

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Г.Г.Чичканов, И.Б.Цорин

**К ФАРМАКОЛОГИИ НОВОГО АНТИАРИТМИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА
V КЛАССА***НИИ фармакологии РАМН, Москва, Россия*

Дана характеристика производного 2-меркаптобензимидазола - специфического брадикардического средства, продемонстрирована его выраженное антиаритмическое и антифибрилляторное действие.

Ключевые слова: производные 2-меркаптобензимидазола, специфические брадикардические средства, аритмии, фибрилляция желудочков.

Characteristic of derivative of 2-mercaptobenzimidazole- specific bradycardic agent was given and it pronounced antiarrhythmic and antifibrillatory action was shown.

Key words: derivatives of 2-mercaptobenzimidazole, specific bradycardic agents, arrhythmias, ventricular fibrillation

Одним из важных и перспективных направлений в области поиска и создания новых эффективных средств для лечения больных ИБС и ее осложнений в виде нарушений ритма сердечной деятельности (НРС) могут явиться специфические брадикардические средства. В определенном диапазоне доз эти препараты значительно уменьшают частоту сердечных сокращений (ЧСС) и оказывают выраженное антиаритмическое и противоишемическое действие [8, 11-13].

При этом практически не изменяются такие важные показатели гемодинамики и деятельности сердца, как артериальное давление (АД), сердечный выброс, сократительная функция миокарда [13]. В этом отношении специфические брадикардические средства имеют ряд преимуществ перед препаратами, которые сейчас находят основное применение при ИБС - бета-адреноблокаторами, нитратами, антагонистами кальция.

Эти вещества воздействуют непосредственно на синусовый узел (СУ), уменьшая скорость медленной диастолической деполяризации в пейсмекерных клетках. По данным ряда исследователей, они ингибируют анион-селективные хлорные каналы мембран. Особенности антиаритмического действия (ААД) специфических брадикардических средств позволили отнести их к новому V классу ААП [15].

В НИИ фармакологии РАМН в течение последних 10 лет проводится интенсивная работа по поиску новых эффективных специфических брадикардических средств. Такие вещества были впервые найдены среди производных 2-меркаптобензимидазола. Самое активное из них имеет шифр СМ-345. Изучению антиаритмических свойств этого соединения и посвящено настоящее исследование.

МЕТОДЫ

Для суждения о влиянии вещества на гемодинамику и деятельность сердца был применен электромагнитный метод регистрации кровотока в восходящей части дуги аорты у наркотизированных этаминал-натрием (40 мг/кг, в/в) кошек в условиях вскрытой грудной клетки и искусственного дыхания.

В опытах использовали электромагнитный измеритель потока крови MFV-1200 фирмы «Nihon Kohden» (Япония).

Проводя фазовый анализ кровотока в аорте, считывали следующие показатели гемодинамики и деятельности сердца: частоту сердечных сокращений, систолический и сердечный выбросы, среднее ускорение кровотока в аорте [7]. Для изучения механизмов действия соединения СМ-345 исследовали его влияние на медленную диастолическую деполяризацию клеток узловой ткани сердца.

Эксперименты проводили на спонтанно сокращающихся венозных синусах лягушки *Rana temporaria*, погруженных в камеру с раствором Рингера для холоднокровных животных. Для отведения потенциалов действия (ПД) использовали стандартную микроэлектродную технику. Результаты обрабатывали статистически с помощью t-критерия Стьюдента для попарно связанных вариантов, при уровне значимости $p=0,05$, критерий двусторонний.

Антиаритмические свойства соединения СМ-345 изучали на хлоридкальциевой и аконитиновой моделях аритмий у бодрствующих крыс самцов массой 180-200 г, а также на адреналиновой модели нарушений ритма сердца у бодрствующих кроликов [4]. Острую токсичность определяли на крысах массой 180-200 г при в/в введении исследуемых веществ [4]. Среднюю эффективную и летальную дозы (ED50 и LD50) 40 рассчитывали по методу Литчфилда (1).

Антиаритмические свойства вещества СМ-345 были также изучены на модели НРС у бодрствующих собак с двухступенной перевязкой коронарной артерии по Harris (10). Через 24 часа после операции у собак в свободном поведении регистрировали ЭКГ во II стандартном отведении. Рассчитывали ЧСС, число эктопических сокращений за 1 мин. Соединение вводили в/в в водном растворе в дозе 2 мг/кг.

Результаты обрабатывали статистически с помощью t-критерия Стьюдента для попарно связанных вариантов, при уровне значимости $p=0,05$, критерий двусторонний.

Антифибрилляторное действие соединения изучали в опытах на наркотизированных этаминал-натрием

крысах самцах массой 180-240 г в условиях открытой грудной клетки и искусственного дыхания. У животных с помощью специального приспособления вызывали окклюзию левой коронарной артерии в 1-2 мм от ее начала. Через 7 минут производили реперфузию. Именно в этот период возникает наибольшее количество (70-100%) фибрилляций желудочков (ФЖ)[14]. ЭКГ во II стандартном отведении регистрировали с помощью прибора «Мингограф-81».

Подсчитывали количество случаев ФЖ во время окклюзии и реперфузии, аритмий опасных для жизни (ФЖ + пароксизмальные желудочковые тахикардии-ЖТ), общее количество НРС. В качестве препарата сравнения использовали известный ААП боннекор [3]. Вещества вводили в/в в следующих дозах: боннекор - 1 мг/кг; соединение СМ-345 - 2 мг/кг.

В контрольной серии опытов вводили эквивалентный объем физиологического раствора (1 мл/кг). Всего было использовано 44 крысы. Результаты подвергали статистической обработке.

Проводили бальное шкалирование выборок: отсутствие аритмий - 0 баллов; экстрасистолия - 1 балл; пароксизмальная ЖТ - 2 балла; ФЖ, возникшая во время реперфузии - 3 балла; ФЖ, возникшая во время окклюзии венечного сосуда - 4 балла. Значимость изменений определяли с помощью метода точной вероятности Фишера и метода Вилкоксона для несвязанных выборок [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Опыты показали, что соединение СМ-345, введенное в/в, вызывает выраженную брадикардию, длительность которой в значительной мере зависит от используемой дозы. После введения вещества в дозах 0,5 и 1,0 мг/кг урежение сердечных сокращений продолжается 23,6 ± 3,2 минут ($p < 0,01$), а в дозах 2,0 и 3,0 мг/кг - возрастает до 45 мин.

Если вещество СМ-345 сразу после в/в введения болюсом в дозе 2 мг/кг продолжали вводить со скорос-

тью 50 мкг/кг/мин, то брадикардия наблюдалась в течение всего эксперимента. Урежение ЧСС сопровождается некоторым увеличением систолического выброса, при этом другие показатели гемодинамики не изменяются (табл.1).

В качестве препарата сравнения использован верапамил, который является структурным аналогом фалипамила - классического специфического брадикардического средства. Опыты показали, что верапамил в дозе 0,5 мг/кг также вызывает заметную брадикардию. Однако под его влиянием значительно снижалось системное АД, уменьшалось среднее ускорение кровотока в аорте, что свидетельствует об угнетении сократительной функции сердечной мышцы (табл.1).

Ранее с помощью фармакологического анализа мы показали, что брадикардический эффект соединений изучаемого нами ряда связан с их непосредственным воздействием на пейсмекерные клетки СУ [6]. Это в полной мере относится и к соединению СМ-345. Опыты с использованием микроэлектродной техники показали, что это вещество в концентрации 1 мкМ увеличивает длительность медленной диастолической деполяризации в пейсмекерных клетках СУ на 0,18 7± 00,02 с ($p < 0,01$) и уменьшает ее скорость на 23,1 7± 01,8 мВ/с ($p < 0,01$; рис.1).

Именно такое действие является одним из основных признаков специфических брадикардических средств (9). Были изучено действие соединения СМ-345 на различных моделях НРС. Использовали адреналиновую модель НРС у бодрствующих кроликов, а также хлоридкальциевую и аконитиновую модели у бодрствующих крыс. Такой подход дает возможность выявить у ААП свойства, позволяющие отнести его к тому или иному классу ААП по классификации Воган-Вильямса [2].

Опыты показали, что изучаемое соединение обладает выраженным антиаритмическим действием на адреналиновой модели нарушения ритма сердца, почти не уступая в этом случае верапамилу и пропранололу, антиаритмикам 4 и 2 классов, соответственно, и

Таблица 1.

Влияние соединения СМ-345 и верапамила в дозах 0,5 мг/кг на гемодинамику и деятельность интактного сердца кошки ($n=7$, $M \pm m$).

Показатель	Препарат	Изменения после введения препарата, % от исходного уровня					
		Сразу после введения	Через 2 мин	Через 5 мин	Через 10 мин	Через 20 мин	Через 30 мин
Среднее артериальное давление	СМ-345	-2,1±3,0	+4,4±4,7	-5,4±2,3	-1,2±3,6	-4,4±4,4	-4,9±6,5
	Верапамил	-40,4±7,0**	-22,7±8,1*	-8,7±6,3	-2,4±2,6	-3,3±4,5	-11,6±7,0
Частота сердечных сокращений	СМ-345	-8,0±3,5	-11,6±2,8**	-9,1±2,5*	-7,3±1,6**	-5,9±1,8*	-5,3±2,3
	Верапамил	-13,7±1,7**	-11,8±2,0**	-12,3±3,0**	-8,1±2,0**	-5,7±2,2*	-4,6±3,4
Систолический выброс	СМ-345	+17,0±5,5*	+9,4±6,5	+5,6±5,6	+3,6±3,0	-3,0±4,8	+1,8±9,3
	Верапамил	+2,5±5,6	+13,2±3,4*	+14,1±5,6*	+8,2±3,1*	+1,4±2,8	-2,9±4,6
Сердечный выброс	СМ-345	+6,5±2,8	-3,5±6,0	-1,7±4,8	-4,2±2,1	-9,1±3,9	-2,8±7,8
	Верапамил	-12,3±4,5*	+7,5±6,8	+4,4±4,7	-0,3±1,8	-3,6±1,1*	-7,2±6,0
Среднее ускорение кровотока в аорте	СМ-345	+8,8±5,8	+11,0±8,8	+0,6±4,9	+3,0±4,0	+5,7±4,4	+1,8±5,8
	Верапамил	-32,5±5,7**	-15,5±2,4**	-8,1±3,0*	-9,9±2,5**	-8,7±2,9*	-7,0±4,2

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ - по отношению к исходному уровню.

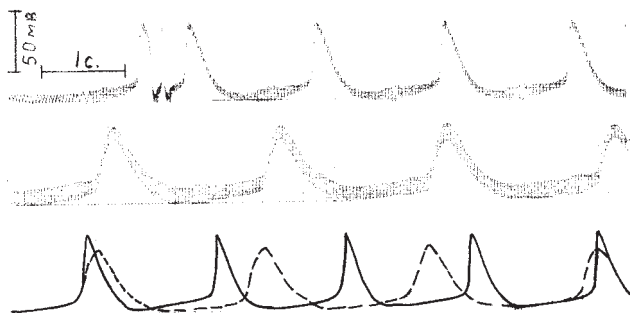


Рис. 1. Влияние соединения SM-345 (1 мкМ) на спонтанные потенциалы действия пейсмекерной клетки синусового узла сердца лягушки. Сверху вниз: потенциалы действия до внесения вещества; потенциалы действия через 5 минут после внесения соединения; наложение двух предыдущих записей.

значительно превосходит ААП I класса - хинидин и лидокаин (табл.2).

На аконитиновой модели аритмии это вещество также оказывает значительный антиаритмический эффект. При этом по активности оно превосходит известные ААП I класса хинидин и лидокаин в 4,4 и 6,5 раза, соответственно. Соединение SM-345 на этой модели значительно превосходило по широте терапевтического действия вышеупомянутые эталонные препараты, так как имело более высокий антиаритмический индекс (ED_{50}/LD_{50} , табл.2).

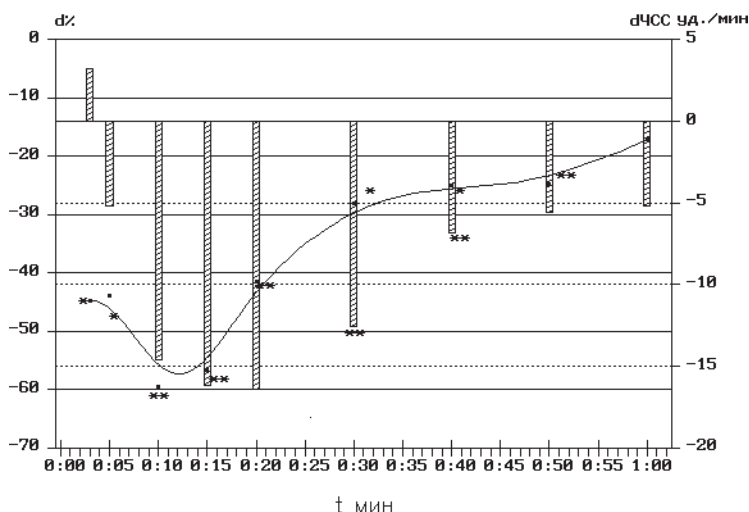


Рис.2. Влияние соединения SM-345 (2 мг/кг, в/в) на количество эктопических сокращений сердца у бодрствующих собак в опытах по Harris. По оси абсцисс - время в минутах; по левой оси ординат - изменение частоты эктопий в %; по правой - изменение частоты сердечных сокращений (уд/мин). Столбики - изменение частоты сердечных сокращений; кривая - изменение количества эктопий. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ - по отношению к исходному уровню.

Изучаемое вещество предупреждает возникновение аритмий, вызываемых хлоридом кальция. По активности на этой модели НРС оно также превосходит ААП I класса хинидин и лидокаин и не уступает антиаритмику IV класса верапамилу. Однако его токсичность ниже, чем у верапамила и, следовательно, оно имеет большую широту терапевтического действия (табл. 2).

Таким образом, исходя из анализа действия изучаемого соединения на трех вышеупомянутых моделях аритмий, можно прийти к заключению, что оно не только относится к новому V классу антиаритмического действия, являясь специфическим брадикардическим средством, но и обладает свойствами антиаритмиков I, II и IV классов.

Таблица 2.

Антиаритмическая активность соединения SM-345 в сравнении с известными антиаритмическими препаратами.

Соединение	Адреналиновая аритмия. Диапазон эффективных доз, мг/кг	Хлорид-кальциевая аритмия ED_{50} , мг/кг	Аконитиновая аритмия ED_{50} , мг/кг	Острая токсичность LD_{50} , мг/кг	LD_{50}/ED_{50}
SM-345	0,3-0,7	1,0 0,7-1,3	1,2 0,9-1,5	31,5 31,4-31,6	26,2
Хинидин	-	-	5,3	60,0	11,3
Лидокаин	5,0-8,0	7,5	7,8	39,4	5,0
Верапамил	0,3-1,0	1,1	-	17,0	-
Пропранолол	0,3-1,0	0,8	-	9,6	-

* - аритмический индекс (LD_{50}/ED_{50}) рассчитан по отношению к аконитиновой аритмии.

Принимая во внимание то обстоятельство, что в клинике большой вес имеют аритмии, возникающие в условиях инфаркта миокарда (ИМ), представлялось интересным изучить антиаритмическое действие соединения SM-345 на модели по Harris. Считается, что эта модель наиболее приближена к клиническим условиям. Как показали опыты на собаках, изучаемое вещество было очень эффективным на данной модели. Через 5-10 минут после введения оно приводило к длительной брадикардии и выраженному антиаритмическому действию, которое продолжалось до 50 минут (рис. 2).

Не менее интересным было изучить противofiбрилляторное действие нового соединения. Для этого была использована известная модель ФЖ у наркотизированных крыс [14]. Опыт показал, что изучаемое вещество в дозе 2 мг/кг подобно эталонному препарату боннектору в значительной мере предупреждает возникновение ФЖ у крыс. При этом значительно уменьшается количество опасных для жизни аритмий (ФЖ + пароксизмальные ЖТ), а также снижается их тяжесть (рис. 3).

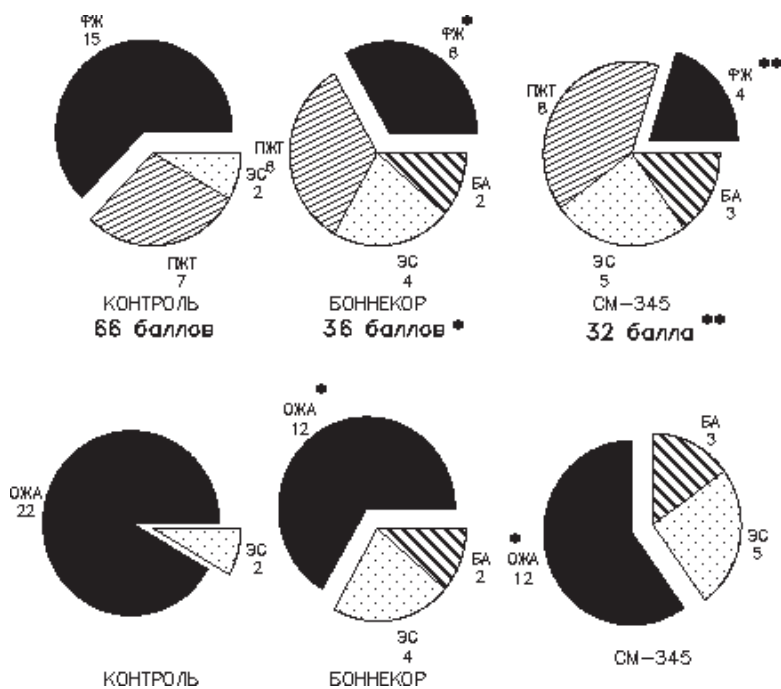


Рис.3. Влияние соединения СМ-345 (2 мг/кг) и боннекора (1 мг/кг) на число случаев возникновения фибрилляций желудочков (ФЖ; верхний ряд) и опасных для жизни аритмий (ОЖА; нижний ряд) у наркотизированных крыс во время 7-минутной окклюзии и последующей реперфузии коронарной артерии. ПЖТ - параксизмальные желудочковые тахикардии; ЭС - экстрасистолия; БА - без аритмий. В баллах указана тяжесть аритмий. * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ - по отношению к контрольной группе.

Таким образом, соединение СМ-345 подобно известным специфическим брадикардическим средствам алинидину, фалипамилу, UL-FS49 [11, 13] обладает не только выраженным антиаритмическим, но и противофибрилляторным действием. Все сказанное свидетельствует о том, что выявленное новое производное 2-меркаптобензимидазола СМ-345 представляет несомненный интерес в плане его дальнейшего изучения с целью внедрения в клиническую практику в качестве антиаритмического средства нового V класса.

ВЫВОДЫ

1. Производное 2-меркаптобензимидазола СМ-345, уменьшая скорость медленной диастолической деполяризации, вызывает значительную брадикардию и практически не влияет на другие показатели насосной и сократительной функции сердца, что дает возможность отнести его к группе специфических брадикардических средств.
2. Вещество СМ-345 на различных моделях нарушения ритма сердца обладает выраженным антиаритмическим и противофибрилляторным действием.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта // Рига, «Издательство Академии наук Латвийской ССР», 1959. - 116 с.
2. Бердяев С.Ю. Современные аспекты поиска новых антиаритмических средств // Фармакол. и токсикол. - 1987. - т.50, №4. - с.5-14.
3. Григорьева Е.К., Горбунова В.В. Противофибрилляторные свойства боннекора // В сб. «Новый антиаритмический препарат боннекор (фармакология и клиническое применение)» под ред. Н.В.Кавериной, Г.Г.Чичканова. - М., 1993. - с.64-67.
4. Каверина Н.В., Сенова З.П. Методические рекомендации по экспериментальному (фармакологическому) изучению препаратов, предлагаемых для клинических испытаний в качестве средств для профилактики и лечения нарушений ритма сердца // М., 1981.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия // М., «Высшая школа», 1990. - 293 с..
6. Середенин С.Б., Чичканов Г.Г., Савельев В.Л. и соавт. Производные 2-меркаптобензимидазола, обладающие фармакологической активностью // Заявка РСТ\RU 95/00085, опубликована 21.12.95.
7. Чичканов Г.Г., Цорин И.Б. О влиянии некоторых антигипоксантов на кровоснабжение и функциональное состояние интактного и ишемизированного миокарда // Фармакол. и токсикол. - 1985. - т. 48, N2. - с.49-54.
8. Daemmgen J.W., Kadatz R., Diederer W. Cardiovascular actions of 5,6-dimethoxy-2-[3[[(7a 0(3,4-dimethoxy)-phenyl]methylamino)- propyl]phtalimidine (AQ-A 39), a specific bradycardic agent. //Arzneim.-Forsch. - 1981. - v.31. - p.666-670.
9. Doerr Th., Trautwein W. On the mechanism of «Specific bradycardic action» of the verapamil derivative UL-FS 49. / Naunyn Schmiedebergs arch. pharmacol. - 1990 - v.341, N4. - p.331-340.
10. Harris P.A. Delayed development of ventricular ectopic rhythm following experimental coronary occlusion. //Circulation. - 1950. - v.1. - p.1318-1328.
11. Harron D.W.G., Shanks R.G. Pharmacology, clinical pharmacology and potential therapeutic uses of the specific bradycardic agent alinidine. //Eur. Heart J. - 1985. - N 6. - p. 722-729.
12. Ishibashi T., Matsubara T., Nakazawa M. et al. On the mode cardioprotection produced by a new bradycardic agent FR 76830, during ishaemia and after reperfusion in the isolated perfused rat heart a 31P-NMR study. //Cardiov. Res. - 1990. - v. 24, N 12. - p. 1008-1012.
13. Kobinger W., Lillie C. Cardiovascular characterization of UL-FS 49, 1,3,4,5-tetrahydro-7,8-dimethoxy-3-[3-[(3,4-dimethoxyphenyl)- et- hyl]methylimino]-propyl]-2H-3-benzazepin-2-onhydrochloride, a new «specific bradycardic agent». //Eur. J. Pharmacol. - 1984. - v.104. - p.9-18.
14. Krzeminski T., Grzyb J., Kurcok A., Brus R. Ischemia and reperfusion-induced early arrhythmias in vivo: cardioprotective effects of difibrotide. //Pol. J. Pharmacol. and Pharm. - 1992. - v.44, Suppl. - p.169-170.

15. Vaughan Williams E.M., Dennis P.D., Garnham C. Circadian rhythm of heart rate in the rabbit: prolongation of action potential duration by sustained beta adrenoceptor blockade is not due to associated bradycardia. //Cardiovasc. Res. - 1986. - v.20. - p.528-535.

К ФАРМАКОЛОГИИ НОВОГО АНТИАРИТМИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА V КЛАССА

Г.Г.Чичканов, И.Б.Цорин

Среди производных 2-меркаптобензимидазола найдено соединение, которое можно отнести к специфическим брадикардическим средствам. У животных различных видов, оно вызывает значительную брадикардию и не оказывает существенного влияния на системное артериальное давление, сердечный выброс, сократительную функцию миокарда. Вещество действует непосредственно на синусовый узел, уменьшая скорость медленной диастолической деполяризации в пейсмекерных клетках. На различных моделях нарушений ритма сердца показано, что новое производное 2-меркаптобензимидазола обладает выраженным антиаритмическим и противофибрилляторным действием.

SUMMARY PHARMACOLOGY OF A NOVEL ANTIARRHYTHMIC DRUG OF CLASS V.

G.G.Chichkanov, I.B.Tsorin

Among the derivatives of 2-mercaptobenzimidazole a substance was found which can be regarded as a specific bradycardic agent. In animals of different species this substance was shown to produce a significant bradycardia. It had no serious effect on systemic arterial blood pressure, cardiac output and myocardium contractility. The substance acted directly on the sinus node decreasing the rate of slow diastolic depolarisation in pacemaker cells. In different models of cardiac rhythm disturbances it was shown that a novel 2-mercaptobenzimidazole derivative has a pronounced antiarrhythmic and antifibrillatory action.