

СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОМПЛЕКСЫ АМИОДАРОНА КАК НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АНТИАРИТМИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ

Ощепкова Ю.И.*, Узбеков В.В.* , Жумаев И.З.**, Рустамов Ш.Ю.**, Усманов П.Б.**, Салихов Ш.И.*

*Институт биоорганической химии им. акад. А.С. Садыкова АН РУз,

**Институт биофизики и биохимии при Национальном Университете Узбекистана

XULOSA

Tadqiqotning maqsadi. Triterpenglikozidlari bilan amiodaronning modifikatsiyalangan dozalash shakllarini yaratish va ularning $CaCl_2$ tomonidan qo'zg'atilgan aritmiya modellarida o'ziga xos faolligini o'rganish.

Materiallar va tadqiqot usullari. Izometrik rejimda mexanografiya texnikasidan foydalangan holda amiodaronning modifikatsiyalangan shakllarining papillary mushakning qisqarish va funktsional faolligiga hamda miokard faolligiga in vitro ta'sirini o'rganish.

Olingan natijalar. GKMAT-Amiodaron GX kompleksi (8:1) yaqqol antiaritmik ta'sirga ega, bu Ca^{2+} kanallarini blokada qilish orqali erishiladi, bu esa kardiomiotsitlarda $[Ca^{2+}]_i$ darajasining pasayishi va yurak mushagining qisqarish faolligining pasayishi bilan birga keladi.

Xulosa. Amiodaronning tuzilishini strukturaga qo'shimcha GKMAT guruhlarini kiritish orqali o'zgartirish GKMAT-Amiodaron GX kompleksiga (8:1) yuqori salbiy inotrop va antiaritmik faollikni, shuningdek, toksiklikning sezilarli darajada pasayishini ta'minlaydi. Keyingi tadqiqotlar GKMAT-Amiodaron GX (8:1) kompleksining takomillashtirilgan shaklini ishlab chiqishga olib keladi, bu uning toksikligi sezilarli darajada kamayganligi va aniq antiaritmik ta'siri tufayli istiqbollni antiaritmik preparatga aylanishi mumkin.

Kalit so'zlar: aritmiya, amiodaron, glitsirrifik kislotasi, antiaritmik faollik, inotrop faollik.

Фибрилляция предсердий – наиболее распространённый тип сердечной аритмии. Она возникает из-за аномальной электрической активности в предсердиях, что приводит к их фибрилляции. Она характеризуется как тахиаритмия, что означает частое ускорение сердечного ритма. Эта аритмия может быть пароксизмальной (менее семи дней) или постоянной (более семи дней). Из-за нерегулярности ритма кровоток через сердце становится турбулентным и имеет высокий риск образования тромба (сгустка крови), который в конечном итоге может оторваться и вызвать инсульт. Фибрилляция предсердий – основная причина инсульта, связанная с сердечной деятельностью. Симптомы варьируются от бессимптомных до таких симптомов, как боль в груди, учащённое сердцебиение, учащённый сердечный ритм, одышка, тошнота, головокружение, потливость (сильное потоотделение) и общая усталость. Хотя фибрилляция

SUMMARY

The aim of the study. Creation of modified dosage forms of amiodarone with triterpene glycosides and study of their specific activity in models of $CaCl_2$ -induced arrhythmia.

Material and research methods. The study of the effect of modified forms of amiodarone on the contractile and functional activity of the papillary muscle and on the activity of the myocardium in vitro using the mechanography technique in isometric mode.

Results. The MASGA-Amiodarone HC complex (8:1) has a pronounced antiarrhythmic effect, which is achieved through the blockade of Ca^{2+} channels, accompanied by a decrease in the level of $[Ca^{2+}]_i$ in cardiomyocytes and a decrease in the contractile activity of the heart muscle.

Conclusion. Modification of the structure of amiodarone by introducing additional MASGA groups into the structure provides the MASGA-Amiodarone HC complex (8:1) with higher negative inotropic and antiarrhythmic activity, as well as a noticeable reduction in toxicity. Further research will lead to the development of an improved form of the MASGA-Amiodarone HC (8:1) complex, which may become a promising antiarrhythmic drug due to its significantly reduced toxicity and pronounced antiarrhythmic effects.

Keywords: arrhythmia, amiodarone, glycyrrhizic acid, antiarrhythmic activity, inotropic activity.

предсердий может быть хроническим заболеванием, разработаны различные методы лечения и стратегии снижения риска инсульта у пациентов с сохраняющейся фибрилляцией предсердий. Лечение включает в себя антикоагуляцию, медикаментозную терапию для контроля частоты сердечных сокращений, медикаментозную терапию для контроля ритма, кардиоверсию, аблацию и другие интервенционные вмешательства на сердце [2,9,10].

Амиодарона гидрохлорид (ГХ) является одним из наиболее часто используемых антиаритмических препаратов. Одним из наиболее частых показаний к применению амиодарона в острый случаях является фибрилляция предсердий с быстрым желудочковым ответом. Амиодарон, который полезен как при предсердной, так и при желудочковой аритмии, обладает комбинацией β-блокады, блокады кальциевых каналов и антиаритмических эффектов класса III. У паци-

ентов с острым началом ФП, а также с нарушением функции левого желудочка рекомендуется амиодарон из-за минимального отрицательного инотропного эффекта [5]. В некоторых исследованиях было показано, что у пациентов с персистирующей ФП амиодарон эффективен в достижении и поддержании синусового ритма (50-70%) [3,8,11]. Однако амиодарон имеет серьезные системные побочные эффекты. Легочная токсичность является одним из наиболее серьезных побочных эффектов амиодарона, при этом смертность оценивается от 1 до 33%, а заболеваемость составляет примерно 10%, как показано в предыдущих исследованиях [7]. Пациенты с легочной токсичностью, вызванной амиодароном, обычно имеют одышку, непродуктивный кашель, недомогание, лихорадку и плевритическую боль в груди [4]. Наиболее фатальным проявлением легочной токсичности является быстро прогрессирующий диффузный пневмонит с острой дыхательной недостаточностью, требующей искусственной вентиляции легких, со смертностью от 50 до 100% [6].

Актуальным и открытым остается вопрос поиска и создания низкотоксичного лекарственного средства для лечения ФП, близкого к амиодарону и/или содержащих его комбинированных соединений.

ЦЕЛЬЮ ДАННОЙ РАБОТЫ является создание модифицированных лекарственных форм амиодарона с тритерпеновыми гликозидами и изучение их специфической активности на моделях CaCl_2 -индуцированной аритмии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Синтез комплекса МАСГК+амиодарон ГХ 8:1 (w:w) проводили в соответствии с [13].

Регистрация функциональной активности.

Изучение влияния исследуемых соединений на сократительную и функциональную активность папиллярной мышцы и на активность миокарда в условиях *in vitro* осуществляли с применением методики механографии в изометрическом режиме с помощью преобразователя силы сокращения мышцы типа F30 (Модель D-79232; HSE, Германия), сигнал с датчика натяжения подавался на усилитель (TAM-A, HSE, Германия) и регистрировался в цифровом формате (Logger_Lite*.gmb) при помощи аналого-цифрового преобразователя (LabPro Logger Lite 1.2, Vernier Software & Technology, Beaverton, США) со специальным программным обеспечением в компьютере IBM PC [12].

Аритмия вызывалась инъекцией раствора CaCl_2 (140 мг/кг, внутривенно), и регистрировались случаи фибрилляции желудочков, желудочковой экстрасистолии и желудочковой тахикардии. Сократительную активность сердечной мышцы оценивали в изометрическом режиме с помощью разработанной программы [1].

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ OriginLab OriginPro v.6.1 (США). Для выявления

достоверности изменений до и после влияния комплексных соединений использовали парный *t*-критерий Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при $p<0,01$ и $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клатрирование лекарственных веществ растительными гликозидами является перспективным методом снижения их побочных эффектов и повышения растворимости. Главной причиной создания лекарственных средств на основе ГК и ее производных является ее солюбилизирующее свойство посредством межмолекулярного взаимодействия, возникающего при контакте ГК с различными органическими веществами в растворе.

В работе были получены комплексы амиодарон гидрохлорида с ГК и МАСГК в различных молярных соотношениях жидкофазным методом в среде 50% водного спирта.

Супрамолекулярные комплексы были охарактеризованы некоторыми физико-химическими параметрами, строение изучено методами ИК-, УФ-спектроскопии. Определено, что молекулярные комплексы образуются в основном за счет водородных связей, ион-дипольных, электростатических и диполь-дипольных взаимодействий [13].

С целью изучения возможности снижения токсического эффекта в модифицированных формах амиодарона, было проведено изучение токсичности амиодарона и его модифицированных форм на перевиваемые линии клеточных культур HeLa (карциномы шейки матки человека) и определено, что в модифицированных формах амиодарона снижается токсичность препарата, уменьшаясь в 10-14 раз от исходного препарата с увеличением количественного содержания ГК и МАСГК [13].

При изучении в экспериментах на папиллярной мышце сердца крысы модифицированных комплексов амиодарона определено, что в присутствии комплексов сила сокращения папиллярной мышцы дозозависимо снижается. ГК-Амиодарон ГХ (8:1) и МАСГК-Амиодарон ГХ (8:1) со снижением силы сокращения до $6,2\pm3,4\%$ и $2,7\pm2,4\%$ от контрольного уровня, обладают более сильным отрицательным инотропным действием, чем амиодарон и другие модифицированные комплексы.

При изучении эффектов модифицированных комплексов на CaCl_2 (10 мМ)-индуцированную модель аритмии было обнаружено, что их добавление во время второй фазы действия CaCl_2 приводит к восстановлению сокращений папиллярной мышцы в ответ на стимуляцию. В контрольных экспериментах с амиодароном было установлено, что в присутствии 50 мкМ восстановление сокращений мышцы происходит через 10 мин после его внесения в среду инкубации (рис. 2А). В присутствии 40 мкМ ГК-Амиодарон ГХ (8:1), восстановление сокращений мышцы происходит в течении 7 мин после его внесения в среду инкубации (рис. 2А). Более выраженным эффектом

на фоне CaCl_2 (10 mM)–индуцированной аритмии обладал МАСГК-Амиодарон ГХ (8:1) (30 мкМ), в присутствии которого восстановление сокращений мыш-

цы наблюдалось в течении 3 мин после его внесения в среду инкубации (рис. 2Б).

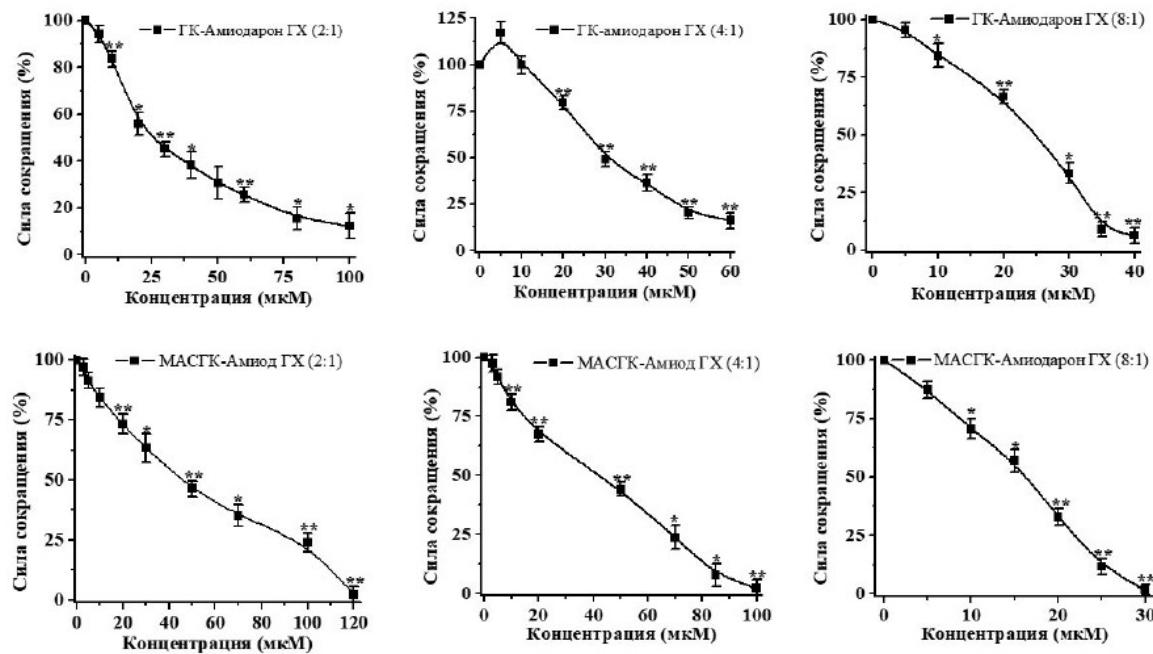


Рис. 1. Влияние комплексов амиодарона гидрохлорида с производными глицирризиновой кислоты на сократительную активность папиллярной мышцы сердца крысы *in vitro*.

По оси ординат – сила сокращения папиллярной мышцы, выраженная в процентах от контроля, принятого за 100 %, по оси абсцисс – концентрация комплексов (мкМ), *- $p<0,05$; **- $p<0,01$.

Частота стимуляции 1 Гц ($t=+36\pm0,5^\circ\text{C}$; $n=6$).

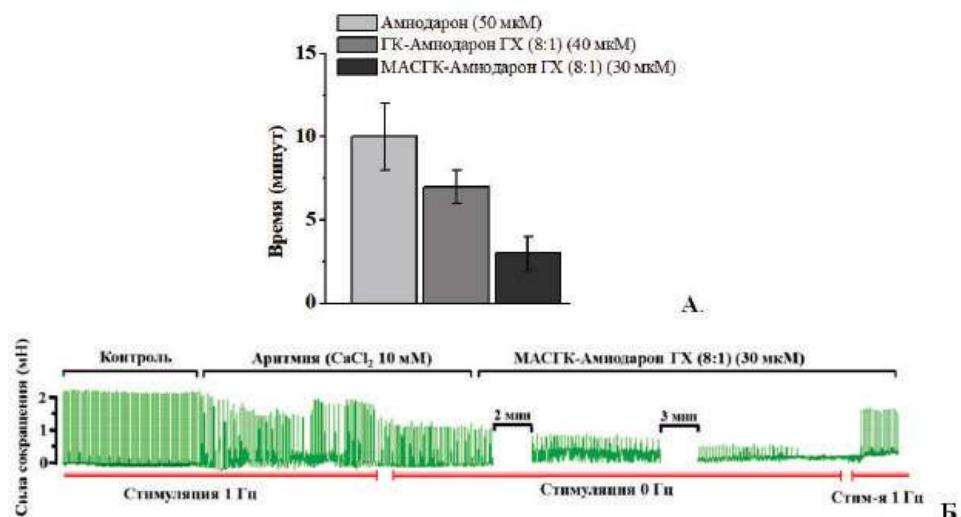


Рис. 2. Влияние модифицированных комплексов амиодарона гидрохлорида на CaCl_2 (10 mM)–индуцированную аритмию в условиях *in vitro* на папиллярной мышце крысы.

А. Антиаритмический эффект Амиодарон, ГК-Амиодарон ГХ (8:1) и МАСГК-Амиодарон ГХ (8:1).

Частота стимуляции 1 Гц. *- $p<0,05$; **- $p<0,01$. ($n=4$).

Б. Подавление силы сокращения папиллярной мышцы МАСГК-Амиодарон ГХ (8:1). (оригинальная запись). Концентрация комплексного соединения 30 мкМ. Частота стимуляции 1 Гц ($+36\pm0,5^\circ\text{C}$).

Полученные результаты показывают, что комплексное соединение МАСГК-амиодарон ГХ (8:1) проявляет более выраженное антиаритмическое действие по сравнению с амиодароном и ГК-амиодарон ГХ (8:1).

Для установления роли ионов Ca^{2+} в обеспечении отрицательного инотропного действия (ОИД) комплекса МАСГК-амиодарон ГХ (8:1) были изучены эффекты исследуемого комплекса на сократительную активность папиллярной мышцы в присутствии

специфического блокатора Ca^{2+} -канала – нифедипина. В присутствии 0,01 мкМ нифедипина – концентрации, которая соответствует его значению IC_{50} , добавление МАСГК-амиодарон ГХ (8:1) (30 мкМ) сопровождалось снижением силы сокращения мышцы на $26,7 \pm 4,4\%$ (рис. 3). При наличии в среде нифедипина, МАСГК-амиодарон ГХ (8:1) сохраняет

способность снижать силу сокращения мышцы, но не в такой степени как в отсутствии нифедипина. Эти данные могут свидетельствовать о том, что антиаритмические действие исследуемого комплекса может обеспечиваться благодаря блокаде потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов кардиомиоцитов и снижению поступления ионов Ca^{2+} в кардиомиоциты из вне.

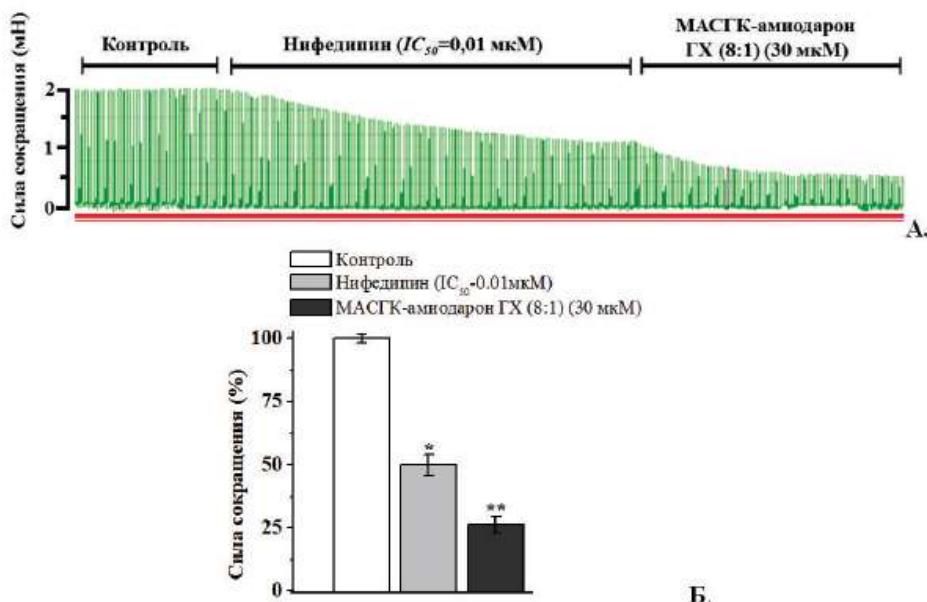


Рис. 3. Влияние комплекса МАСГК-амиодарон ГХ (8:1) на силу сокращения папиллярной мышцы сердца крысы в присутствии нифедипина.

А. – Подавление силы сокращения папиллярной мышцы (оригинальная запись).

Частота стимуляции: 0,5 Гц, $t=+36 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Б. Отрицательное инотропное действие. По оси ординат – сила сокращения папиллярной мышцы, выраженная в процентах от контроля, принятого за 100%.

Частота возбуждения 1 Гц. *- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; $n=5$.

Наблюдаемый отрицательный инотропный эффект комплекса амиодарона с МАСГК связан с уменьшением внутриклеточной концентрации Ca^{2+} , которое может быть следствием подавления его входа через потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы и через $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник сарколеммы. Вместе с тем не исключено, что эти эффекты исследуемых комплексов обусловлены их влиянием на СР кардиомиоцитов, который также играет важную роль в регуляции внутриклеточной концентрации Ca^{2+} .

При исследовании влияния амиодарона и его комплексов с ГК и МАСГК на пост-рест потенциацию, эти препараты влияли на амплитуду первого ответа после периода покоя. ГК-Амиодарон ГХ (8:1) (40 мкМ) и МАСГК-Амиодарон ГХ (8:1) (30 мкМ) заметно уменьшают степень пост-рест потенциации ($40,3 \pm 3,4\%$ и $57,8 \pm 4,1\%$ относительно контроля), что может свидетельствовать об их влиянии на Ca^{2+} -транспортирующие системы саркоплазматического ретикулума (рис.4).

Результаты, полученные в процессе реализации данной работы свидетельствуют о том, что комплекс

МАСГК-Амиодарон ГХ (8:1) обладает выраженным антиаритмическим действием, которое обеспечивается благодаря блокаде Ca^{2+} -каналов, сопровождающей уменьшением уровня $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в кардиомиоцитах и снижением сократительной активности сердечной мышцы.

Эти данные свидетельствуют о том, что модификация структуры амиодарона, путем введения в структуру дополнительных МАСГК групп, обеспечивает комплексу МАСГК-Амиодарон ГХ (8:1) более высокую отрицательную инотропную и антиаритмическую активность, а также заметное снижение токсичности.

В результате дальнейших исследований будет разработана усовершенствованная форма комплекса МАСГК-Амиодарон ГХ (8:1), которая может стать перспективным антиаритмическим препаратом, ввиду заметного снижения токсического и выраженного антиаритмического действия.

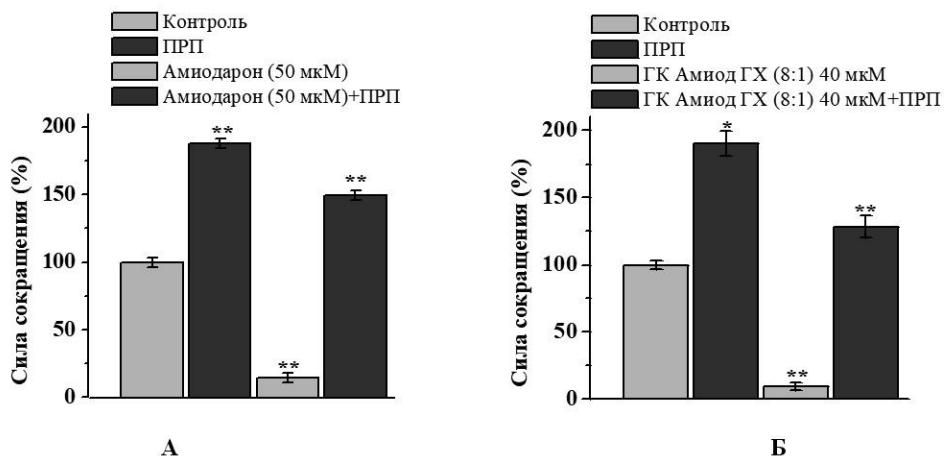


Рис. 4. Влияние на пост-рест потенциацию папиллярной мышцы сердца крысы.

А, Б – Влияние амиодарона и ГК-Амиодарон ГХ (8:1) на пост-рест потенциацию папиллярной мышцы сердца крыс. По оси ординат уровень пост-рест потенциации, выраженный в %, от контроля, приятого за 100%. Стимуляция препарата проводилась с частотой 1 Гц. Р < 0,05, (n = 5).

ЛИТЕРАТУРА

- Программа для ЭВМ «Анализ кинетики мышечного сокращения». Государственное патентное ведомство РУз. Свидетельство №ДГУ 01873. 18.12.2009 г.
- Amin A, Houmsse A, Ishola A, Tyler J, Houmsse M. The current approach of atrial fibrillation management. *Avicenna J Med.* 2016 Jan-Mar;6(1):8-16
- Chun SH, Sager PT, Stevenson WG, Nademanee K, Middlekauff HR, Singh BN. Long-term efficacy of amiodarone for the maintenance of normal sinus rhythm in patients with refractory atrial fibrillation or flutter. // *Am J Cardiol.* – 1995. – V.76(1). – Pp.47-50
- Dusman RE, Stanton MS, Miles WM, Klein LS, Zipes DP, Fineberg NS, et al. Clinical features of amiodarone-induced pulmonary toxicity. // *Circulation.* – 1990. – V.82. – Pp.51–9. doi: 10.1161/01.CIR.82.1.51
- Iqbal MB, Taneja AK, Lip GY, Flather M. Recent developments in atrial fibrillation. // *BMJ.* – 2005. – V.330(7485). – Pp.238-243
- Iskandar SB, Abi-Saleh B, Keith RL, Byrd RP Jr, Roy TM. Amiodarone-induced alveolar hemorrhage. // *South Med J.* – 2006. – V.99. – Pp.383–8.
- Jackevicius CA, Tom A, Essebag V, Eisenberg MJ, Rahme E, Tu JV, et al. Population-level incidence and risk factors for pulmonary toxicity associated with amiodarone. // *Am J Cardiol.* – 2011. – V.108. – Pp.705–10.
- Kochiadakis GE, Igoumenidis NE, Marketou ME, Solomou MC, Kanoupakis EM, Vardas PE. Low-dose amiodarone versus sotalol for suppression of recurrent symptomatic atrial fibrillation. // *Am J Cardiol.* – 1998. – V.81(8). – Pp.995-998
- Markides V, Schilling RJ. Atrial fibrillation: classification, pathophysiology, mechanisms and drug treatment. *Heart.* 2003 Aug;89(8):939-43
- McManus DD, Rienstra M, Benjamin EJ. An update on the prognosis of patients with atrial fibrillation. *Circulation.* 2012 Sep 04;126(10):e143-6.
- Roy D, Talajic M, Dorian P, et al. Canadian Trial of Atrial Fibrillation Investigators Amiodarone to prevent recurrence of atrial fibrillation. // *N Engl J Med.* – 2000. – V.342(13). – Pp.913-920
- Usmanov P.B., Jumayev I.Z., Rustamov Sh.Yu. et al. The Combined Inotropic and Vasorelaxant Effect of DHQ-11, A Conjugate of Flavonoid Dihydroquercetin with Isoquinoline Alkaloid 1-Aryl-6,7-Dimethoxy-1,2,3,4-Tetrahydroisoquinoline // *Biomed. & Pharmacol. J.* – 2021. – V.14(2). – Pp.651-661. DOI:10.13005/bpj/2167.
- Yuldashev, K.A., Esanov, R.S., Saidullaeva, H.T. et al. Creation of Modified Forms of Amiodarone with Glycyrrhizic Acid and Its Monoammonium Salt and Study of Their Cytotoxicity on Hela Cells. // *Pharm Chem J.* – 2024. – V.57. – Pp.1726–1731. <https://doi.org/10.1007/s11094-024-03072-7>