

УДК 616-005.4: 615.217.34:547.756

Цубанова Н.А.

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ НОВОГО СТРУКТУРНОГО АНАЛОГА МЕЛАТОНІНУ ЗА УМОВ ПАТОЛОГІЙ МІОКАРДА РІЗНОГО ҐЕНЕЗУ

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

*У статті представлені матеріали дослідження кардіопротекторної дії оригінальної нової сполуки із ряду структурних аналогів мелатоніну (сполука 77) в дозі 5 мг/кг на фоні експериментальних модельних патологій міокарду ішемічного та токсичного ґенезу. Встановлено, що нова сполука проявляє значну кардіопротекторну дію за умов гострого ішемічного ураження міокарда за методом R. B. Jennings та на фоні гострого токсичного міокардиту. На моделі гострого інфаркту міокарда за методом R. B. Jennings ефективність досліджуваної сполуки в дозі 5 мг/кг децю перевищує кардіопротекторний вплив мексидолу у дозі 100 мг/кг за відновленням кардіогемодинамічних показників. За умов гострого токсичного міокардиту захисна дія сполуки 77 вірогідно перевищує активність мексидолу (100 мг/кг) за такими показниками як: зниження активності процесів цитолізу, гіпертофії міокарда та нормалізації балансу у системі перекисне окиснення ліпідів – ендогенна антиоксидантна дія. Результати досліджень свідчать про виражений кардіопротекторний ефект досліджуваної сполуки з ряду нових структурних аналогів мелатоніну, який не залежить від ґенезу ураження міокарда.*

Ключові слова: структурні аналоги мелатоніну, мексидол, кардіопротекція

На сьогоднішній день серцево-судинні захворювання є найчастішою причиною смерті населення як у світі [7,9], так і в Україні [3]. Вони становлять 61,8 % у структурі смертності, залишивши позаду онкологічні захворювання, туберкульоз, травми та ін. [4]. Порушення кровообігу міокарда є основним патогенетичним фактором прогресування ішемічної хвороби серця та розвитку інфаркту міокарда (ІМ). Нівелювання ішемічного епізоду та відновлення кардіогемодинаміки в умовах гіпоксії залишаються провідними напрямками медикаментозної терапії ішемічних уражень міокарда. За результатами сучасних клінічних досліджень доведено доцільність застосування антигіпоксантив у кардіологічній практиці [10-14]. Мексидол - препарат з антигіпоксантиною та метаболічною дією та найбільшою базою доказових досліджень [3,6], але також має побічну дію, протипоказання та обмеження у застосуванні у певних груп пацієнтів. У зв'язку з цим пошук та створення нових кардіопротекторів з антигіпоксантиною та метаболічною дією є актуальним питанням сучасної медицини та фармації. Перспективним напрямом пошуку нових лікарських препаратів є комбінаторний цілеспрямований синтез БАР на основі молекул ендогенних метаболітів [13]. Важливим об'єктом для подібного підходу в конструюванні БАР є нейрогормон епіфізу мелатонін. Вченими НФаУ, під керівництвом проф. Шемчука Л.А. було синтезовано нові структурні аналоги мелатоніну серед 4,3'-спіро-2-оксоіндоліл-похідних 2-аміно-3-*R*-4*H*-піранів, які містять аміноалкільний фармакофор, та створено нову комбінаторну бібліотеку з конденсованих гетероциклічних сполук з ядром 4*H*-пірано[3,2-*c*]хромену. За результатами попередніх досліджень, як найбільш перспективну сполуку обрано – 4,3'-спіро[(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано[3,2-*c*]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндол] (сполука 77), що виявила значну антигіпоксантину активність [5].

### Мета дослідження

Вивчення кардіопротекторного впливу нового структурного аналогу мелатоніну та порівняння його дії з мексидолом на моделі гострого ішемічного ІМ та на фоні гострого токсичного міокардиту. Роботу виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт НФаУ МОЗ України у межах теми «Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування у медичній практиці» (№ 01103U000478).

### Матеріали та методи

Гострий ІМ викликали за методом R. B. Jennings [8] на нелінійних щурах масою 180-200 г під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг). Летальність тварин від самої операції становила 10-15% і не враховувалась в кількість тварин, взятих в експеримент. За методикою R. B. Jennings, при оклюзії коронарної артерії задній папілярний м'яз знаходиться у зоні вираженої ішемії і через 60-120 хв після перев'язування розвивається гострий ІМ. Сполуку 77 (5 мг/кг) та препарат порівняння мексидол (ТОВ «НВК «Фармасофт», Росія, у дозі 100 мг/кг) вводили одноразово парентерально відразу після оклюзії. Для групи псевдооперованного контролю під наркозом проводили торако-перикардотомію без накладання оклюзії, для реєстрації показників кардіогемодинаміки. Діяльність серцево-судинної системи оцінювали за показниками артеріального тиску (АТ), частоти серцевих скорочень (ЧСС) та ударного об'єму серця.

Ізадринний міокардит викликали у білих безпорідних щурів-самців масою 190-240 г внутрішньом'язовим введенням розчину ізопреналіну (ізадрину) в дозі 60 мг/кг протягом 4-х діб [1]. Сполуку 77 у дозі 5 мг/кг вводили щодня у шлунок у лікувально-профілактичному режимі протягом

6 діб (4 доби на тлі введення ізадрину та 2 доби після моделювання міокардиту). Препарат порівняння мексидол вводили у дозі 100 мг/кг за аналогічною схемою. Кардіотоксичну дію ізадрину оцінювали за активністю аспартатамінотрансферази (АсАТ), коефіцієнтом маси серця (КМС) та показниками системи перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) – антиоксидантна система (АОС). Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistika Analystsoft з використанням критерію Ст'юдента [15].

### Результати та їх обговорення

Гострий оклюзійний ІМ розвивається протягом 60-120 хв внаслідок оклюзії висхідної гілки лівої коронарної артерії та характеризується прогресуючим зниженням показників діяльності серця (табл. 1).

Таблиця 1.  
Вплив сполуки 77 та мексидолу на стан кардіогемодинаміки щурів на тлі гострого оклюзійного інфаркту міокарда (n=6)

Умови досліджу	Час після оклюзії	Показники		
		АТ, мм.рт.ст.	ЧСС, уд/хв	Ударний об'єм серця, мл
Псевдооперований контроль	-	108±1,3	470±15	1,35±0,01
	15 хв	88,0±1,2*	454±17	1,25±0,02*
	60 хв	84,8±2,1*	420±10*	1,16±0,02*
Контрольна патологія (оклюзія)	120 хв	69,0±1,6*	390±9,7*	1,19±0,02*
	15 хв	90,0±1,1*	461±14	1,29±0,03
	60 хв	100±1,3 <sup>#</sup> *	466±12 <sup>#</sup>	1,32±0,07
Оклюзія + сполука 77, 5 мг/кг	120 хв	106±1,23 <sup>#</sup> §	469±14 <sup>#</sup>	1,34±0,02 <sup>#</sup>
	15 хв	87,3±2,5*	456±16	1,27±0,02*
	60 хв	82,8±2,3*	462±10 <sup>#</sup>	1,29±0,06
Оклюзія + мексидол, 100 мг/кг	120 хв	95,5±1,2* <sup>#</sup>	462±12 <sup>#</sup>	1,28±0,02* <sup>#</sup>

Примітки: 1. \* – статистично значущі відмінності з показниками групи псевдооперованого контролю,  $p < 0,05$ ; 2. <sup>#</sup> – статистично значущі відмінності з показниками групи контрольної патології у той самий час оклюзії,  $p < 0,05$ ; 3. <sup>§</sup> – статистично значущі відмінності з показниками групи препарату порівняння мексидолу,  $p < 0,05$ .

У тварин групи контрольної патології через 15 хв після оклюзії коронарної артерії систолічний АТ знизився відносно показника псевдооперованих тварин на 19%, через 60 хв – на 22%, а через 120 хв зниження на 34% сягнув критичних значень (69,0±1,6 мм.рт.ст). Зареєстровано вірогідний розвиток брадикардії з 60 хв досліджу (420±10 уд/хв) до 120 хв експерименту (390±9,7 уд/хв). Значне порушення кардіогемодинаміки підтверджує достовірне зниження ударного об'єму серця протягом досліджу (табл. 1). Введення сполуки 77 нормалізувало досліджувані показники функціональної активності серцево-судинної системи. Особливо слід відзначити, що на відміну від прогресуючої динаміки розвитку гострого ІМ у тварин групи контрольної патології на тлі структурного аналогу мелатоніну зареєстровано покращення кардіогемодинаміки з 15 хв до 120 хв досліджу. Встановлено поступове збільшення показників АТ, ЧСС та ударного об'єму серця до фізіологічного рівня. Необхідно також зазначити, що показник АТ на 120 хв після оклюзії вірогідно перевищував ефективність препарату порівняння мексидолу, для якого також характерна кардіопротекторна дія за умов гострого оклюзійного ІМ.

На наступному етапі вивчали кардіопротекторну активність нового структурного аналогу мелатоніну на тлі гострого ізадринового міокардиту у щурів. Введення β-адреноміметіку ізопреналіну (ізадрину) викликає порушення функціональної активності серця та одночасно значно збільшує потреби міокарда у кисні, що призводить до розвитку масштабної гіпоксії серцевого м'яза. Ізадриновий міокардит характеризується значним зростанням маси серця (табл. 2). Показник КМС у групи контрольної патології у 2,1 разу більше, ніж у групі інтактного контролю. Деструкція кардіоміоцитів верифікована за збільшенням специфічного маркера цитолізу АсАТ у сироватці крові в 1,8 разу, у гомогенаті міокарда в 1,9 разу. Також на тлі модельної патології зареєстрована значна активація процесів ПОЛ: рівень реактантів тіобарбітурової кислоти (ТБК-реактантів) підвищений у сироватці крові в 4,2 разу, у гомогенаті міокарда в 2,2 разу, рівень дієнових кон'югатів (ДК) зріс у 2,6 та 1,9 разу відповідно (табл. 3). У той же час відбувається пригнічення системи антиоксидантного захисту організму, про що свідчить зниження рівня відновленого глутатіону (ВГ) у 2,1 разу та зниження дії ферментативної ланки АОС верифікованої за зменшенням активності каталази у 1,7 рази у сироватці крові (табл. 3). Зсув рівноваги у системі ПОЛ-АОС у бік активації процесів окиснення та значне виснаження запасів ВГ свідчить про наявність потужного оксидативного стресу.

Таблиця 2.  
Вплив сполуки 77 та мексидолу на коефіцієнт маси серця та їх антицитолітична дія при гострому ізадриновому міокардиті у щурів (n=8)

Показник	Умови експерименту			
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Сполука 77, 5 мг/кг	Мексидол, 100 мг/кг
Коефіцієнт маси серця, %	0,23±0,01	0,48±0,01*	0,35±0,01* <sup>#</sup>	0,33±0,01* <sup>#</sup>
Сироватка крові				
АсАТ, ммоль/год.л.	0,53±0,02	0,97±0,03*	0,66±0,02* <sup>#</sup>	0,60±0,02* <sup>#</sup>
Гомогенат міокарда				
АсАТ, ммоль/год.г.	1,31±0,05	2,50±0,06*	1,63±0,03* <sup>#</sup>	1,60±0,04* <sup>#</sup>

Примітки: 1. Статистично значущі відмінності з показниками групи інтактного контролю: \* –  $p < 0,001$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,05$ ; 2. Статистично значущі відмінності з показниками групи контрольної патології: # –  $p < 0,001$ .

Сполука 77 достовірно зменшує збільшену масу серця та інтенсивність цитолізу в міокарді (КМС становить  $0,35 \pm 0,01\%$  проти  $0,48 \pm 0,01\%$  у групі контрольної патології, рівень АсАТ знижується у 1,5 разу у гомогенаті міокарда та сироватці крові). Антицитолітична активність досліджуваної сполуки на рівні препарату порівняння мексидолу, ймовірно, зумовлена її мембранопротекторним впливом та встановленою раніше антигіпоксичною дією. Сполука 77 виявляє потужний антиоксидантний ефект за двома напрямками: пригнічує активність процесів ПОЛ, про що свідчить зменшення рівня ТБК-реактивних, ДК в середньому в 1,4-2 рази; відновлює функції антиоксидантної системи, що характеризується зростанням рівня ВГ та активності каталази (табл. 3).

Таблиця 3.  
Вплив сполуки 77 та мексидолу на показники системи ПОЛ - АОС при гострому ізадринному міокардиті у щурів (n=8)

Показник	Умови експерименту			
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Сполука 77, 5 мг/кг	Мексидол, 100 мг/кг
<b>Гомогенат міокарда</b>				
ТБК-реактанти, мкмоль/г	78,5±2,48	170±3,73*	120±2,81** <sup>§</sup>	138±2,33** <sup>#</sup>
ДК, мкмоль/г	6,69±0,34	12,6±0,56*	8,68±0,31** <sup>#</sup>	9,72±0,35** <sup>###</sup>
ВГ, умов. од.	58,0±2,77	28,0±1,81*	45,0±1,75** <sup>§</sup>	36,4±2,52** <sup>###</sup>
<b>Сироватка крові</b>				
ТБК-реактанти, мкмоль/л	1,20±0,04	4,99±0,23*	2,45±0,14** <sup>§</sup>	3,47±0,19** <sup>###</sup>
ДК, мкмоль/л	0,051±0,003	0,133±0,005*	0,066± 0,003** <sup>§</sup>	0,087± 0,003** <sup>#</sup>
Каталаза, мккат/ мл	0,26±0,02	0,15±0,01*	0,39±0,02** <sup>#</sup>	0,45±0,02** <sup>#</sup>

Примітки: 1. Статистично значущі відмінності з показниками групи інтактного контролю: \* –  $p < 0,001$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,05$ ; 2. Статистично значущі відмінності з показниками групи контрольної патології: # –  $p < 0,001$ ; ## –  $p < 0,01$ ; ### –  $p < 0,05$ ; 3. Статистично значущі відмінності з мексидолом: § –  $p < 0,01$ .

Необхідно відзначити, що якщо за антицитолітичною дією та здатністю зменшувати масу серця сполука 77 знаходиться на рівні мексидолу (табл. 2), то за антиоксидантною дією вона достовірно перевищує ефективність останнього (табл. 3). Таким чином, на моделі гострого ізадринного міокардиту сполука 77 значно знижує активність процесів цитолізу та нормалізує масу серця, виявляє виражений антиоксидантний ефект: знижує інтенсифікацію процесів ПОЛ, відновлює активність системи АОС.

## Висновки

Окклюзія коронарної артерії призводить до значної дестабілізації показників кардіогемодинаміки та розвитку гострого ІМ. Сполука 77 чинить позитивну дію на ішемізований міокард та значно відновлює кардіогемодинамічні показники, дещо перевершуючи ефективність препарату порівняння мексидолу.

На моделі гострого токсичного міокардиту встановлено виражений кардіопротекторний ефект оригінального структурного аналогу мелатоніну. У механізмі захисної дії нової сполуки на клітини міокарду є значна антицитолітична активність та потужна антиоксидантна дія, причому остання перевищує дію препарату порівняння мексидолу.

Узагальнюючи одержані результати щодо вивчення впливу сполуки 77 на міокард, можна зробити висновок, що ефективність її захисної дії не залежить від генезу патології (токсичне або ішемічне ураження). Провідними механізмами кардіопротекторної дії нової сполуки є антигіпоксичний, антиоксидантний, антицитолітичний ефекти та здатність відновлювати кардіогемодинаміку.

## Література

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
2. КОМПЕНДИУМ 2012 — лекарственные препараты / под ред. В. Н. Коваленко. – К.: МОРИОН, 2012. – 2320 с.
3. Пархоменко А.Н. Украинский регистр острого инфаркта миокарда как фрагмент Европейского регистра: характеристика больных, организация медицинской помощи и госпитальная терапия / А.Н. Пархоменко, Я.М. Лутай, Н. Даншан // Укр. мед. часопис. – 2011. – № 1 (81). – С. 20-24.
4. Устінов О. Серцево-судинна хірургія: сучасний стан і перспективи розвитку / О. Устінов // Укр. мед. часопис. – 2011. – № 3 (83) – С. 12-13.
5. Цубанова Н.А. Скринінгові дослідження антигіпоксичної дії спіроциклічних 2-оксіндольних похідних 2-аміно-3-ціано-4-н-пірану / Н.А. Цубанова // Клінічна фармація. – 2009. – Т.13. – № 2. – С. 62-64.
6. Чекман І.С. Кардіопротектори: клініко-фармакологічні аспекти / І.С. Чекман, Н.А. Горчакова, С.Б. Французова // Укр. мед. часопис. – 2003. – XI-XII. – С.18-25.
7. D'Agostino R.B. General Cardiovascular Risk Profile for Use in Primary Care The Framingham Heart Study / R.B. D'Agostino, R.S. Vasan, M.J. Pencina // Circulation. – 2008. – № 117. – P. 743-753.
8. Jennings R.B. Lethal myocardial ischemic injury / R.B. Jennings, K.A. Reimer // Am. J. Patol. – 1990. – Vol. 102 (50). – P. 241-255.
9. Franceschini N. Association of genetic variants and incident coronary heart disease in multi-ethnic cohorts. The PAGE Study / N. Franceschini, C. Carty // Circ Cardiovasc Genet 2011. – Oct 31. – P. 273-278.
10. Mandelzweig L. The second Euro Heart Survey on acute coronary syndromes: characteristics, treatment and outcome of patients with ACS in Europe and the Mediterranean basin / Mandelzweig L., Battler A., Boyko V. // Eur. Heart. J. – 2006. – 27 (19). – P. 2285-2293.
11. Marcus G.M. The utility of gestures in patients with chest discomfort / G.M. Marcus, J. Cohen, P.D. Varosy // Am. J. Med. – 2007. – № 120 (1). – P. 83-89.

12. Moe K.T. Current trends in diagnostic biomarkers of acute coronary syndrome / K.T. Moe, P. Wong // Ann. Acad. Med. Singap. – 2010. – № 39 (3). – P. 210-215.
13. Synthesis and evaluation of oxime derivatives as modulators for amyloid beta-induced mitochondrial dysfunction / Y. S. Kim, S. H. Jung, B. G. Park [et al.] // Eur J Med Chem. – 2013. – Vol. 62. – P. 71-83.
14. Thygesen K. Universal definition of myocardial infarction / K. Thygesen, J.S. Alpert, H.D. White // Eur. Heart J. – 2007. – № 28 (20). – P. 2525-2538.
15. [www.analystsoft.com/ru](http://www.analystsoft.com/ru).

### Реферат

#### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ НОВОГО СТРУКТУРНОГО АНАЛОГА МЕЛАТОНИНА НА ФОНЕ ПАТОЛОГИЙ МИОКАРДА РАЗНОГО ГЕНЕЗА

Цубанова Н.А.

Ключевые слова: структурные аналоги мелатонина, мексидол, кардиопротекция

В статье представлены материалы исследования кардиопротекторного действия оригинального нового соединения из ряда структурных аналогов мелатонина (соединение 77) в дозе 5 мг/кг на фоне экспериментальных модельных патологий миокарда ишемического и токсического генеза. Установлено, что новое соединение проявляет значительную кардиопротекторную активность на фоне острого ишемического поражения миокарда по методу R. B. Jennings и на фоне острого токсического миокардита. На модели острого инфаркта миокарда по R. B. Jennings эффективность изучаемого соединения в дозе 5 мг/кг несколько превышает кардиопротекторное действие мексидола в дозе 100 мг/кг по восстановлению кардиогемодинамических показателей. В условиях острого токсического миокардита, протекторное действие соединения 77, достоверно превышает активность мексидола (100 мг/кг) по таким показателям как: снижение активности процессов цитолиза, гипертрофии миокарда и нормализации баланса в системе перекисное окисление липидов – эндогенная антиоксидантная система. Результаты исследований свидетельствуют о выраженном кардиопротекторном эффекте изучаемого соединения из ряда новых структурных аналогов мелатонина, который не зависит от генеза поражения миокарда.

### Summary

#### COMPARATIVE ANALYSIS OF CARDIOPROTECTIVE EFFECT PRODUCED BY NEW STRUCTURAL MELATONIN ANALOGUE IN MYOCARDIAL PATHOLOGIES OF DIFFERENT GENESIS

Tsubanova N.A.

Keywords: structural analogues of melatonin mexidol cardioprotection.

This article presents the materials obtained by researching cardioprotective action of a new original compound of a series of structural melatonin analogues (compound 77) in a dose of 5 mg / kg on the background of modelled myocardial pathologies of ischemic and toxic genesis. It has found out the new compound shows a significant cardioprotective activity under acute ischemic myocardial affection by R.B. Jennings techniques and under acute toxic myocarditis. In the modelled acute myocardial infarction by R.B. Jennings the efficacy of the test compound in a dose of 5 mg / kg somewhat exceeds cardioprotective effect produced by mexidol in a dose of 100 mg / kg recovery in renewing cardiohaemodynamic indicators. In acute toxic myocarditis protective effect of compound 77 was significantly higher than that of mexidol (100 mg / kg) by the following indicators as: decreased activity of cytolysis, myocardial hypertrophy and normalization of balance in the lipid peroxidation – endogenous antioxidant system. The results of the studies demonstrate pronounced cardioprotective effect of the test compound of a series of new structural melatonin analogues, which does not depend on the genesis of myocardial affection.