

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Д.С.Блинов, В.П.Балашов, Л.В.Ванькова, С.Я.Скачилова,  
Л.А.Белова, Е.В.Блинова, И.А.Маркелова

### ПРОТИВОАРИТМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО АНТИГИПОКСАНТА ЭТОКСИДОЛА

ГОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П.Огарева», Саранск, Россия

*С целью исследования противоаритмической активности яблочнокислой соли 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина, запатентованной под названием «этоксидол» выполнены опыты с использованием трех моделей нарушений сердечного ритма: катехоламиновых микронекрозов миокарда у мышей, аконитиновых аритмий у мышей, острых окклюзионных и реперфузионных аритмий у кошек.*

**Ключевые слова:** цитопroteкция, мексикор, этоксидол, аконитиновые аритмии, окклюзионные и реперфузионные аритмии.

*To study the antiarrhythmic activity of 3 hydroxy 6 methyl 2 ethylpyridine malate patented as "Ethoxidol", experiments with the use of three following models of cardiac arrhythmias were carried out: catecholamine myocardial micronecroses in mice, Aconitine arrhythmias in mice, and acute occlusion and reperfusion arrhythmias in cats.*

**Key words:** cytoprotection, Mexicor, Ethoxidol, Aconitine arrhythmias, occlusion and reperfusion arrhythmias.

Одним из важнейших направлений развития фармакологической науки является разработка и внедрение в клиническую практику лекарственных средств природного и синтетического происхождения, условно называемых «препаратами метаболического типа действия» [2]. Эта «группа» объединяет средства, способные нормализовывать энергетический обмен в клетках, регулировать кислотно-щелочное равновесие, а также контролировать процессы перекисного окисления липидов. Основным итогом такого фармакологического воздействия оказывается универсальная цитопroteкция, позволяющая уменьшить размер и степень повреждения тканей различных органов [1, 6].

Ярким представителем данной группы лекарственных средств является 3-окси-6-метил-2-этилпиридина сукцинат, выпускаемый под коммерческими названиями «мексидол» и «мексикор». Перспективной областью применения этих препаратов является кардиология, доказана их антиишемическая и антиаритмическая активность, способность снижать токсичность противоаритмических средств, а также выявлены стресс-протекторные свойства. В то же время среди различных солей 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина имеются вещества, не уступающие, а иногда превосходящие янтарнокислую соль по своей фармакологической активности. Одним из таких соединений является яблочнокислая соль 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина, запатентованная под названием «этоксидол», исследованию противоаритмической активности которой и посвящена настоящая работа.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Противоаритмическую активность этоксидола изучали на трех моделях нарушений сердечного ритма: 1) катехоламиновых микронекрозов миокарда у мышей по Е.Н.Мооре, J.F.Spear [9]; 2) аконитиновых аритмий у мышей по Н.В.Кавериной и З.П.Сеновой [4]; 3) острых окклюзионных и реперфузионных аритмий у кошек по

Б.Г.Сторожук [7]. Критерием эффективности на первой модели являлись летальность животных, а также частота развития эктопических аритмий и блокад проведения. Адреналина гидрохлорид в дозе 200,0 мкг/кг (0,1% раствор в ампулах по 1 мл, АО «Московский эндокринный завод», Россия) инъецировали внутрибрюшинно через 10 минут после однократного внутрибрюшинного введения раствора изучаемого вещества. Предварительно (за 2-3 минуты до инъекции катехоламина) проводили интратрахеальную инстилляцию эфира для наркоза в объеме 0,1 мл/кг, с помощью микропипетки. У подопытных животных регистрировали ЭКГ во II стандартном отведении.

Все мыши были разделены на 4 группы. Животным 1 группы внутрибрюшинно вводили 0,9% физиологический раствор хлорида натрия (контроль). Животные 2 и 3 групп получали соответственно водные растворы препаратов сравнения пропранолола (0,5 мг/кг, внутрибрюшинно) и мексидола («Мексидол» ООО ПФ «Фармасофт», Россия, 5% раствор в ампулах по 2 мл, 20 мг/кг, внутрибрюшинно). Животные 4 группы получали внутрибрюшинно водный растворы этоксидола («Этоксидол», 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина гидроксисукцинат, субстанция ООО «ВНЦ БАВ», Россия в дозе 20 мг/кг). Последующую запись ЭКГ производили в течение 10 минут непрерывно, затем - каждые 30 секунд до констатации асистолии.

Об эффективности этоксидола в дозе 20 мг/кг внутрибрюшинно на второй модели судили по времени развития предсердных и желудочковых нарушений ритма, возникающих в ответ на внутривенную инъекцию аконитина в дозе 45 мкг/кг (аконитина нитрат, «Sigma»). Препаратом сравнения служил мексидол.

На третьей модели оценивали частоту развития нарушений ритма сердца, характер аритмий (экстрасистолия, тахикардия, фибрилляция желудочков). Рассчитывали суммарный индекс терапевтической активности (СИТА), величина которого обратно про-

порциональна активности препарата. О нарушении коронарного кровотока и ритма сердечной деятельности судили по ЭКГ, которую регистрировали во II стандартном отведении на протяжении 30 минут после коронарной окклюзии и 15 минут - после реперфузии миокарда. Проводили 3 серии опытов: 1 - в контрольной группе (n=31) животным вводили 3 мл 0,9% раствора физиологического раствора хлорида натрия; кошки 2 и 3 серий получали водные растворы этоксида и препарата сравнения мексидола по 20 мг/кг. Этоксидол и препарат сравнения вводили внутривенно медленно за 5 минут до окклюзии коронарной артерии в объеме 3 мл.

Статистическую обработку полученных данных проводили методами вариационной статистики [3].

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Опираясь на многочисленные исследования, посвященные противоишемическому действию производных 3-гидроксипиридина [5, 6], на первом этапе нашего исследования представляло интерес оценить эффективность этоксида в сравнении с пропранололом и мексидолом на модели адреналиновой интоксикации мышей. В контрольной серии опытов (табл. 1) введение адреналина гидрохлорида сопровождалось развитием желудочковых аритмий и блокад проведения у большинства подопытных животных. Летальность животных в контроле составила 100% и была обусловлена нарушениями проводимости и асистолией. Пропранолол в дозе 0,5 мг/кг достоверно снижал частоту развития нарушений ритма и проведения, однако не снижал высокую летальность животных.

Этоксидол и препарат сравнения мексидол в дозах 20,0 мг/кг не оказывали противоаритмического действия, однако, оба препарата снижали летальность мышей. При увеличении дозы этоксида в два раза его эффективность заметно возросла, поскольку наряду с минимальной летальностью животных также уменьшилось число мышей, у которых развивались эктопические нарушения ритма и наблюдалась тенденция к снижению частоты возникновения блокад проведения.

Для уточнения вероятных механизмов антиаритмического действия этоксида была выполнена серия экспериментов при аконитиновой интоксикации мышей. Внутривенное введение этоксида в дозе 20,0 мг/кг и препарата сравнения не предотвращало генерацию желудочковых аритмий.

Большой теоретический и практический интерес представляет изучение эффективности этоксида на модели раннего окклюзионного и реперфузионного повреждения миокарда у кошек (табл. 2), патогенез которого имеет многокомпонентный характер. В условиях моделирования острого ишемического повреждения миокарда у кошек этоксидол, как и препарат сравнения мексидол, при профилактическом внутривенном введении в дозе 20,0 мг/кг вызывал значительный протективный эффект по предотвращению ишемической аритмии. В условиях реперфузионного аритмогенеза оба препарата также проявляли антиаритмический эффект, однако этоксидол, в отличие от мексидола, предупреждал развитие фибрилляции желудочков.

Полученные результаты исследования позволяют говорить о наличии у этоксида противоаритмических свойств. Причем, активность препарата установлена лишь на тех моделях аритмий, в механизме возникновения которых ведущим звеном является ишемическое повреждение миокарда (модели адреналиновой и окклюзионно-реперфузионной аритмий). Косвенным доказательством отсутствия прямого воздействия препарата на функцию быстрых натриевых каналов является неэффективность этоксида в условиях аконитинового аритмогенеза [8].

Таблица 1.

*Эффективность этоксида при адреналиновой интоксикации мышей*

Препарат, доза, мг/кг	Число животных (%)			Погибло животных
	В опыте	С АВ блокадами	С аритмиями	
Контроль	14	11 (79)	13 (93)	14 (100)
Пропранолол, 0,5	14	4 (29)*	7 (50)*	11 (79)
Мексидол, 20	13	10 (77)	8 (62)	1 (8)*
Этоксидол, 20	14	10 (71)	10 (71)	2 (14)*
Этоксидол, 40	14	7 (50)	8 (57)*	1 (7)*

Таблица 2.

*Противоаритмическое действие этоксида на модели окклюзионных и реперфузионных аритмий у кошек*

Условия опыта	Количество животных						СИТА
	В опыте	Окклюзионная:		В опыте	Реперфузионная		
		Аритмия	ФЖ		Аритмия	ФЖ	
Контроль	31	31 (100%)	9 (29%)	23	23 (100%)	15 (65%)	4
Мексидол, 20,0 мг/кг	6	2 (33%)*	0 (0%)	6	4 (67%)*	3 (50%)	1,77
Этоксидол, 20,0 мг/кг	7	2 (29%)*	0 (0%)	7	4 (59%)*	0 (0%)*	0,88

где, ФЖ - фибрилляция желудочков, СИТА - суммарный индекс терапевтической активности, \* - отличия при сравнении с контролем достоверны при  $p < 0,05$  (критерий  $\chi$ -квадрат).

Сравнение антиаритмического эффекта этоксида и мексидола свидетельствует о некотором превосходстве первого препарата. Определяющим фактором этого обстоятельства является наличие в его структуре гидроксисукцината. Тогда, как фармакологическое действие мексидола традиционно связывают с анионным фрагментом, представленным сукцинатом. Результаты проведенного исследования позволяют предположить, что

Сравнение антиаритмического эффекта этоксида и мексидола свидетельствует о некотором превосходстве первого препарата. Определяющим фактором этого обстоятельства является наличие в его структуре гидроксисукцината. Тогда, как фармакологическое действие мексидола традиционно связывают с анионным фрагментом, представленным сукцинатом. Результаты проведенного исследования позволяют предположить, что

этоксидол может составить достойную альтернативу мексидолу как препарат комплексной терапии ишемически опосредованных нарушений сердечного ритма.

Таким образом этоксидол проявляет дозозависимую противоаритмическую активность на модели

адреналиновой аритмии у мышей. Этоксидол эффективен мексидолу по профилактике острых окклюзионных и реперфузионных аритмий у кошек, но превосходит препарат сравнения по противофибрилляторной активности.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Балашов В.П., Блинова Е.В., Блинов Д.С. и др. Сравнительная морфофункциональная характеристика миокарда мышей в условиях хронического стресса и терапии веществами с антиаритмической активностью // Морфологические ведомости. 2007. №1-2, С. 15-16.
2. Галенко-Ярошевский П.А., Гацура В.В. Экспериментальные аспекты оптимизации фармакотерапии острой ишемии миокарда. М.: «Медицина», 2000. - 384 с.
3. Закс Л. Статистическое оценивание. М. - Статистика, 1976. - С. 598.
4. Каверина Н.В., Сеннова З.П. Методические рекомендации по экспериментальному (фармакологическому) изучению препаратов, предлагаемых для клинических испытаний в качестве средств для профилактики и лечения нарушений сердечного ритма / Руководящие методические материалы по экспериментальному и клиническому изучению новых лекарственных средств. - М., 1981. - С. 97-103.
5. Сернов Л.Н., Смирнов Л.Д., Шапошникова Г.И., Гуранова Н.Н. Клинико-экспериментальное исследование противоишемической и гипополипидемической активности мексикора // Клин. исслед. лекарств. средств в России. - 2004. - №1. - С. 24-28.
6. Смирнов Л.Д. Структура, фармакологические свойства и медицинское применение гетероароматических антиоксидантов / Химическая и биологическая кинетика. Новые горизонты. - М.: «Химия», 2005. - С. 102-109.
7. Сторожук Б.Г. Противофибрилляторная активность некоторых антиаритмических средств при максимальной перевязке коронарной артерии и ее реперфузии у кошек // Фармакол. и токсикол. - 1985. - № 3. - С. 47-49.
8. Юрвичус И.А., Розенштраух Л.В. Формирование эктопического возбуждения в сердце под действием аконитина. II. Генерация осцилляторных колебаний мембранного потенциала и тока // Кардиология. - 1980. - №8. - С. 61-65.
9. Moore E.N., Spear J.F. Acute animal models for the study of antiarrhythmic drugs for the prevention of sudden coronary death // Clin. Pharmacol. Antiarrhythmic Therapy. - New-York, 1984. - P. 31-46.

#### ПРОТИВОАРИТМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО АНТИГИПОКСАНТА ЭТОКСИДОЛА

*Д.С.Блинов, В.П.Балашов, Л.В.Ванькова, С.Я.Скачилова, Л.А.Белова, Е.В.Блинова, И.А.Маркелова*

С целью исследования противоаритмической активности яблочнокислой соли 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина, запатентованной под названием «этоксидол» использовались три модели нарушений сердечного ритма: 1) катехоламиновых микроинфарктов миокарда у мышей по E.N.Moore, J.F.Spear; 2) аконитиновых аритмий у мышей по Н.В.Кавериной и З.П.Сеновой; 3) острых окклюзионных и реперфузионных аритмий у кошек по Б.Г.Сторожук. Адреналина гидрохлорид в дозе 200,0 мкг/кг инъецировали внутривенно через 10 минут после однократного внутривенного введения раствора изучаемого вещества. Животным 1 группы внутривенно вводили 0,9% физиологический раствор хлорида натрия (контроль), 2 и 3 группы получали пропранолола (0,5 мг/кг) и мексидола (20 мг/кг), 4 группа получала этоксидола (20 мг/кг). Последующую запись ЭКГ производили в течение 10 минут непрерывно, затем - каждые 30 секунд до констатации асистолии. Об эффективности этоксидола в дозе 20 мг/кг в сравнении мексидолом внутривенно на второй модели судили по времени развития предсердных и желудочковых нарушений ритма, возникающих в ответ на внутривенную инъекцию аконитина в дозе 45 мкг/кг. На третьей модели оценивали частоту развития нарушений ритма сердца, характер аритмий (экстрасистолия, тахикардия, фибрилляция желудочков) на протяжении 30 минут после коронарной окклюзии и 15 минут после реперфузии миокарда. Проводили 3 серии опытов: в контрольной группе вводили 3 мл 0,9% раствора физиологического раствора хлорида натрия; кошки 2 и 3 серий получали водные растворы этоксидола и мексидола по 20 мг/кг, которые вводили внутривенно медленно за 5 минут до окклюзии коронарной артерии.

При оценке эффективности этоксидола в сравнении с пропранололом и мексидолом на модели адреналиновой интоксикации мышей в контрольной серии опытов желудочковые аритмии и блокады проведения зарегистрированы у 79 и 93% животных, летальность составила 100%. Пропранолол в дозе 0,5 мг/кг достоверно снижал частоту развития нарушений ритма и проведения, однако не снижал высокую летальность животных. Этоксидол и мексидол в дозах не оказывали противоаритмического действия, однако снижали летальность мышей. При увеличении дозы этоксидола в два раза его эффективность заметно возросла. При аконитиновой интоксикации мышей этоксидол и мексидол не предотвращали желудочковые аритмии. При остром ишемическом повреждении миокарда у кошек этоксидол и мексидол вызывали значительный протективный эффект по предотвращению ишемической аритмии, в условиях реперфузионного аритмогенеза оба препарата также проявляли антиаритмический эффект, однако этоксидол, в отличие от мексидола, предупреждал развитие фибрилляции желудочков. Таким образом этоксидол проявляет дозозависимую противоаритмическую активность на модели адреналиновой аритмии у мышей и эффективен мексидолу по профилактике острых окклюзионных и реперфузионных аритмий у кошек, но превосходит препарат сравнения по противофибрилляторной активности.

## ANTIARRHYTHMIC ACTIVITY OF A NEW ANTIHYPOXANT ETHOXIDOL

*D.S. Blinov, V.P. Balashov, L.V. Van'kova, S.Ya. Skachilova, L.A. Belova, E.V. Blinova, I.A. Markelova*

To study the antiarrhythmic activity of 3 hydroxy 6 methyl 2 ethylpyridine malate patented as "Ethoxidol", three following models of cardiac arrhythmias were used: (1) catecholamine myocardial micronecroses by Moore and Spear, (2) aconitine arrhythmias in mice by Kaverina and Senova, and (3) acute occlusion and reperfusion arrhythmias in cats by Storozhuk. Epinephrine hydrochloride was injected intraperitoneally in a dose of 200 µg/kg 10 minutes after a single intraperitoneal injection of the solution of the study substance. Normal saline was administered to animals of Group 1 (control); Propranolol in a dose of 0.5 mg/kg, in Group 2; Mexidol in a dose of 20 mg/kg, in Group 3, and Ethoxidol in a dose of 20 mg/kg, in Group 4. Then, ECG was recorded continuously for 10 min and subsequently each 30 s up to asystole. Effectiveness of Ethoxidol in a dose of 20 mg/kg in comparison with Mexidol was assessed by the time of development of atrial and ventricular arrhythmias in response to intravenous infusion of Aconitine in a dose of 45 µg/kg. With the aid of the third model, the incidence of cardiac arrhythmias and the type of arrhythmia (premature beats, tachycardia, or ventricular fibrillation) were assessed within 30 min following coronary occlusion and 15 min following myocardial reperfusion. Three series of experiments were performed: 3 ml of normal saline were administered in the control group; water solutions of Ethoxidol (Group 2) and Mexidol (Group 3), both in a dose of 20 mg/kg, were injected intravenously slowly 5 min prior to coronary occlusion.

When assessing effectiveness of Ethoxidol in comparison with Propranolol and Mexidol on the model of mice epinephrine intoxication, ventricular arrhythmias and block were observed in the control series of experiments in 79% and 93% of the animals, with the lethality of 100%. Propranolol in a dose of 0.5mg/kg led to a significant decrease in prevalence of arrhythmias and blockades, however without a positive effect on the lethality of mice. Both Ethoxidol and Mexidol in a dose of 20 mg/kg showed no antiarrhythmic effect but decreased the mice lethality. In the case of a twofold increase in a dose of Ethoxidol, its effect pronouncedly increased. In the case of Aconitine intoxication of mice, both Ethoxidol and Mexidol did not prevent ventricular arrhythmias. In the case of the acute ischemic myocardial damage in cats, Ethoxidol and Mexidol showed a pronounced protective effect as to ischemic arrhythmia; under conditions of reperfusion, both substances showed antiarrhythmic effect as well; however, Ethoxidol, as distinct from Mexidol, prevented the development of ventricular fibrillation.

Thus, Ethoxidol manifests dose related antiarrhythmic effect on the model of epinephrine arrhythmia in mice; it is equivalent to Mexidol with regard to prevention of acute occlusion and reperfusion arrhythmias in cats and exceeded Mexidol in preventing ventricular fibrillation.