].

У зв'язку з вищезначеним, метою даного дослідження було дослідження антиаритмічної та кардіопротекторної властивостей 8-заміщених-7-*n*-хлорбензил-3-метилксантину, а також вивчення механізмів їх антиаритмічної активності.

Матеріали і методи. Робота є фрагментом НДР ЗДМУ «Синтез, фізико-хімічні і біологічні властивості ксантинових ксенобіотиків», № держ. реєстрації 1Н15.00.02.01.

Об'єктом досліджень були 8-заміщених-7-*n*-хлорбензил-3-метилксантину (спол. 1-5). Структура синтезованих речовин підтверджена за допомогою сучасних фізико-хімічних методів елементного аналізу, УФ-, ІК-, ПМР- і мас-спектрометричних методів, а чистота контролювалась методом тонкошарової хроматографії. Синтез речовин здійснено на кафедрі біологічної хімії та лабораторної діагностики Запорізького державного медичного університету (зав. кафедри професор Александрова К.В.)

Аритмії можуть бути маніфестацією не тільки захворювання та порушень функцій самого міокарду, але й різноманітних функціональних, електролітних, нейрогуморальних, і / або нервових розладів. Робоча класифікація антиаритмічних препаратів, запропонована Vaghan Williams (1984) в модифікації Harrison (1985), базується на електрофізіологічних особливостях впливу антиаритмічних препаратів на ізольований препарат міокарду, враховує механізм дії і відображає весь комплекс їх фармакологічних властивостей.

Антиаритмічну активність 8-заміщених-7-*n*-хлорбензил-3-метилксантину вивчали на моделях порушення серцевого ритму (аконітиновій, хлорідкальцієвій, адреналовій та строфантиновій) шляхом внутрішньовенного введення аконітин-сульфату у дозі 50 мкг/кг, кальція хлориду – 250 мг/кг, адреналіну гідротартрату – 220 мкг/кг, строфантину – 125 мкг/кг наркотизованим щурам-самцям (гексенал у дозі 60 мг/кг підшкірно) (n=165) лінії Вістар масою 180-250 г.

Як контроль використовували інтактних чи адаптованих тварин, яким внутрішньовенно вводили 0,9% розчин натрію хлориду (0,1 мл/100 г). Досліджувані речовини вводили в дозі 0,05 ЛД₅₀ у виді 0,75% водяного розчину. Всі ін'єкції виконували за 5 хвилин до моделювання аритмій або на фоні розвиненої аритмії. Реєстрували ЕКГ у II стандартному відведенні на апараті ЕЕГП4-02.

Підраховували частоту надшлуночкових (фібриляція передсердя, надшлуночкова пароксизмальна тахікардія) і шлуночкових (шлуночкова екстрасистолія, шлуночкова тахікардія, фібриляції шлуночків) у кожній групі експерименту. Оцінку антиаритмічних властивостей досліджуваної сполуки проводили за наступними критеріями: частота випадків та тяжкість аритмій на тлі застосування вивчаємої сполуки, здатність сполуки віддаляти початок аритмії, тривалість життя тварин, відсоток виживаємості піддослідних тварин. Результати обробляли статистично з використанням пакета програм Statistica 5.5a.

Аконітин-сульфат на експериментальній моделі викликав появу аритмій через 2-3 хвилини, яка тривала в середньому 1,5-2 години. ЕКГ реєстрували через 3 хвилини в II стандартному відведенні до 2-ої години включно. Сполуки 1-5 та препарати порівняння новокаїнамід та аймалін вводили за 5 хвилин до аконітину в ефективних дозах. Другу експериментальну модель аритмії викликали внутрішньовенним уведенням наркотизованим щурам хлориду кальцію (10% розчину) у дозі 250 мг/кг. Експериментальну моделі адреналової аритмії відтворювали на наркотизованих щурах внутрішньовенним уведенням адреналіну гідротартрату (0,18% розчину) у дозі 220 мкг/кг. Строфантинову модель аритмії викликали внутрішньовенним уведенням наркотизованим щурам строфантину (0,025% розчину) у дозі 125 мкг/кг. Сполуки 1-5 та препарати порівняння новокаїнамід та аймалін вводили за 5 хвилин до строфантину в ефективних дозах.

Результати та їх обговорення. Аналіз одержаних результатів на аконітиновій моделі аритмії (табл. 1, рис.1) показав, що більшість досліджених 8-заміщених 7-*n*-хлорбензил-3-метилксантину володіють антиаритмічними і кардіопротекторними властивостями. Так, найбільшу антиаритмічну та кардіопротекторну активності серед 8-заміщених 7-*n*-хлорбензил-3-метилксантину проявила сполука 4, що містить у положенні 8 N-циклогексиламиновий радикал (табл. 1), яка сприяє більш пізньому початку аритмій в порівнянні з новокаїнамідом та аймаліном на 1,1 і 0,38 хвилини відповідно. Тривалість аритмії зменшувалась у 1,6 і 1,96 рази, а процент загибелі ставав нижче у 4 і 5 разів у порівнянні з новокаїнамідом та аймаліном відповідно.

Таблиця 1

Антифібриляторна активність 8-заміщених 7-*n*-хлорбензил-3-метилксантину на моделі аконітинових аритмій

Сполука №№	Доза, мг/кг	Латентний період, хвил.	Тривалість аритмій хвил.	Аритмії	
				всього	ФШ
Контроль	–	2,26 ± 0,3	6,3 ± 1,2	6	6
Новокаїнамід	20,0	4,1*	4,3 *	1*	0*
Аймалін	2,0	3,82*	5,3 *	1*	1*
1	6,5	2,45 ± 1,6	5,6 ± 0,85	4	4
2	6,1	3,12 ± 0,4	4,8 ± 0,6	5	4
3	5,8	3,56 ± 1,2	4,3 ± 0,4	4	5
4	5,3	5,2*	2,7*	1*	-
5	5,0	2,12 ± 0,12	4,8 ± 0,6	4	2*

Примітка: * – відмінності достовірні при $p < 0,05$.

Після введення щурам аконітину порушення ритму виникали після латентного періоду 135±18 сек. Розвивалися надшлуночкові і шлуночкові екстрасистолі (94%), порушення атріовентрикулярної проводи мості, шлуночкова тахікардія (83%) та фібриляція шлуночків (11,1%). Тривалість порушень ритму склала 6,3±1,2 хвилин, 89% тварин загинуло, 11% вижило у зв'язку з обратимістю аритмій.

Встановлено, що профілактичне введення щурам 7-*n*-хлорбензил-8-N-циклогексиламіно-3-метилксантину (спол. 4) в дозі 5,3 мг/кг в 100% випадків попереджував виникнення необертаємих порушень серцевого ритму у щурів та їх загибель. Так, число злоякісних шлуночкових аритмій знизилася з 94,5% до 10,6%. Порушення ритму у вигляді екстрасистолії (26,3%) виникали значно пізніше контролю (170±23 сек), тривалість їх була в 2,3 рази меншою (2,7 хвилин) і вони не носили загрозливий для життя характер. Сполука 4 не тільки попереджувала, але й відновлювала ритм і усувала порушення серцевої діяльності, викликані аконітином в 100% випадків через 17±3 секунди з моменту введення препарату в дозі 5,3 мг/кг.

Слід відзначити, що сполука 4 також ефективно нормалізувала серцевий ритм у разі розвитку серцевої аритмії вже через 62 ± 12 сек з моменту уведення. Новокаїнамід в дозі 20 мг/кг нормалізував серцевий ритм в 80% випадків, аймалін – в 100% випадків. Антиаритмічна дія сполуки 4 супроводжувалась збільшенням тривалості життя експериментальних тварин. В групах тварин, що отримали сполуки 4 і 5, усі тварини вижили, сполуки 1-3 – вижило 50,1–66,7% тварин. Аналіз отриманих результатів показує, що після уведення кальцію хлориду через $3,28 \pm 0,3$ хвилин виникали шлункові аритмії: політопна шлункова екстрасистоля (100% випадків), шлункова тахікардія (66,7%), фібриляція шлуночків (100%), що реєструвались на протязі 4-5 хвилин (табл. 2).

Таблиця 2

**Антифібриляторна активність 8-заміщених
7-п-хлорбензил-3-метилксантину на моделі хлоридкальцієвих аритмій**

Сполука №№	Доза, мг/кг	Латентний період, хвил.	Тривалість аритмій	Аритмії	
				всього	ФШ
Контроль	–	$3,28 \pm 0,3$	$4,3 \pm 1,2$	6	6
Новокаїнамід	20,0	$6,12 \pm 1,4^*$	$3,3 \pm 0,4^*$	2*	0*
Аймалін	2,0	4,82*	2,1 *	1*	1*
1	6,5	$4,12 \pm 0,4$	$3,4 \pm 0,3$	4	2*
2	6,1	$4,27 \pm 1,4$	$3,6 \pm 0,8$	5	2*
3	5,8	$3,88 \pm 1,2$	$4,0 \pm 0,5^*$	4	3*
4	5,3	6,0*	2,5*	1*	0*
5	5,0	$4,27 \pm 1,4$	$3,6 \pm 0,8$	5	2*

Примітка: * – відмінності достовірні при $p < 0,05$.

На моделі хлоридкальцієвих аритмій виявлено антифібриляторну активність в усіх сполуках, що вивчалися. Профілактичне уведення сполук 1-5 затримувало виникнення аритмій і подовжувало латентний період маніфестації аритмій у 1,2–1,8 рази. Серед досліджених 8-заміщених 7-п-хлорбензил-3-метилксантину на моделі хлоридкальцієвої аритмій сполука 4 продемонструвала антифібриляторну активність, що не поступалась референс-препаратам новокаїнаміду та аймаліну.

Після введення кальцію хлориду в перші 30-60 сек. розвивалися шлуночкові аритмії: політопні шлуночкова екстрасистоля (75%), епізоди шлуночкової тахікардії (62,5%), фібриляції шлуночків (31,25%) і тривали до 5 хвилин. Попереднє введення 7-п-хлорбензил-8-N-циклогексиламіно-3-метилксантину запобігало розвитку аритмій. Повторне введення кальцію хлориду через 30 хвилин викликало типові для нього порушення ритму.

Було встановлено, що сполука 4 виявляє активність на моделях адреналінової та строфантинової аритмій (рис. 1). Під впливом адреналіну виникали як надшлуночкові (фібриляція передсердь – 16,7 %, надшлуночкова пароксизмальна тахікардія – 11,1 %), так і шлуночкові (політопна шлуночкова екстрасистоля – 77,8 %, шлуночкова тахікардія – 66,7% та фібриляція шлуночків – 22,2%) порушення ритму.

Сполука 4запобігала розвитку аритмій. В окремих випадках відзначали розвиток шлуночкової екстрасистолії (15%), що трансформувалися у шлуночкові тахікардію (10%) і фібриляцію шлуночків (5%). Усі тварини вижили.

При введенні строфантину в дозі 125 мкг/кг найчастіше (84,2%) відзначали розвиток злякисних шлуночкових порушень ритму (шлуночкова тахікардія – 73,4%, фібриляції шлуночків – 10,5%).

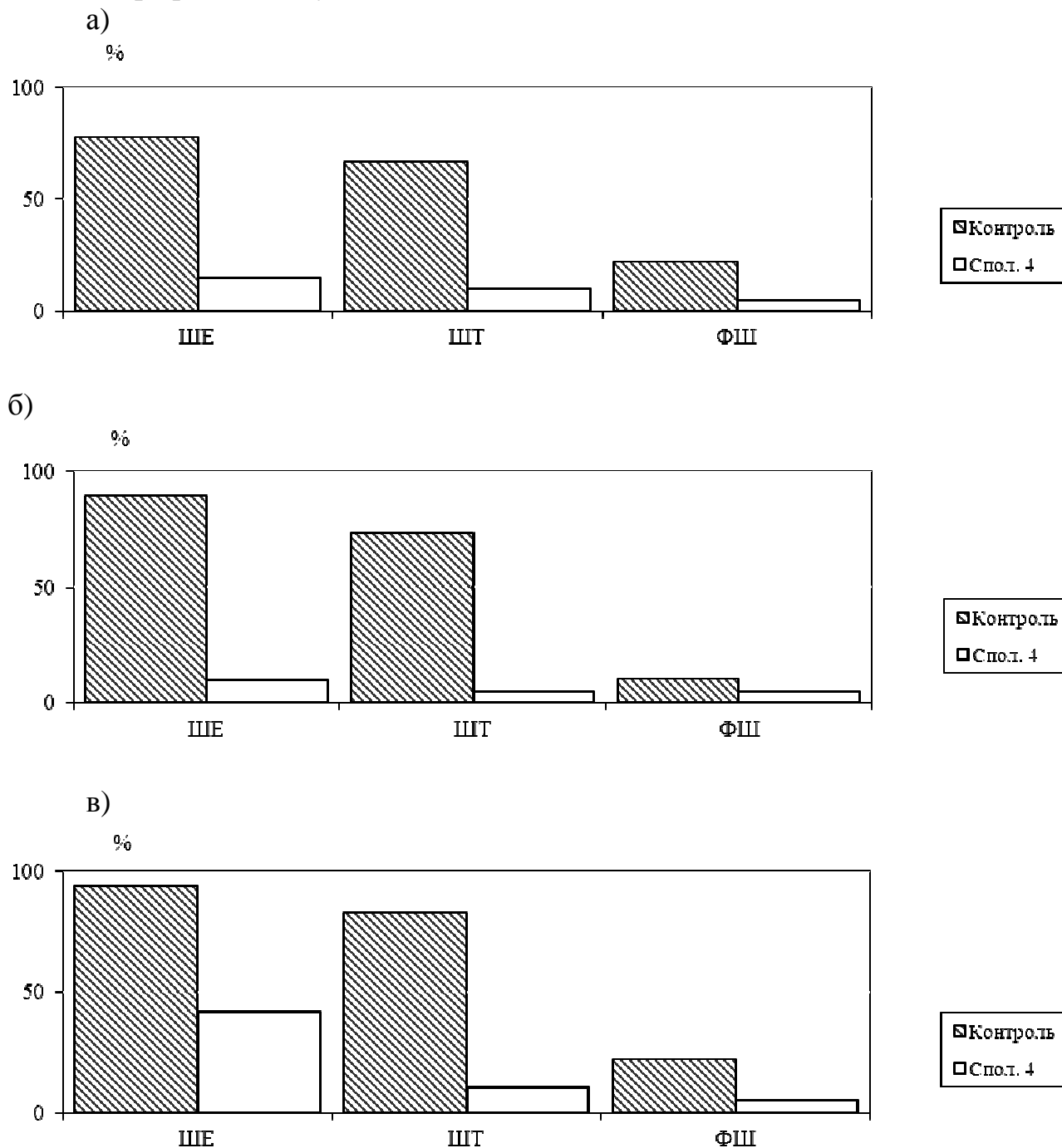


Рис.1. Вплив 7-*n*-хлорбензил-8-*N*-циклогексиламіно-3-метилксантину (спол. 4) в дозі 5,3 мг/кг на виникнення адреналінових (а), строфантинових (б), аконітинових (в) аритмій. ШЕ – шлуночкові екстрасистоли, ШТ – шлуночкова тахікардія, ФШ – фібриляції шлуночків. Кількість спостережень в експерименті – не менше 15 тварин у кожній групі.

Уведення 7-*n*-хлорбензил-8-*N*-циклогексиламино-3-метилксантину на фоні розвиненої аритмії через 10-15 сек відновлювало синусовий ритм. Попереднє введення сполуки 4 в дозі 5,3 мг/кг запобігало розвитку аритмій в 90% випадків. В двох дослідах відзначено розвиток шлуночкової екстрасистоїї, трансформованої в шлуночкову тахікардію та фібриляцію шлуночків.

В окремій серії експериментів, виконаних на інтактних тваринах, наркотизованих гексеналом, ми досліджували вплив сполуки 4 на електрофізіологічні процеси в міокарді. На протязі 30 хвилин після ін'єкції сполуки, що вивчалася, в дозі 5,3 мг/кг статистично значених змін біоелектричної активності міокарду не виявлено. Треба зазначити, що сполука 4 не порушує процесів реполяризації шлуночків, на її фоні тривалість електричної систоли і систолічний показник залишалися стабільними.

Результати цього дослідження свідчать про наявність у 7-*n*-хлорбензил-8-*N*-циклогексиламино-3-метилксантину антиаритмічних властивостей, завдяки яким ця сполука метаболітної природи сприяє підвищенню стійкості серця до аритмогенних впливань. Важливим моментом являється вплив на кінцеві результати дослідження – смертність та виразність симптоматики. Так, виживаємість тварин склала: на моделі CaCl₂-індукованих аритмій – 100%, адреналінових – 85%, строфантинних – 90%, аконітинових – 85% (рис.2).

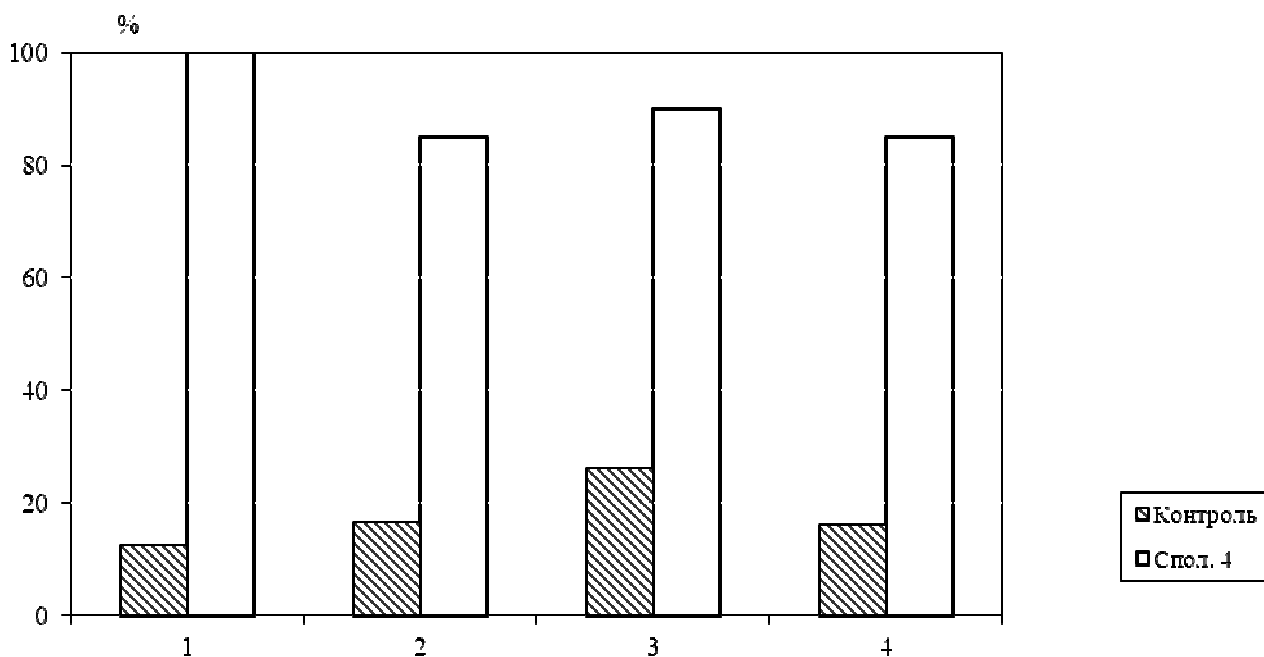


Рис. 2. Вплив 7-*n*-хлорбензил-8-*N*-циклогексиламино-3-метилксантину (спол. 4) на виживаємість щурів на моделях хлоридкальцієвих (1), адреналінових (2), строфантинних (3) і аконітинових (4) моделях аритмій.

Сполучення 7-*n*-хлорбензил-8-*N*-циклогексиламино-3-метилксантину виявляло не тільки антиаритмічні властивості, але й кардіопротекторний ефект на моделях хлоридкальцієвої, строфантинової, адреналінової і аконітинової аритмій в 100% випадків. На тлі дії цієї сполуки аритмії або не виникали, або вини-

кали значно пізніше, тривалість їх була меншою і вони не носили загрозливий для життя характер.

Аналізуючи антиаритмічну дію вивчаємої сполуки необхідно відзначити участь кількох механізмів в реалізації її ефектів. Відомо, що в генезі аритмій, викликаних CaCl_2 , серцевими глікозидами і адреналіном лежать спільні механізми підвищення входу іонів Ca^{2+} по повільним каналам в клітину і підвищення його концентрації призводить до підвищення збудливості міокарду[1,3]. Отже, можна припустити, що антиаритмічний ефект пов'язаний з обмеженням надходження Ca^{2+} в клітину або з підвищенням ефективності роботи Ca^{2+} -насосів, що виводили надлишок Ca^{2+} з цитоплазми.

Крім того, дія сполуки на моделі адреналінових аритмій, здавалося б, може бути зумовлена зниженням адренореактивності міокарду. Проте, блокатори β -адренорецепторів, так само як і інгібітори Ca^{2+} -каналів, мають негативну інотропну дію. Необхідно відзначити збереження інотропної функції міокарду на фоні введення досліджуваної сполуки 7-алліл-3-метил-8-N-(N'-метилпиперазіно)-ксантину та відсутність у неї кардіодепресивного ефекту на фоні виразної антиаритмічної дії.

Під впливом аконітіну відбувається порушення процесів інактивації швидких Na^+ -каналів, підвищення Na^+ -току починається з потенціалів, близьких до потенціалів покою і, відповідно, знижується електрична стабільність кардіоміоцитів. Отже, аконітінова модель аритмій являється найбільш прийнятною для виявлення у сполуки здібності блокувати Na^+ -канали. Наявність антиаритмічного ефекту у циклогексиламино-3-метилксантину при аконітінових аритміях переконливо свідчить про те, що дія препарату зумовлена блокадою натрієвих каналів. Таким чином, найбільш вірогідним механізмом антиаритмічної дії циклогексиламино-3-метилксантину необхідно визнати блокаду швидких Na^+ -каналів сарколеми кардіоміоцитів та інгібування $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обміну або.

Висновки:

1. Похідне пурину 7-*n*-хлорбензил-8-N-циклогексиламино-3-метилксантин в дозі 5,3 мг/кг володіє антиаритмічною дією на моделях аконітінової, хлоридкальцієвої, строфантинової та адреналінової аритмій у щурів.

2. 7-*n*-хлорбензил-8-N-циклогексиламино-3-метилксантин перевищує за активністю препарати порівняння новокаїнамід на аймалін на даних видах аритмій і можна сказати, що він проявляє властивості антиаритмиків IA класу і має значну терапевтичну ширину.

3. Найбільш вірогідним механізмом цього ефекту слід визнати блокаду швидких Na^+ -каналів сарколеми кардіоміоцитів та інгібування $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обміну.

4. 7-*n*-хлорбензил-8-N-циклогексиламино-3-метилксантин може стати джерелом створення антиаритмічного препарату.

Література:

1. Актуальные аспекты сердечно-сосудистого риска в городской популяции Украины / Митченко Е.И., Мамедов М.Н., Колесник Т.В., Деев А.Д. // Межд. журн. сердца и сосуд. забол. – 2014. – Т.2, № 2. – С. 16-24.
2. Романюк Л.М., Фецишин Н.Є. Комплексна оцінка здоров'я населення України // Вісн.соц.гігієни та організації охор. здоров'я України. – 2011. – № 1. – С.13-18.
3. Современные предикторы жизнеугрожающих аритмий / Громова О.И., Александрова С.А., Макаренко В.Н., Голухова Е.З. // Креатив. кардиология. – 2012. – №2. – С. 30-46.
4. Експериментальне вивчення антиаритмічних та антифібриляторних лікарських засобів // Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / Н.О. Горчакова, І.С. Чекман, І.А. Зупанець та ін.; За ред. О.В.Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – С. 210-222.
5. Экспериментальное исследование антиаритмической активности в ряду 3-метил-7-β-гидрокси-γ-фенокси-пропил-8-R-ксантина / И.Б. Самура, В.К. Лепехин, Н.И.Романенко и др.// Запорож. мед. журн. – 2006.-№1. – С.129-132.
6. Sadaka F., Naydenov S.K., Ponzillo J.J Theophylline for bradycardia secondary to cervical spinal cord injury // Neurocrit Care. – 2010. – V. 13, № 3. – P.389-392.
7. Sakamoto T., Sadanaga T., Okazaki T. Sequential use of aminophylline and theophylline for the treatment of atropine-resistant bradycardia after spinal cord injury: a case report. // J. Cardiol. – 2007. – V. 49, № 2. – P. 91-96.
8. Sanaei-Zadeh H. Can theophylline be an alternative antidote for amitriptyline toxicity? // Drug Chem.Toxicol. 2013. – V. 36, №1. – P.133.
9. Schulz-Stübner Sebastian The use of small-dose theophylline for the treatment of bradycardia in patients with spinal injury // Anesth. Analg. –2005. –V. 101, № 6. – P.1806-1811.
10. Whitman C.B., Schroeder W.S., Ploch P.J., Raghavendran K. Efficacy of aminophylline for the treatment of recurrent symptomatic bradycardia after spinal cord injury // Pharmacotherapy. – 2008. – V. 28, № 1. – P.131-135.