

УДК: 615.222.07

С.Б. Марасанов¹, А.Б. Лебедев¹, Н.А. Чхатвал¹, Д.С. Блинов², З.Д. Хамидулина³, Т.А. Пучкова³

ВОЗМОЖНОСТИ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ПРОТИВОАРИТМИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

¹ Кафедра фундаментальной и клинической фармакологии
ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России

² Кафедра общественного здоровья с курсом гигиены ФГБОУ ВПО Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева

³ ГБОУ СПО «Тверской медицинский колледж»

Работа посвящена проблеме доклинического поиска новых соединений с противоаритмическими свойствами, полученных методом направленного синтеза. В работе излагаются результаты изучения соединений на моделях аритмий неишемического и ишемического генеза. Работа выполнена на основании собственных экспериментальных и клинических наблюдений, а также анализа современных литературных данных.

Ключевые слова: аритмия, лидокаин, кватернидин, новые соединения, острая токсичность, фибрилляция, окклюзия, реперфузия.

S.B. Marasanov¹, A.B. Lebedev¹, N.A. Chrhatal¹, D.S. Blinov², Z.D. Hamidullina³, T.A. Puchkova³

POTENTIALITIES OF SEARCH FOR NEW ANTIARRHYTHMIC AGENTS.

¹ Department of Pharmacology clinicae Pharmacology SBEI HPE
Tver SMA of the Ministry of Health, RF

² Department of Public Health with a course of Hygiene FSBEI HPE N.P. Ogarev
Mordovian State University

³ SBEI SPE Tver medical colledge

The paper is devoted to the problem of preclinical search for new compounds with antiarrhythmic properties, obtained by the method of directed synthesis. The results of the compounds study on models of arrhythmias of non-ischemic and ischemic genesis are given. The work has been carried out on the basis of the authors' own experimental and clinical findings as well as on an analysis of current

literature data.

Key words: *arrhythmia, lidocain, quaternidin, new compounds, fibrillation, reperfusion.*

Распространение сердечно-сосудистых заболеваний приобрело эпидемиологический характер, о чем свидетельствует постоянно увеличивающееся число пациентов с болезнями системы кровообращения среди других видов патологии. Причин, приводящих к болезням сердца и сосудов немало, но главными из них считаются нарушения среды обитания человека (экология), а также образа жизни, в том числе изменения в характере питания, физических, интеллектуальных и эмоциональных нагрузок. Нарушения сердечного ритма относятся к числу наиболее распространенных кардиологических синдромов. Эта патология осложняет течение многих сердечно-сосудистых заболеваний, являясь нередко предвестником внезапной смерти. Особенно прогностически опасными, требующими максимально быстрого устранения, являются желудочковые нарушения ритма ишемического происхождения. Трудности, возникающие в диагностике и выборе лечебной тактики при аритмиях, обусловлены многообразием видов нарушений сердечного ритма, частым их сочетанием, сложностью прогнозирования нарушений сердечного ритма, широким спектром применяемых антиаритмических препаратов. Успехи в области электрофизиологических методов анализа и лечения нарушений ритма сердца, новые антиаритмические препараты последних поколений значительно расширили возможности лечения пациентов с сердечными аритмиями. И все же, по мнению ведущих кардиологов, это только начало пути к победе над сердечными аритмиями.

Поэтому поиск эффективных и безопасных методов лечения сердечных аритмий продолжает оставаться важной задачей кардиофармакологии.

Использование многих антиаритмических средств (ААС), прежде всего препаратов I класса, β -адреноблокаторов (β -АБ) с адреномиметической активностью (соталол, антагонисты кальция) для лечения аритмий у больных с органической патологией сердца сопровождается увеличением смертности. Относительно безопасными антиаритмическими признаны лишь β -АБ без внутренней адреномиметической активности и амиодарон. Однако, эти средства не в состоянии решить проблему фармакологической коррекции нарушений ритма сердца (НРС), так как эффективны не во всех случаях. В 90-х годах прошлого века результаты крупных рандомизированных и контролируемых исследований с веществами антиаритмического действия изменили представления о целесообразности применения целых групп препаратов из-за необходимости рассматривать каждое фармакологическое средство не только

с позиции его адекватности, эффективности, финансовой стоимости, но и с учетом его безопасности.

К вновь создаваемым антиаритмикам предъявляется ряд требований с позиций «evidence based medicine», но основные из них – это влияние препаратов на, так называемые, «конечные точки» патогенеза: общую смертность и процент внезапной смерти. В настоящее время используется несколько путей, направленных на изыскание соединений с антиаритмическими эффектами:

- 1) исследование синтетических производных известных антиаритмических препаратов;
- 2) изучение противоаритмической активности препаратов из других фармакологических групп;
- 3) анализ свойств веществ, влияющих на измененный метаболизм сердца, явившийся причиной возникновения аритмии;
- 4) поиск принципиально новых средств с противоаритмической активностью.

Во Всероссийском научном центре по изучению безопасности биологически активных веществ (п. Старая Купавна, Московской области) под руководством профессора С.Я. Скачиловой была синтезирована серия веществ – производных ариламидаминов, где в качестве аниона были использованы некоторые амино- и карбоновые кислоты. Ранее было показано, что некоторые производные ариламидаминов могут проявлять антиаритмическую активность. Поэтому группа новых синтезированных соединений этого класса были выбраны нами для экспериментальных исследований.

Цель исследования. Изучить противоаритмическую активность и токсические свойства новых производных ариламидаминов и выделить наиболее перспективные вещества для последующих углубленных исследований и возможного внедрения их клинических испытаний.

Результаты и обсуждение

Первым этапом исследований явилось экспериментальное изучение острой токсичности восьми новых синтезированных соединений из производных ариламидаминов с лабораторными шифрами ЛХТ при внутрибрюшинном введении белым лабораторным мышам.

Изучение острой токсичности является первым и важнейшим этапом доклинического исследования лекарственных веществ. Оно предшествует всякому фармакологическому поиску новых соединений. Этот показатель позволяет выделить диапазон доз для изучения специфических свойств испытуемых соединений и судить о широте их терапевтического действия. Поэтому определение острой токсичности и среднесмертельной дозы (LD_{50}) является важным компонентом фармакологического исследования.

LD_{50} , определенная при анализе острой токсичности исследуемых соединений, имела следующие характеристики: ЛХТ 35-91 – 3900,0 мг/кг; ЛХТ 6-95 – 3300,0 мг/кг; ЛХТ 52-91 – 1780,0 мг/кг; ЛХТ 13-91 – 280,0 мг/кг; ЛХТ 3-91 – 710,0 мг/кг; ЛХТ 11-91 – 710,0 мг/кг; ЛХТ 7-97 – 830,0 мг/кг; ЛХТ 10-91 – 390,0 мг/кг. Табличным методом В.Б. Прозоровского выявлено, что все изученные соединения относятся к малотоксичным веществам. Наименьшую токсичность имели соединения с лабораторными шифрами ЛХТ-35-91, ЛХТ-6-95 и ЛХТ-13-91. Можно полагать, что изменение токсичности и отдельных фармакологических свойств у соединений в ряду производных ариламидаминов, было связано с особенностями химической структуры вещества, прочностью ионных связей, показателями константы диссоциации молекул, с его молекулярной массой и пространственной конфигурацией.

Согласно логике реализации поставленных задач было проведено изучение и сравнение противоаритмической активности соединений с препаратами сравнения: лидокаином и кватернидином на моделях аритмий различного генеза.

На модели фибрилляции желудочков у крыс, вызванной внутривенным введением токсических доз хлористого кальция, показано, что практически все производные ариламидаминов в той или иной степени способны предупреждать развитие этого фатального аритмического осложнения.

Препараты сравнения по-разному повели себя в условиях кальциевой перегрузки. Так, лидокаина гидрохлорид оказался эффективным в дозах 12,5 и 10,0 мг/кг. Он предотвращал фибрилляцию желудочков (ФЖ), снижал показатели экспериментальной летальности, удлиннял продолжительность латентного безаритмического периода. Известно, что лидокаина гидрохлорид, введенный в терапевтической концентрации, способен подавлять триггерные ритмы, индуцированные ранними и задержанными постдеполяризациями. Именно подобные механизмы лежат в основе возникновения хлоридкальциевых аритмий. При воздействии кватернидина удлинялась продолжительность латентного безаритмического периода.

Наибольшей профилактической и защитной активностью в отношении хлоридкальциевых аритмий обладали соединения с лабораторными шифрами ЛХТ-13-91; ЛХТ-35-91 и ЛХТ-11-91. Соединения активно предупреждали проявления фибрилляции желудочков и последующую смертность экспериментальных животных. Этим же веществам была присуща и наибольшая широта терапевтического действия ввиду того, что они были способны предотвращать токсическую фибрилляцию желудочков после введения в дозах, значительно меньших, чем максимальная терапевтическая доза. По данным экспериментов, вещество с шифром ЛХТ-13-91 можно охарактеризовать как самое активное противоаритмиче-

ское соединение из изученной группы веществ, но имеющее достаточно высокую токсичность. По показателям токсичности и антиаритмической активности в отношении хлоридкальциевых аритмий соединение ЛХТ-13-91 не уступало препарату сравнения - лидокаину гидрохлориду.

Вещество с шифром ЛХТ-35-91 оказалось наименее токсичным из исследованных соединений, что позволило изучать это соединение в сравнительно высоких дозах. Оказалось, что для данного производного ариламидаминов в дозах, составляющих от 10 до 1% от LD_{50} , свойственна сравнительно высокая противоаритмическая эффективность. Продолжительность времени от инъекции хлористого кальция до развития нарушений ритма сердца под влиянием этого соединения была сравнима с таковой у препарата сравнения – лидокаина, но выживаемость экспериментальных животных была больше.

У соединения ЛХТ-11-91 обнаружена противофибрилляторная активность в дозах от 10 до 0,5% от LD_{50} . Латентный период до развития ФЖ соизмерим с таковым у лидокаина. Исследуемое вещество эффективно предотвращало наступление гибели экспериментальных животных. Даже при минимально введенной дозе не было поголовной гибели животных (лишь в 83,3% наблюдений возникала летальная фибрилляция желудочков). Смерть крыс наступала от прогрессирующей брадикардии с последующим переходом в асистолию.

Соединение с лабораторным шифром ЛХТ-3-91 само оказалось способным вызывать аритмии. Из дальнейших исследований оно было исключено.

Соединение ЛХТ-10-91 в дозе, составляющей 10% от LD_{50} – 39 мг/кг – не проявило противофибрилляторной активности, хотя время до наступления аритмии было больше, чем у лидокаина. Не отмечалось и положительного влияния на летальность экспериментальных животных. В целом, ЛХТ-10-91 оказывало такое же влияние на протекание хлоридкальциевых аритмий, как и препарат сравнения кватернидин.

Вещество с лабораторным шифром ЛХТ-6-95 обнаружило незначительную противофибрилляторную эффективность, которая проявлялась лишь после введения животным в максимальных дозах (10% от LD_{50}). При этом значительно удлинялся латентный безаритмический период.

Для соединений с шифрами ЛХТ-7-97 и ЛХТ-52-91 сравнительно высокая противоаритмическая эффективность проявлялась в дозах, составляющих 10% и 5% от LD_{50} . Кроме того, у этих веществ была выявлена способность снижать смертность экспериментальных животных.

При изучении фармакотерапевтической активности производных ариламидаминов в отношении нарушений ритма сердца (НРС), вызываемых воздействием на натриевые каналы, использовалась аконитиновая модель аритмий. В контрольной группе животных предсердно-желудочковые нарушения

ритма сердца развивались через 31 ± 12 с после введения аритмогена с частотой эктопических сокращений (ЧЭС) 282 ± 32 в 1 минуту.

При воздействии препарата сравнения лидокаина гидрохлорида в дозах 10,0 и 5,0 мг/кг отмечалось как значительное снижение частоты возникновения аритмий, так и существенно подавлялась эктопическая импульсация.

Наибольшая антиаритмическая эффективность на аконитиновой модели была обнаружена у соединения с лабораторным шифром ЛХТ-13-91. В максимальной терапевтической дозе это вещество оказалось активнее лидокаина: аритмия развивалась только у одного животного из 6, а время до наступления аритмии было почти в 2 раза больше, чем в контроле. Также проявило себя и соединение ЛХТ-11-91, но активность его была ниже, чем у ЛХТ-13-91 (увеличилось количество животных с неблокированными аритмиями; время до наступления аритмогенного эффекта оставалось большим, по сравнению с контролем).

Соединения с лабораторными шифрами ЛХТ-35-91 и ЛХТ-6-95 оказались неспособными к купированию предсердно-желудочковых аритмий у крыс, но вещество ЛХТ-6-95 почти в три раза увеличивало время до наступления аритмии (150 ± 15 с) по сравнению с контролем. Слабую эффективность проявили и соединения ЛХТ-7-97 и ЛХТ-10-91. При их воздействии отмечалось лишь увеличение времени до наступления аритмогенного эффекта.

Следовательно, в проведенных экспериментах еще раз были продемонстрированы особенности противоаритмической активности препарата сравнения лидокаина гидрохлорида как блокатора Na-каналов. Причем эффективность вещества носила объективный дозозависимый характер: снижалась при уменьшении вводимой дозы. Аналогичными данными обладали и соединения с шифрами ЛХТ-13-91 и ЛХТ-11-91, поэтому можно предварительно предположить, что эти новые синтетические вещества из группы ариламидаминов проявляют такие же свойства, как и антиаритмические препараты I класса (блокаторы Na-каналов).

В качестве аритмогенных средств в экспериментах использовался также сердечный гликозид строфантин. Известно, что передозировка сердечных гликозидов проявляется в виде разнообразных аритмий, реализующихся посредством возникновения в миокарде очагов триггерной активности. Поэтому, попытка обнаружения противоаритмической активности в отношении гликозидных аритмий у исследуемых соединений давала надежду обнаружить вещества с ценными качествами и перспективными для дальнейшего изучения.

Препарат сравнения лидокаина гидрохлорид, введенный в дозе 10 мг/кг, проявлял выраженную противоаритмическую активность (ПАА). На его фоне значительно снижалась частота возникновения нарушений ритма сердца. Ча-

стота эктопических сокращений (ЧЭС) у животных с сердечной аритмией также интенсивно угнеталась. Более, чем в четыре раза по сравнению с исходными показателями возрастал латентный период развития желудочковой экстрасистолии (ЖЭ) - до 293 ± 54 ($p < 0,005$). Продолжительность строфантиновых аритмий составила в среднем 59 ± 54 с ($p < 0,005$). При снижении дозы препарата сравнения вдвое, отмечалась незначительная потеря противоаритмической активности. Триггерная активность, спровоцированная строфантином после введения лидокаина также угнеталась, о чем свидетельствует снижение ЧЭС до 103 ± 14 в минуту ($p < 0,005$) при частоте исходного ритма 396 ± 78 в минуту. Длительность же аритмического периода не отличалась от таковой в контроле – 103 ± 18 с.

Наибольшая антиаритмическая эффективность в отношении гликозидных аритмий обнаружена у соединения ЛХТ-6-95 (0,5% от LD₅₀). Меньшую активность проявили вещества с лабораторными шифрами ЛХТ-35-91, ЛХТ-13-91, ЛХТ-7-97. Эффект развивался от дозы вещества, равной 1% от LD₅₀. Соединение ЛХТ-11-91 оказывало противоаритмический эффект в дозе 5% от LD₅₀. Под влиянием этих производных ариламидаминов длительность аритмий, уровень эктопической активности, продолжительность латентного безаритмического периода сохраняли достоверные отличия с контролем. У соединений с лабораторным шифром ЛХТ-10-91 способность к купированию гликозидных аритмий у крыс отсутствовала.

Еще одним важным разделом фармакологического анализа механизма действия изучаемых соединений из группы ариламидаминов при интоксикационных аритмиях является катехоламиновая желудочковая тахикардия, создаваемая внутривенным введением адреналина гидрохлорида лабораторным крысам. Нарушения ритма сердца развиваются у них в ответ на действие адреналина. В основе механизма развития патологии имеют значение аномальная автоматия, *micro re-entry*, триггерная активность.

Исследование препарата сравнения лидокаина гидрохлорида показало довольно скромную роль этого вещества в предотвращении возникновения адреналиновой ЖЭ. Лидокаин не оказывал статистически значимых противоаритмических эффектов по сравнению с контролем. Соединение ЛХТ-13-91 оказалось активным при введении в дозе 2,8 мг/кг, но было неэффективным при адреналиновой аритмии уже при двукратном снижении дозы.

На основании проведенных исследований изучаемых соединений были выделены 2 наиболее активных вещества: ЛХТ-13-91 и ЛХТ-11-91.

Следующим этапом работы было изучение противоаритмической активности выделенных производных ариламидаминов в сравнении с эффективностью лидокаина и кватернидина на модели ранних окклюзионных и реперфузионных нарушений ритма у кошек. Известно, что эта экспериментальная модель

наиболее полно отражает картину развития острого коронарного синдрома.

В контрольной серии опытов на 18 ± 3 минуте после лигирования коронарной артерии возникали нарушения ритма сердца со средней частотой эктопических сокращений 103 ± 34 удара в минуту. Проявления аритмий регистрировались на ЭКГ у 85% животных, причем у 22% из них развивалась летальная фибрилляция желудочков.

Однократное болюсное введение лидокаина за 1 минуту до коронароокклюзии в дозах 10,0 и 5,0 мг/кг не предупреждало развития ишемических и реперфузионных нарушений ритма сердца. Однако в высшей исследованной дозе – 10 мг/кг вещество способствует ослаблению процесса эктопического импульсообразования. В обоих случаях регистрировался противофибрилляторный эффект лидокаина после восстановления коронарного кровотока.

Кватернидин оказался надежным средством профилактики возникновения окклюзионных и реперфузионных аритмий при введении как в дозе 4,0, так и 2,0 мг/кг.

В последующих опытах было установлено, что наибольшую антиаритмическую и противофибрилляторную эффективность на модели окклюзионных аритмий показало соединение ЛХТ-13-91. Для этого вещества оказалось свойственным сохранение противофибрилляторного эффекта после введения в более низких дозах, чем в дозах, от которых отмечался выраженный и надежный противоаритмический эффект. После введения соединения возникала тенденция к урежению частоты сердечных сокращений (до 163 ± 10) в минуту против изначальных показателей (196 ± 19) в минуту.

Проявление подобной активности и через 30 минут после введения соединения ЛХТ-13-91 косвенно может свидетельствовать о большей продолжительности противоаритмического действия изучаемого вещества по сравнению с лидокаином. Это наблюдение дает основу для проведения сравнительной характеристики данного производного ариламидаминов по степени выраженности эффекта с изученным и внедренным в клинику высокоэффективным антиаритмическим препаратом кватернидином.

Выраженный профилактический антиаритмический эффект был обнаружен и при использовании соединения, имеющего лабораторный шифр ЛХТ-11-91. После введения этого вещества у животных сохранялся синусовый сердечный ритм ($p < 0,005$). Статистически достоверного снижения частоты сердечных сокращений после инъектирования соединения не наблюдалось (176 ± 6 в минуту против 175 ± 10 в минуту в исходном состоянии). Только у 33,3% крыс регистрировались окклюзионные аритмии. Эктопическая активность проявилась на 20-30 минутах после коронароокклюзии, на ЭКГ внеочередные комплексы возникали в среднем с частотой 65 ± 23 в минуту. В проведенных экспериментах ни в

одном случае не возникла фибрилляция желудочков.

Более опасными по своей природе являются реперфузионные нарушения ритма сердца. Испытуемое соединение ЛХТ-13-91, введенное в дозе 2,8 мг/кг, приводило к возникновению через 9 ± 1 с после реперфузии желудочковой экстрасистолы со средней частотой эктопической активности 101 ± 52 в минуту у трех животных ($p < 0,05$). Желудочковая тахикардия и фибрилляция желудочков после инъекирования ЛХТ-13-91 не регистрировались ($p < 0,001$). У соединения ЛХТ-13-91 обнаруженная антиаритмическая активность в отношении реперфузионных аритмий, дает право предполагать наличие у этого вещества антиоксидантной активности. Моделирование миокардиальной ишемии приводит к существенным сдвигам обмена веществ, характеризующимся повышением активности анаэробных процессов — свободного окисления, гликолиза, — и стагнацией окислительного фосфорилирования, снижением концентрации макроэргов, увеличением концентрации цАМФ. Соединение ЛХТ-13-91 именно на этой модели и проявило активность, блокируя патогенетические механизмы ишемии.

Исследование вещества ЛХТ-11-91 при реперфузии осуществлялось в дозе 35,5 мг/кг. В этой серии опытов отсутствовал статистически достоверный противоаритмический эффект. Через 11 ± 4 с у всех экспериментальных животных развилась ЖЭ с частотой эктопических сокращений 182 ± 38 в минуту, но анализ частоты и характера эктопической активности указывал на более доброкачественный тип аритмий, развивающихся после введения ЛХТ-11-91.

Таким образом, проведенные исследования позволили установить, что различные модификационные изменения в молекуле производных ариламидаминов приводят к появлению у синтезированных веществ оригинальных фармакологических свойств в отношении различных типов экспериментальных аритмий. На основании результатов опытов удалось установить, что соединения ЛХТ-13-91 и ЛХТ-11-91 обладают выраженной противоаритмической активностью, превышающей таковую у препаратов сравнения – лидокаина и кватернидина. Указанные соединения, вероятно, можно отнести к антиаритмическим средствам II и IV классов одновременно, поскольку они активны в отношении таких видов аритмий, которые купируются препаратами из этих классов антиаритмиков.

Заключение

Аминокислотсодержащие производные ариламидаминов с шифрами ЛХТ-13-91 и ЛХТ-11-91, сочетающие свойства нескольких классов антиаритмических препаратов, являются перспективными соединениями для даль-

нейшего изучения с целью создания новых лекарств с антиаритмическим действием.

Литература

1. Атлас лекарственных средств. – СПб.: СИА Интернейшнл ЛТД. - Оникс 21 век, Мир, 2007. – 618 с.
2. Бокерия Л.А., Ревешвили А.Ш., Егоров Д.Ф. и др. Показания к терапии имплантируемыми кардиовертерами-дефибрилляторами (Рекомендации Всероссийского научного общества специалистов по клинической электрофизиологии, аритмологии и кардиостимуляции) // Сердце: журнал для практикующих врачей. – 2006. – № 1 (25). – С. 33–38.
3. Костко С. З. Антагонисты кальция в терапии ишемической болезни сердца. – М., 2005. – 105 с.
4. Кушаковский М. С. // Аритмии сердца. – СПб., 2009. – 260 с.
5. Лекарственные препараты. Домашний справочник: Е.А. Василенко. – М.: Феникс, 2009. – 256 с.
6. Медицинский справочник (под ред. Сенева). – М., 2004.
7. Костюк Т.А., Платонов Д.Ю. Методические аспекты оценки профилактической активности больных гипертонической болезнью и хронической ишемической болезнью сердца // Верхневолжский медицинский журнал. – 2012. - №3. – С. 3–8.
8. Николаев Н.А., Поташов Д.А., Гнатко Г.И. и др. Внезапная коронарная смерть при ишемической болезни сердца, осложненной нарушением ритма // Сердце: журнал для практикующих врачей. – 2006. – № 5 (29). – С. 265–267.
9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией чл.-корр. РАМН, проф. Р.У. Хабриева. – 2-е изд.). – М.: ОАО Издательство «Мс», 2005. – 832 с.
10. Сафар П., Бичер. Д. Н. Сердечно-легочная и церебральная реанимация. – М., 2005.
11. Сиротенко Д.В. Антиаритмические свойства некоторых N-замещенных производных 4-гидрокси и 4-оксипиперидина: Автореферат дис. ... канд. мед. наук. – Старая Купавна, 2003. – 20 с.
12. Сернов Л.Н. Фармакологическая коррекция регионарного метаболического ацидоза и ограничение зоны некроза при острой ишемии миокарда: Дис. ... докт. мед.наук. – М., 1993.

13. Прозоровский В. Б., Прозоровская М. П. Табличный метод определения ED_{50} (DL_{50}) веществ с низкой биологической активностью // Фармакол. и токсикол. – 1980. – Т. 43. – № 6. – С. 733 – 735.

Марасанов Сергей Борисович – профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и клинической фармакологии.