

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-5-14-19

КАРДИОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА 6-ГИДРОКСИ-2,3-ДИГЛУТАЦИОНИЛ-7-ЭТИЛ-НАФТАЗАРИНА НА МОДЕЛИ ИНДУЦИРОВАННОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА У МЫШЕЙ

А. Е. Закирова, В. Ф. Ануфриев, В. В. Маханьков,
П. С. Дмитренко, И. Г. Агафонова¹

На модели экспериментальной ишемии (ЭИ) у мышей линии CD1 обнаружена кардиопротекторная активность 6-гидрокси-2,3-диглутатионил-7-этилнафтазарина (ДГЭ). Модель ЭИ реализована введением адреналина гидрохлорида в гистотоксических дозах. Верификация ЭИ осуществлена методом электрокардиографии. В качестве препарата сравнения использован лекарственный препарат Гистохром (однократное подкожное введение). Статистически значимый кардиопротекторный эффект ДГЭ (однократное подкожное введение) наблюдали в дозах 10 и 5 мг/кг. Методами ВЭЖХ и масс-спектрометрии высокого разрешения показано, что через 1 ч после инъекции моча животных не содержит исходного ДГЭ, а содержит продукты его метаболизма с брутто-формулами $C_{14}H_{15}NO_5$, для которых предложены изомерные структурные формулы.

Ключевые слова: мыши; адреналина гидрохлорид; экспериментальная ишемия; электрокардиограмма; кардиопротекторный эффект; 1,4-нафтохинона; нафтазарина производные; эхинохром; гистохром.

ВВЕДЕНИЕ

Ишемия миокарда — болезненный процесс, характеризующийся понижением потока оксигенированной крови ниже уровня, необходимого для поддержания нормального аэробного метаболизма в кардиомиоцитах, и накоплением в них восстановленных форм железа, связанного с трансферрином и ферретином (негеминного железа) [9]. Быстрое восстановление коронарного кровотока клиническими процедурами является прямым и наиболее эффективным способом, ограничивающим повреждение ишемизированного участка сердца [8]. Однако восстановление нормального кровотока может приводить к ограничению терапевтического эффекта и даже расширению зоны инфаркта вследствие лавинообразного развития свободнорадикальных процессов, инициируемых катионами двухвалентного железа [12]. Поэтому антиоксидантная терапия ишемической болезни является вполне обоснованной.

Перспективным при реперфузионных изменениях миокарда представляется использование полигидроксиллированных 1,4-нафтохинонов ряда нафтазарина (5,8-дигидрокси-1,4-нафтохинона) [7].

Один из представителей этого ряда — гистохром, лекарственная форма эхинохрома (2,3,6-тригидрок-

си-7-этилнафтазарина, рис. 1) в настоящее время применяется при лечении ишемии и инфаркта миокарда, уменьшая зону его повреждения почти в 2 раза [10]. С целью преодоления некоторых недостатков этого лекарственного препарата (низкая растворимость в воде и физиологическом растворе при $pH = 7,0$, нестабильность лекарственной формы на воздухе, $pH > 7,0$) при сохранении терапевтического действия нами был синтезирован ряд его аналогов, в том числе 6-гидрокси-2,3-диглутатионил-7-этилнафтазарин (рис. 1, ДГЭ, 2). В экспериментах *in vivo* была показана высокая кардиопротекторная активность ДГЭ, сравнимая с активностью эхинохрома (рис. 1, ЭХА, 1) [7]. Преимуществами ДГЭ являются низкая токсичность ($LD_{50} = 1480$ мг/кг), приемлемая растворимость в воде, при $pH = 7,0$ и физиологическом растворе, относительная стабильность и простой способ синтеза.

Целью настоящего исследования явилась оценка потенциального кардиопротекторного эффекта ДГЭ на фоне индуцированной ишемии у мышей линии CD1, а также идентификация продуктов его метаболизма.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для проведения ВЭЖХ-анализа использовали жидкостный хроматограф “LaChrom” (Merck Hitachi, Германия), снабженный насосом L-7100, УФ-детектором L-7400, термостатом L-7300, интегратором D-7500 и колонкой Agilent Technologies Zorbax Eclipse XDB-C18, 5,0 μm (150 мм × 4,6 мм) с защитной колон-

¹ ФГБУН ТИБОХ имени Г. Б. Елякова ДВО РАН, Россия, Владивосток, 690022, Пр-т 100 лет Владивостоку, 159.

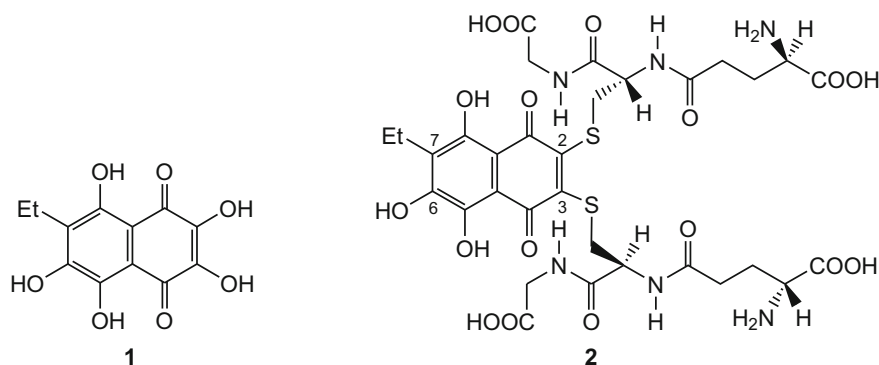


Рис. 1. Структура исследуемых соединений: эхинохром (ЭХА, 1) и 6-гидрокси-2,3-диглутатионил-7-этилнафтазарин (ДГЭ, 2).

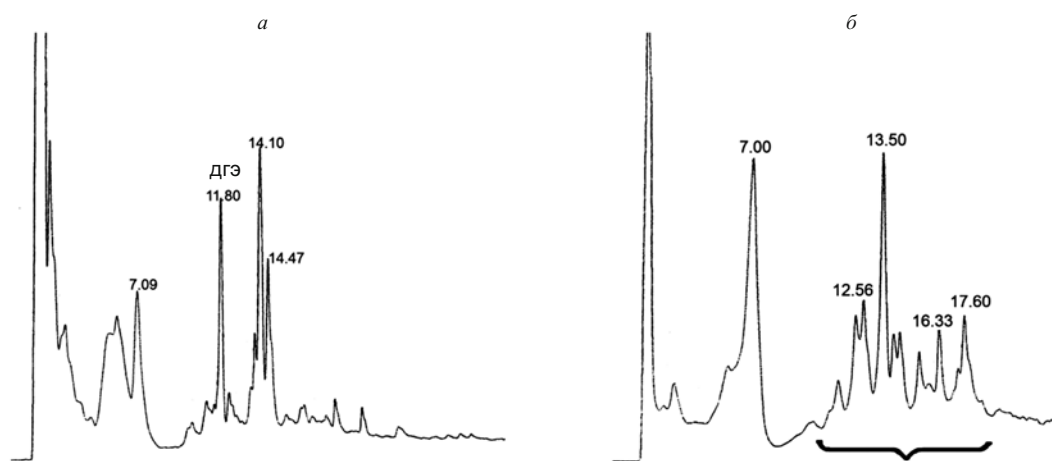


Рис. 2. ВЭЖХ-анализ мочи мышей: а) с добавлением ДГЭ непосредственно в образец; б) через 1 ч после инъекции ДГЭ в дозе 5 мг/кг.

кой Nupersil ODS (4,0 мм × 4,0 мм). Хроматографическое разделение проводили в смеси растворителей А (ацетонитрил + 1 % CH_3COOH) — В (вода + 1 % CH_3COOH) в следующем режимах: 0 – 5 мин (10 % А + 90 % В) изократический; 5 – 35 мин градиент (10 % А + 90 % В) → (90 % А + 10 % В); 35 – 45 мин градиент (90 % А + 10 % В) → (100 % В). Детектиро-

вание проводили при $\lambda = 260$ нм, скорость подачи растворителей 1 мл/мин, температура термостата 30 °С. Масс-спектры получены на спектрометре maXis impact (Bruker Daltonik, Германия) с ионизацией электрораспылением в режиме регистрации положительных ионов и обработаны с использованием программы Data Analysis 4.3.

Таблица 1. Показатели ЭКГ мышей после введения адреналина (5 мг/кг, подкожное однократное введение) ($M \pm S$)

Показания ЭКГ	До введения адреналина	После введения адреналина	
		15 мин	30 мин
P, мс	12,8 ± 1,8	14,1 ± 1,6	13,7 ± 2,2
P, мкВ	68,0 ± 6,5	85,4 ± 15,1*↑	81,8 ± 10,7*↑
PR, мс	39,0 ± 4,2	45,1 ± 9,7	43,3 ± 10,8
QRS, мс	12,0 ± 1,4	13,4 ± 1,3	12,8 ± 0,9
R, мкВ	426,8 ± 96,5	445,5 ± 107,4	430,7 ± 104,0
RR, мс	232,6 ± 55,6	111,5 ± 13,8*↓	111,3 ± 20,1*↓
ST, мкВ	132,9 ± 26,2	239,4 ± 79,7*↑	228 ± 84*↑
QT, мс	25,8 ± 3,5	37,1 ± 3,8*↑	34,5 ± 3,7*↑
ЧСС, уд/мин	268,1 ± 45,9	533,7 ± 65,6*↑	538,6 ± 87,1*↑

Различия статистически значимы по сравнению: * с контролем ($p < 0,05$), + с данными ЭКГ через 15 мин после введения адреналина ($p < 0,05$). Стрелкой указывается больше (↑) или меньше (↓) величина по отношению к сравниваемой.

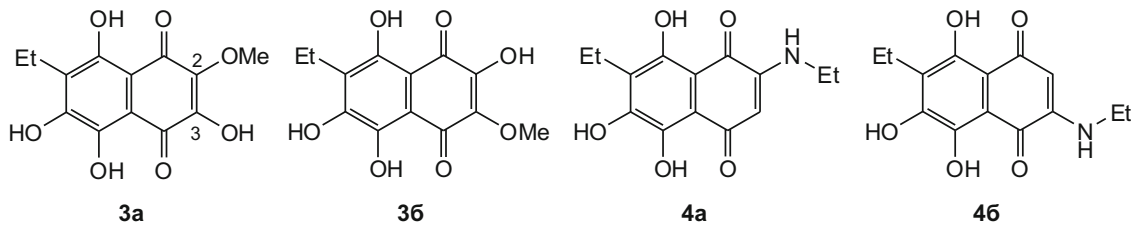


Рис. 3. Продукты метаболизма эхинохрома (3а, б) [5] и 6-гидрокси-2,3-диглутатионил-7-этилнафтазарина (4а, б).

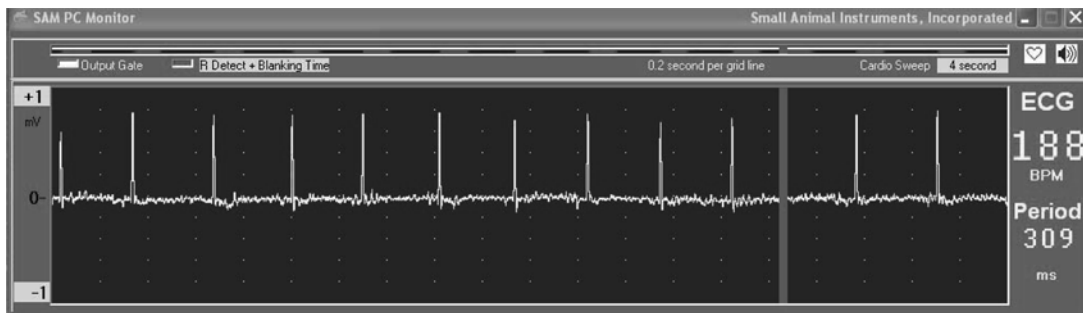


Рис. 4. Электрокардиограмма интактной мыши под анестезией. ЧСС — 150 – 250 уд/мин.

Эксперименты проводили на 72 половозрелых мышях линии CD1 обоего пола, возраст 8 – 10 недель, масса 20 – 22 г, из питомника РАМН “Столбовая” (Московская область, Россия). Животных содержали в условиях вивария на стандартном корме. Работу проводили с соблюдением правил и рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997). В эксперименте использовали соединение ДГЭ (рис. 1), которое было синтезировано в лаборатории органического синтеза природных соединений ТИБОХ ДВО РАН. Химическая чистота препарата подтверждена методами ^{13}C ЯМР-спектроскопии и ESI

масс-спектрометрии и сравнением со стандартным образцом [7]. В качестве препарата сравнения использовали гистохром (ТИБОХ ДВО РАН, раствор для инъекций 0,02 %) в дозе 1 мг/кг (однократное подкожное введение). Инъекции ДГЭ проводили однократно подкожно в дозах 10, 5, 1 мг/кг. Мыши были разделены на следующие группы: 1 — контроль (интактные, $n = 6$); 2 — контроль (адреналин, $n = 8$); 3 — контроль (ДГЭ 10, 5 и 1 мг/кг, $n = 18$); контроль 4 (гистохром, 1 мг/кг, $n = 6$); эксперимент: 5 — адреналин + гистохром (1 мг/кг, $n = 8$); 6 — адреналин + ДГЭ (10 мг/кг, $n = 8$); 7 — адреналин + ДГЭ (5 мг/кг, $n = 8$); 8 — адреналин + ДГЭ (1 мг/кг, $n = 8$).

Таблица 2. Влияние однократного введения ДГЭ или гистохрома на электрическую активность миокарда мышей CD1 на фоне индуцированной адреналином ишемии ($M \pm S$)

Показания ЭКГ	Группа					
	1	2	5	6	7	8
	контроль	адреналин	гистохром (1 мг/кг)	ДГЭ		
			10 мг/кг	5 мг/кг	1 мг/кг	
P, мс	13,4 ± 1,8	13,8 ± 1,7	14,1 ± 1,1	12,2 ± 0,8*↓	12,9 ± 1,4	15,6 ± 2,7
P, мкВ	69,3 ± 13,7	96,2 ± 25,3*↑	88,0 ± 15,3*↑	83,1 ± 20,6	85,6 ± 30,1*↓	92,5 ± 24,8*↓
PR, мс	38,4 ± 5,9	42,8 ± 7,9*↑	50,5 ± 5,2	34,9 ± 4,6*↓*↑	41,0 ± 9,0	39,2 ± 5,3
QRS, мс	12,7 ± 1,7	13,8 ± 1,4	13,9 ± 1,9	13,0 ± 1,7	13,7 ± 1,6	13,3 ± 1,7
R, мкВ	463,5 ± 91,9	460,9 ± 100,3	450,2 ± 123,4	441,2 ± 120,2	435,7 ± 52,1*↓	455,1 ± 138,6
RR, мс	232,2 ± 48,5	108,1 ± 15,9*↓	125,7 ± 19,0*↓	87,8 ± 8,3*↓*↓	109,2 ± 20,3*↓	109,9 ± 18,6*↑*↓
ST, мкВ	158,8 ± 48,4	265,1 ± 70,9*↑	267,3 ± 76,7*↑	165,1 ± 65,5*↓	269,8 ± 64,7*↓*↑	263,0 ± 78,2*↑
QT, мс	28,6 ± 4,5	38,2 ± 3,8*↑	36,0 ± 4,0*↓*↑	30,0 ± 1,5*↓*↑	34,9 ± 3,5*↓*↑	35,1 ± 5,5*↓
ЧСС, уд/мин	261,4 ± 25,1	553,3 ± 54,7*↑	489 ± 72*↑	649 ± 50*↓*↑	552 ± 86*↓*↑	550 ± 82*↓*↑

Различия статистически значимы по сравнению: * с контролем ($p < 0,05$); † с данными группы 2 ($p < 0,05$). Стрелкой указывается больше (↑) или меньше (↓) величина по отношению к сравниваемой.

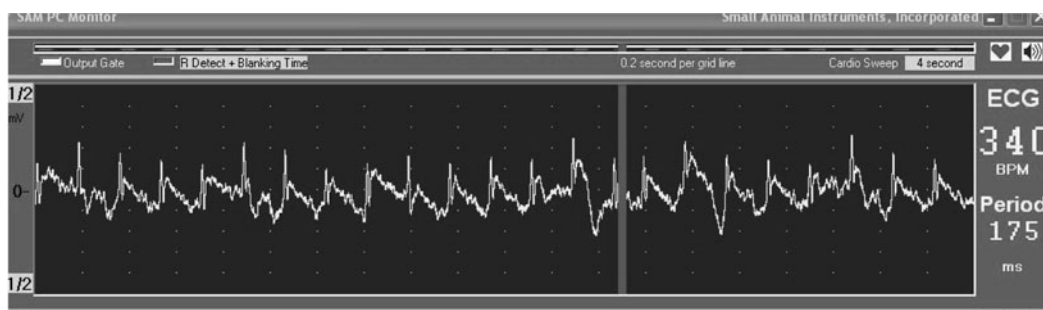


Рис. 5. Электрокардиограмма мыши через 14 мин после инъекции адреналина. ЧСС 340 – 450 уд/мин.

Индукция экспериментальной ишемии (ЭИ) была реализована однократным подкожным введением 0,1 % раствора адреналина гидрохлорида (Московский эндокринный завод ФГУП, Россия, раствор для инъекций) в дозе 5 мг/кг [1]. Нарушения электрической проводимости сердца регистрировали на ЭКГ. Перед регистрацией ЭКГ мышь подвергали обезболиванию ксилазином (27 мг/кг). Эксперимент состоял из следующих этапов: регистрация исходных данных о состоянии наркотизированного животного, индукция ишемии и затем (через 15 мин) введение исследуемого вещества (гистохром или ДГЭ). Динамику эффекта адреналина фиксировали на протяжении 60 мин. Влияние ДГЭ на электрическую активность миокарда оценивали разницей по отношению к контролю (ЭКГ до и после введения адреналина гидрохлорида). Данные ЭКГ регистрировали во II стандартном отведении с применением подкожных электродов (SAIP, Small Animal Instruments Inc., Model 1025, США). Величину, длительность зубцов и интервалов устанавливали согласно программному протоколу регистратора SAM-PC: ширина развертки 4 с, ширина сетки 0,2 с; амплитуда развертки $\pm 1,0$ мВ. В ходе эксперимента регистрировали ЭКГ наркотизированного животного, затем вводили раствор адреналина и продолжали регистрацию физиологических параметров в динамике.

Наличие метаболитов ДГЭ в моче мышей линии CD1 ($n = 6$) определяли методом ВЭЖХ и масс-спектрометрии. Животные находились в индивидуальных клетках, приспособленных для сбора мочи, в условиях стандартного корма. Мочу собирали в течение 1 ч после введения исследуемого вещества. Перед ВЭЖХ-анализом мочу пропускали через мембранный фильтр (0,45 мкм, Nalgene, Nylon, США) для удаления биологического осадка. Доза вводимого вещества составляла 5 мг/кг. Согласно ВЭЖХ-анализу контрольной мочи с добавлением ДГЭ непосредственно в образец, время удерживания ДГЭ составило $T_R = 11,80$ мин (рис. 2, а). Образцом для сравнения служили результаты ВЭЖХ-анализа эхинохрома, время удерживания которого составляло $T_R = 18,06$ мин.

Статистическую обработку результатов ЭКГ проводили с использованием пакета статистических программ "Статистика для Windows 6.0". Были рассчитаны средние значения и стандартные отклонения сред-

него значения, межгрупповые различия оценивали с помощью непараметрического критерия Вилкоксона. Статистически значимыми считали различия при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Методом ВЭЖХ показано, что через 1 ч после инъекции моча лабораторных животных не содержала исходный ДГЭ. На рис. 2, б показана ВЭЖХ-хроматограмма анализа мочи мышей через 1 ч после введения ДГЭ в дозе 5 мг/кг. Фигурной скобкой обозначена область, в которой произошли изменения состава мочи экспериментальных животных после введения ДГЭ.

Известно, что эхинохром в организме мышей подвергается метаболизму и выводится с мочой в виде его 2- и 3-монометилловых эфиров 3а, б (рис. 3) [5]. Анализ содержащихся в моче продуктов по их молекулярным массам методом масс-спектрометрии высокого разрешения выявил молекулярный пик с m/z 300,0848 $[M + Na]^+$, отвечающий брутто-формуле $C_{14}H_{15}NNaO_3$. Обращает на себя внимание низкое содержание атомов водорода по отношению к углероду, характерное для простых производных нафтазарина. Это позволило предположить, что наблюдаемый продукт имеет структуру изомерных 2(3)-этиламино-6-гидрокси-7-этилнафтазаринов (4а, б).

Структуры 4а, б являются весьма вероятными, если учесть "легкость" присоединения аминокислот, например, аланина, и отщепления глутатиона по двойной связи при С-2 хинонов. Образующийся при этом продукт, содержащий карбоксиэтиламино-радикал, далее трансформируется в этиламиногруппу под действием фермента декарбоксилазы [14]. В то же время считать этот вывод окончательным нельзя. Необходимы дополнительные исследования, включающие синтез структур 4а, б и сравнение их УФ-спектров, времени удерживания с соответствующими данными, полученными для указанного метаболита. Примеры такого подхода к анализу сложных смесей, содержащих микроколичества производных 1,4-нафтохинона, описаны в литературе [13, 15].

Было установлено, что устойчивые изменения ЭКГ фиксируются через 15 мин после инъекции адреналина (стадия ишемии). После индукции ишемии вводили различные дозы ДГЭ и регистрировали динамику из-

менения электрической проводимости миокарда на протяжении 45 мин.

Адреналин в пороговой дозе используется для индукции ишемии для создания безоперационной модели ишемии сердца [1]. Адреналин в больших дозах действует на обмен веществ кардиомиоцитов, увеличивает потребность миокарда в кислороде, вызывает спазм коронарных сосудов, приводит к ишемии миокарда [4]. В связи с тем, что сердечный ритм каждого животного в ответ на инъекцию адреналина очень индивидуален, была взята большая выборка мышей для сбора статистических данных и повышения диагностической точности эксперимента. Предварительно для ЭИ была подобрана пороговая доза адреналина. Эффект адреналина контролировали изменениями на ЭКГ. При дозозависимом увеличении частоты сердечных сокращений (ЧСС) была выбрана доза, при которой ЧСС находилась на уровне до (518 ± 44) уд/мин. При дальнейшем увеличении дозы было отмечено снижение ЧСС до (392 ± 55) уд/мин, что говорит об угнетении проводимости миокарда. Для анализа получаемых сигналов запись ЭКГ каждого животного проводили в течение 60 мин.

На рис. 4 приведена ЭКГ интактного наркотизированного животного. Величины амплитуд, длительностей пиков и интервалов находятся в пределах физиологических значений, соответствующих состоянию спящего интактного животного [2].

Через 1 мин после введения адреналина наблюдалась синусовая тахикардия, аритмия и желудочковые фибрилляции (рис. 5). ЧСС возросла и составила 300 – 450 уд/мин. Параметры ЭКГ, характерные для ишемического повреждения миокарда, выражались в следующем: подъем сегмента ST, снижение зубца R и удлинение интервала QT, что указывает на замедление реполяризации левого желудочка. Значимыми также оказались различия между следующими показателями: амплитуда пика R, интервал R, а также ЧСС (табл. 1). Величина длительности комплекса QRS не изменялась на протяжении эксперимента. Тахикардия, вызванная адреналином, у 27 % мышей сменялась глубокой брадикардией со снижением ЧСС до 220 – 300 уд/мин.

Мониторинг естественного спада эффекта адреналина показал, что и через 30 мин параметры ЭКГ, представленные в табл. 1, оставались статистически неизменными.

Введение ДГЭ и гистохрома интактным животным (контроль ДГЭ и контроль гистохром) не влияло на изменения ЭКГ и ЧСС. В табл. 2 показан характер изменения параметров ЭКГ после введения ДГЭ или гистохрома (ДГЭ и гистохром вводили через 15 мин после введения адреналина, параметры фиксировали через 15 мин после введения ДГЭ).

На фоне ишемии введение гистохрома значимо не влияло на длительность и амплитуду пика R. По сравнению с группой 2 наблюдалось снижение сегмента ST и значимое сокращение интервала QT

$(40,1 \pm 4,5/36,0 \pm 4,0)$ мс). Гистохром в дозе 1 мг/кг на фоне адреналина не влиял на ЧСС и интервал RR. По сравнению с группой 1 длительность пика R статистически значимо неразличима, а величина амплитуды значимо больше. Также величины сегментов ST и интервалов QT не снизились до уровня контрольных значений.

У ишемизированных животных после введения ДГЭ в дозе 10 мг/кг наблюдалось сокращение интервала PR $(38,0 \pm 4,5/34,9 \pm 4,6)$ мс). Также наблюдалось падение амплитуды сегмента ST $(210,3 \pm 61,9/165,1 \pm 65,5)$ мкВ) и сокращение интервала QT $(34,7 \pm 2,6/30 \pm 1,5)$ мс). Это может указывать на тенденцию возвращения к исходному времени реполяризации левого желудочка. ДГЭ в этой дозе на фоне ишемии повышал ЧСС и уменьшал RR $(95,2 \pm 8,0/87,8 \pm 8,3)$ мс). Интервал PR оставался укороченным относительно контроля $(38,9 \pm 2,1/34,9 \pm 4,6)$ мс). Величина сегмента ST статистически достоверно снизилась до уровня контрольного значения, а интервал QT остался уширенным относительно контроля.

После введения ДГЭ в дозе 5 мг/кг амплитуда пика R уменьшилась $(108,1 \pm 17,8/85,6 \pm 30,1)$ мкВ). У животных статистически значимо снизилась амплитуда сегмента ST $(291,0 \pm 64,0/269,8 \pm 64,7)$ мкВ) и уменьшилась длительность интервала QT $(39,9 \pm 3,0/34,9 \pm 3,5)$ мс), что указывает на тенденцию к нормализации внутрижелудочковой проводимости. На фоне адреналина не наблюдалось значимого эффекта вещества на ЧСС и величину RR. Пик R снизился до уровня контроля. Сегмент ST остался повышенным относительно контроля, как и величина длительности интервала QT.

После введения ДГЭ в дозе 1 мг/кг амплитуда пика R $(113,4 \pm 27,9/92,5 \pm 24,8)$ мкВ) снизилась, но его длительность в среднем не изменилась. Введение ДГЭ статистически значимо не повлияло на величину сегмента ST, а длительность QT уменьшилась $(39,7 \pm 2,7/35,1 \pm 5,5)$ мс). В дозе 1 мг/кг ДГЭ значимо снижал ЧСС $(581 \pm 66/550 \pm 82)$ уд/мин) и увеличивал интервал RR $(104,7 \pm 11,9/109,9 \pm 18,6)$ мс). Величина сегмента ST не опустилась до уровня первоначальных значений, в то время как длительность интервала QT уменьшилась до уровня контрольных значений. Это также указывает на восстановление нормального течения реполяризации желудочков.

ДГЭ во всех изученных дозах возвращал параметры ЭКГ к исходным значениям, но эффект был более выражен в дозах 5 и 10 мг/кг, поэтому эти дозы были выбраны для дальнейших исследований.

Адреналиновая модель позволяет воспроизводить ишемию миокарда у мелких экспериментальных животных. Адреналина гидрохлорид вызывает синусовую тахикардию, нарушение сердечного ритма предсердно-желудочкового типа, изменение процессов деполяризации/реполяризации мембран кардиомиоцитов [4]. При ишемии миокарда происходит нарушение окислительных процессов в митохондриях кардиомио-

цитов. В результате этого запускается процесс лавинообразного накопления свободных радикалов и перекисных соединений, угнетающих систему антиоксидантной защиты. Продукты окисления являются важной причиной возникновения реперфузионного повреждения миокарда [1]. Ранее была показана способность гистохрома останавливать активацию перекисного окисления липидов в реперфузионный период и уменьшать воздействие кардиотоксических соединений на окислительное фосфорилирование митохондрий [3, 11].

Верификация исхода индуцированной ишемии в данном эксперименте говорит о положительном эффекте ДГЭ на измененные показатели ЭКГ под действием адреналина. На основании данных о динамике снижения показателей ишемии после терапии ДГЭ подобраны дозы исследуемого вещества.

Полученные данные о кардиопротекторной активности коррелируют с данными о противоишемической активности ДГЭ на фоне острого нарушения мозгового кровообращения по ишемическому типу у крыс линии Вистар [6]. Противоишемический эффект ДГЭ обусловлен увеличением кровоснабжения мозга, антигипоксическим эффектом; препарат нормализует механизм антиоксидантной защиты ткани мозга при ишемии и гипоксии. Исследуемое соединение может быть предложено для дальнейшего изучения в качестве потенциального кардиопротектора.

Работа частично выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований Дальний Восток (грант № 15-I-5-006).

ВЫВОДЫ

1. ДГЭ при однократном подкожном введении проявляет кардиопротекторную активность на экспериментальной модели ишемии миокарда у мышей под анестезией. Наибольшее кардиопротекторное действие ДГЭ наблюдается в дозах 10 и 5 мг/кг.

2. Методом ВЭЖХ и масс-спектрометрии высокого разрешения показано, что через 1 ч после введения моча мышей не содержит исходный ДГЭ, а содержит метаболиты брутто-формулы $C_{14}H_{15}NO_5$. Для этих продуктов предложены изомерные структуры 2- и 3-этиламино-6-гидрокси-7-этилнафтазаринов.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. Л. Богородская, С. С. Голубев, Л. Б. Микашова, А. с. РФ № 2286606, *Бюл. изобрет.*, № 30 (2006).
2. Н. Н. Каркищенко, С. В. Грачев, *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*, Профиль-2С, Москва (2010).
3. Н. П. Мищенко, С. А. Федорев, В. Л. Багирова, *Хим.-фарм. журн.*, **37**(1), 49 – 53 (2003).
4. Л. Н. Рогова, Е. И. Губанова, И. А. Фастова и др., *Практикум по патологической физиологии: учебное пособие*, ВолгГМУ, Волгоград (2011).
5. О. С. Талалаева, Н. П. Мищенко, В. М. Брюханов и др., *Эксперим. клин. фармакол.*, **77**(4), 29 – 32 (2014).
6. I. G. Agafonova, V. Ph. Anufriev, *Appl. Magn. Reson.*, № 48, 579 – 587 (2017).
7. V. Ph. Anufriev, V. L. Novikov, O. B. Maximov, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **8**(6), 587 – 592 (1998).
8. E. K. Braunwald, *Circulation*, **79**(2), 441 – 446 (1988).
9. P. Camici, E. Ferrannini, L. H. Opie, *Prog. Cardiovasc. Dis.*, **32**(3), 217 – 238 (1989).
10. G. B. Elyakov, O. B. Maximov, N. P. Mischenko, et al., Патент США 6410601 (2002).
11. S. H. Jeong, H. K. Kim, I. S. Song, *Marine Drugs*, **12**(5), 2922 – 2936 (2014).
12. N. Kaul, N. Siveski-Iliskovic, M. Hill, et al., *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **30**(2), 55 – 67 (1993).
13. C. Powell, A. D. Hughes, M. S. Kelly, et al., *LWT-Food Sci. Technol.*, **59**(1), 455 – 460 (2014).
14. K. W. Wellington, *RSC Adv.*, **5**(26), 20309 – 20338 (2015).
15. D. Y. Zhou, L. Qin, B. W. Zhu, et al., *Food Chem.*, **129**(4), 1591 – 1597 (2011).

Поступила 21.11.18

STUDY OF CARDIOPROTECTIVE PROPERTIES OF 7-ETHYL-2,3-DIGLUTATHIONYL-6-HYDROXYNAPHTHAZARIN ON EXPERIMENTAL MYOCARDIAL ISCHEMIA MODEL IN MICE

A. E. Zakirova, V. F. Anufriev, V. V. Makhan'kov, P. S. Dmitrenok, and I. G. Agafonova

G. B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Prosp. Stoletiya Vladivostoka 159, 690022 Russia

Cardioprotective activity of 7-ethyl-2,3-diglutathionyl-6-hydroxynaphthazarin (DGE) was studied on the model of experimental ischemia in CD1 mice. The model of experimental ischemia was realized by injecting histotoxic doses of adrenaline hydrochloride and verified of by electrocardiography. Histochochrome (single subcutaneous injection) was used as the reference. The evident cardioprotective properties of DGE (single subcutaneous injection) were observed for a dose of 10 and 5 mg/kg. High-performance liquid chromatography and high-resolution mass spectrometry showed that, one hour after the injection, the urine of animals did not contain the initial DGE, but contained the products of its metabolism with molecular formula $C_{14}H_{15}NO_5$, for which structural formulas are proposed.

Keywords: 1,4-naphthoquinone; naphthazarin derivatives; adrenaline hydrochloride; experimental ischemia; electrocardiography; cardioprotective effect; echinochrome; histochochrome; mice;