

ГИПОТЕНЗИВНЫЙ ЭФФЕКТ ПРОИЗВОДНОГО ОКСАТРИАЗОЛИУМ-5-ОЛАТА

М. М. Артемьева¹, А. Б. Постников², О. В. Акинфиева², И. Л. Далигер³,
С. А. Шевелев³, О. С. Медведев¹, Н. А. Медведева²

Производное оксатриазолиум-5-олата азасиднон-6 вызывает длительный дозо-зависимый гипотензивный эффект у бодрствующих нормотензивных крыс линии Вистар и гипертензивных крыс линии SHR при внутривенном введении. Гипотензивный эффект азасиднона-6 на фоне ингибитора синтеза эндогенного NO у крыс линии SHR достоверно выше, чем в контрольной группе.

Ключевые слова: артериальное давление, NO, NO-доноры, крысы, SHR, Вистар, оксатриазолиум-5-олат

ВВЕДЕНИЕ

На протяжении последних 20 лет ведется активное изучение механизмов регуляции сосудистого тонуса при действии эндогенной и экзогенной окиси азота (NO). Основным акцептором NO в гладкомышечной клетке является фермент растворимая гуанилатциклаза (рГЦ) [4]. При активации рГЦ концентрация цГМФ в клетке нарастает, что приводит к расслаблению гладкомышечной стенки сосуда [5]. Действие большинства экзогенных NO-доноров ограничивается несколькими минутами. Кроме того, при повторном приеме NO-доноров возникает толерантность [7], что делает их неэффективными при хроническом применении. На данный момент поиск препаратов, которые могут на длительное время активировать NO-цГМФ-зависимый путь расслабления сосудов является одним из перспективных направлений в физиологии и фармакологии сердечно-сосудистой системы.

В 1966 г. был обнаружен гипотензивный эффект препаратов производных оксатриазола на наркотизированных собаках [6]. Механизм гипотензивного действия производных оксатриазолиум-5-олата исследован не был. Целью нашего исследования было изучение влияния одного из производных оксатриазолиум-5-олата — препарата под условным названием азасиднона-6 (АС-6) на артериальное давление нормотензивных и гипертензивных крыс.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на самцах крыс линий Вистар и SHR массой 250 – 350 г. Животных содержали в

стандартных условиях согласно требованиям, Европейской ассоциации FELASA/ICLAS [3]. Животным под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг внутривенно) вживляли артериальный и венозный бедренные катетеры [2]. На следующий день после операции крыс брали в эксперимент для регистрации САД и ЧСС датчиками давления STATNAM, США. Сигнал обсчитывали на компьютере с помощью модифицированной программы Bioshel [1].

Для исследования гипотензивного действия препарата бодрствующим животным линии Вистар внутривенно с интервалом 30 мин вводили растворы АС-6 в дозах 0,011, 0,11, 1,1, 11 и 110 мкг/кг (WA, $n = 6$), либо растворитель (дистиллированная вода) в том же объеме (WK, $n = 6$). Для сравнения гипотензивного эффекта и длительности действия АС-6 у гипертензивных (линия SHR) и нормотензивных крыс (линия Вистар) АС-6 вводился в дозах 110 и 550 мкг/кг (группы WA, $n = 5$, SHA, $n = 5$). Контрольным животным вводили растворитель (группы WK, $n = 5$, SHK, $n = 5$). Вторая доза вводилась на максимуме действия первой. Тестирование барорефлекса проводили дважды — до введения первой дозы АС-6 и на фоне действия АС-6 в дозе 550 мкг/кг. В качестве гипертензивного агента вводился фенилэфрин (2 мкг/кг), агонист (α_1 -адренорецепторов, в качестве гипотензивного агента — нитропруссид натрия (НП), донор окиси азота, (3 мкг/кг). Коэффициент барорефлекса рассчитывали как отношение изменения ЧСС к изменению САД. Для изучения влияния АС-6 на гипертензивную реакцию САД, вызываемую введением неселективного ингибитора NO-синтазы L-NAME (NG-nitro-L-arginine methyl ester, метиловый эфир L-нитроаргинина) бодрствующим крысам линии SHR внутривенно вводился неселективный блокатор eNOS L-NAME в дозе 1 мг/кг и через 45 мин — АС-6 в дозе 110 мкг/кг (опытная группа, $n = 5$). В качестве контроля использовались животные той же линии, которым АС-6 вводился в отсутствие действия L-NAME (контрольная группа, $n = 5$). Статистический анализ данных проводили по непараметрическому критерию Манна — Уитни из пакета программы Statistica 6.0 (Statistica Inc., США).

¹ Кафедра фармакологии (зав. — проф. О. С. Медведев) факультета Фундаментальной медицины, Московского государственного Университета им. М. В. Ломоносова, Москва, 119192, Ломоносовский просп., 31, корп. 5.

² Кафедра физиологии человека и животных (зав. — А. А. Каменский) биологического факультета и кафедра биоорганической химии (зав. — В. Л. Воейков) биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, 119192, Воробьевы горы, 1, корп. 12.

³ Лаборатория ароматических азотосодержащих соединений (зав. — С. А. Шевелев) Института органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН, Москва, 119991, Ленинский проспект, 47.

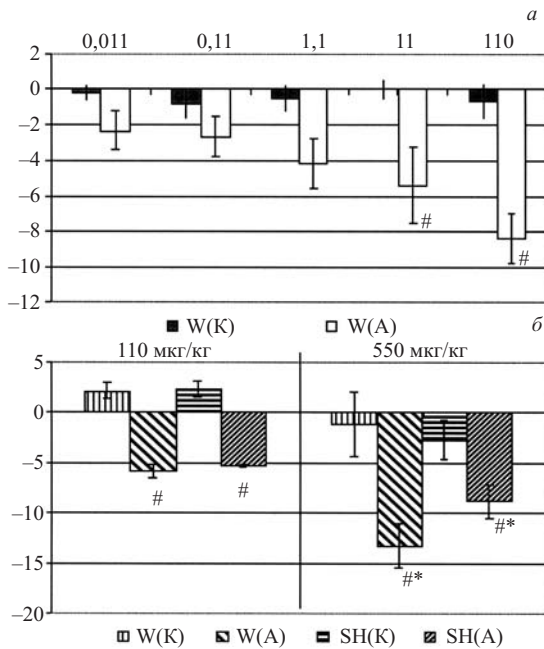


Рис. 1. К Дозо-зависимый гипотензивный эффект азасиднона-6 (0,01 – 110 мкг/кг) при внутривенном введении бодрствующим крысам линии Вистар (а) и сравнение эффекта азасиднона-6 (110 и 550 мкг/кг) у крыс линии Вистар и SHR (б).

По оси ординат — Δ среднего артериального давления, мм рт. ст., по оси абсцисс — доза азасиднона-6, мкг/кг. WK — группа контроль нормотензивных крыс линии Вистар; WA — группа азасиднон-6 нормотензивных крыс линии Вистар; SHK — группа контроль гипертензивных крыс линии SHR; SHA — группа азасиднон-6 гипертензивных крыс линии SHR. Отличия достоверны: # — от контрольных групп ($p < 0,05$); * — от действия предыдущей дозы ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Влияние хронического применения *per os* азасиднона-6 на артериальное давление у крыс линии SHR.

Внутривенное введение АС-6 нормотензивным крысам в дозах от 0,011 мкг/кг до 110 мкг/кг вызывает дозо-зависимое уменьшение средней величины САД (рис. 1, а). При введении АС-6 в дозе 110 мкг/кг САД уменьшалось на $7,4 \pm 1,6$ % от исходного уровня, составившего 114 мм рт. ст. ($p < 0,05$), в то время как при введении растворителя в том же объеме (контроль) достоверных изменения САД не наблюдалось. Различия между контрольной и опытной группами статистически достоверны ($p < 0,05$). В следующей серии экспериментов мы сравнивали гипотензивный эффект АС-6 у гипертензивных крыс (линия SHR) и нормотензивных животных (линия Вистар). При введении АС-6 в дозе 110 мкг/кг крысам линии Вистар в этой серии наблюдалось снижение САД на $5,9 \pm 0,6$ % от исходного уровня $107,5 \pm 1,1$ мм рт. ст. При введении АС-6 в дозе 550 мкг/кг снижение САД в группе Вистар составило $13,4 \pm 2,2$ %. У крыс линии SHR при введении АС-6 в дозе 110 мкг/кг наблюдалось снижение САД на $5,3 \pm 0,1$ % от исходного уровня

Длительность развития максимального эффекта препарата АС-6 (в дозах 110 и 550 мкг/кг) у крыс линии Вистар и SHR

Доза АС-6	Группа	Время достижения максимального эффекта, мин	Время возвращения к норме, мин
110 мкг/кг	Вистар	$30 \pm 1,6$	
	SHR	$35 \pm 2,2$	
550 мкг/кг	Вистар	$40 \pm 1,6$	$20 \pm 1,7$
	SHR	$29 \pm 3,3$	$33 \pm 2,0$

$158,6 \pm 5,4$ мм рт. ст. При введении АС-6 в дозе 550 мкг/кг снижение САД в группе SHR составило $8,9 \pm 1,7$ %. Введение растворителя в том же объеме бодрствующим крысам линий Вистар и SHR не вызвало достоверного отклонения САД от нормы. Таким образом, АС-6 при внутривенном введении вызывает дозо-зависимый гипотензивный эффект у крыс линии Вистар и SHR, который, по-видимому, не зависит от исходного уровня давления (рис. 1, б).

Особенностью изучаемого препарата по сравнению с большинством известных доноров NO является длительность гипотензивного эффекта АС-6 (таблица).

Максимальное уменьшение САД у обеих линий крыс происходит на 30 – 40 минуте от момента введения АС-6. Несмотря на несколько различную динамику развития гипотензивного эффекта общая длительность эффекта АС-6 не отличается у нормотензивных и гипертензивных животных и составляет $90 \pm 2,6$ мин и 97 ± 3 мин соответственно.

Таким образом, АС-6 вызывает длительное уменьшение САД, которое в одинаковой степени проявляется у гипертензивных и нормотензивных животных.

2. Влияние АС-6 на чувствительность САД к гипотензивным агентам у животных линии SHR и Вистар.

Одним из важных показателей деятельности сердечно-сосудистой системы является реактивность САД к гипотензивным факторам. Поэтому в следующей серии экспериментов мы изучили реакцию САД крыс линии Вистар и SHR на внутривенное болюсное введение фенилэфрина и нитропруссид натрия в норме и на фоне действия АС-6.

Внутривенное введение нитропруссид натрия (гипотензивного средства) и фенилэфрина (гипертензивного агента) до и на фоне действия АС-6 в дозе 550 мкг/кг крысам линий Вистар и SHR не выявило статистически значимых различий реакций САД и чувствительности барорефлекса. Таким образом, азасиднон-6, по-видимому, не оказывает существенного влияния на барорефлекторную регуляцию САД.

3. Влияние АС-6 на гипертензивную реакцию САД, вызываемую введением неселективного ингибитора NO-синтазы L-NAME у бодрствующих крыс линии SHR.

При введении АС-6 в дозе 110 мкг/кг крысам линии SHR САД уменьшается на $5,3 \pm 0,1$ % от исходного

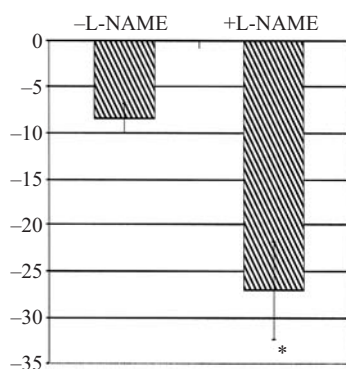


Рис. 2. Реакция среднего артериального давления на внутривенное введение азасиднона-6 (110 мкг/кг) крысам линии SHR в норме и на фоне действия ингибитора синтеза NO L-NAME (5 мг/кг).

По оси ординат — Δ среднего артериального давления, мм рт. ст. * — отличия достоверны от группы без L-NAME ($p < 0,05$).

уровня $158,6 \pm 5,4$ мм рт. ст. (рис. 2). Болюсное введение неселективного блокатора NO-синтазы L-NAME вызывает увеличение САД по сравнению с нормальным на $54,8 \pm 3,2$ мм рт. ст. Гипотензивный эффект АС-6 в группе гипертензивных крыс линии SHR, у которых с помощью L-NAME блокирован синтез эндогенного NO, более выражен, чем в группе без введения L-NAME. Таким образом, чувствительность к действию АС-6 увеличивается при уменьшении синтеза эндогенного NO.

На данный момент существует группа сходных с АС-6 по химической структуре препаратов производных оксатриазола — оксатриазолиум-5-иминов, являющихся NO-донорами [8]. Можно предположить, что азасиднон-6 действует на тонус гладкомышечных кле-

ток сосудов через активацию NO-чувствительной рГЦ. На фоне ингибирования синтеза эндогенного активатора рГЦ NO гипотензивный эффект АС-6 в таком случае будет более выражен, что мы и наблюдаем в нашем эксперименте.

ВЫВОДЫ

1. Азасиднон-6 вызывает длительный дозозависимый гипотензивный эффект у крыс линий Вистар и SHR.
2. Азасиднон-6 не оказывает существенного влияния на барорефлекторную регуляцию САД.
3. Чувствительность к АС-6 увеличивается на фоне ингибирования синтеза эндогенного NO.

Работа выполнена при поддержке ООО “Консорциум-ПИК”

ЛИТЕРАТУРА

1. О. Р. Кундузова, А. Н. Мурашев и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **60**, 870 – 880 (1997).
2. А. Н. Мурашев, *Руководство по экспериментальной физиологии кровообращения*, (1992).
3. *Guide for use the laboratory animals*, National Academy Press, Washington, D. C. (1996).
4. F. Hofmann, A. Ammendola, and J. Schlossmann, *J. Cell. Sci.*, **113**, 1671 – 1676 (2000).
5. F. Hofmann, *J. Biol. Chem.*, Jan. 7, **280**(1), 1 – 4 (2005).
6. L. B. Kier, A. al-Shamma, et al., *Nature*, May 14, **210**(37), 742 (1966).
7. R. P. Mason and J. R. Cockcroft, *J. Clin. Hypertens. (Greenwich)*, Dec, **8**(12 Suppl 4), 40 – 52 (2006).
8. P. G. Wang, M. Xian, et al., *Chem. Rev.*, **102**, 1091 – 1134 (2002).

Поступила 29.07.08

HYPOTENSIVE EFFECT OF OXATRIAZOLIUM-5-OLATE DERIVATIVE

M. M. Artem'eva¹, A. B. Postnikov², O. V. Akinfieva², I. L. Daliger³, S. A. Shevelev³, O. S. Medvedev¹, and N. A. Medvedeva²

¹ Department of Fundamental Medicine, Moscow State University, Lomonosovskii pr. 31/5, Moscow, 119192, Russia

² Department of Biology, Moscow State University, Vorob'evy gory 1/12, Moscow, 119899, Russia

³ Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii prosp. 47, Moscow, 119991, Russia

Intravenous administration of azasidonon-6 (oxatriazolium-5-olate derivative) induces prolonged dose-dependent decrease in arterial blood pressure in awake Wistar and SHR rats. Hypotensive effects of azasidonon-6 in SHR rats is significantly higher during inhibition of endogenous NO synthesis.