

ЗДАТНІСТЬ СПОЛУКИ, ПОХІДНОГО ІМІДАЗО[1,2-А]ЗЕПІНІЮ, ПІД ШИФРОМ IFT_000281 АКТИВУВАТИ АТФ-ЗАЛЕЖНІ КАЛІЄВІ КАНАЛИ

М. А. МОХОРТ, Ю. М. КУТОВИЙ*

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»,
вул. Ежена Потьє, 14, м.Київ, 03057.

*e-mail: yurakutovi@gmail.com

В даній роботі було експериментально перевірено здатність похідного імідазо[1,2-а]зепінію, сполуки під шифром IFT_000281 активувати АТФ-залежні калієві канали. Для підтвердження чи спростування нашого припущення, що досліджувана похідна імідазо[1,2-а]зепінію є активатором K_{ATP} каналів, було проведено серію експериментів з використанням блокатора K_{ATP} каналів глібенкламід. Глібенкламід додавали до перфузуючого розчину у концентрації $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л протягом 5 хв перед перфузією ізольованого серця сполукою IFT_000281 у тій самій концентрації. У разі, якщо речовина IFT_000281 активує K_{ATP} канали кардіоміоцитів, попередня дія глібенкламідом буде нівелювати її ефекти. В результаті досліджень було встановлено, що попередня дія глібенкламідом на ізольовані серця щура нівелює кардіопротекторні ефекти сполуки IFT_000281 у концентрації $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Так, без попередньої обробки глібенкламідом, сполука IFT_000281 викликає збільшення тиску у лівому шлуночку на 43%, швидкості скорочення та розслаблення міокарда – на 75% та 53% відповідно. Швидкість коронарного кровообігу збільшується на 38%, а час до зупинки серця подовжується на 33% порівняно з контрольними значеннями. Після попередньої обробки глібенкламідом, не було зафіксовано статистично значущих змін досліджуваних показників під дією сполуки IFT_000281. Дані показники не відрізнялися від контрольних. Тому, аналізуючи отримані результати та беручи до уваги відомий факт, що глібенкламід є селективним блокатором K_{ATP} каналів, можна стверджувати, що сполука-лідер IFT_000281 діє на АТФ-залежні К-канали і саме це спричиняє її кардіопротекторні властивості.

Ключові слова: прекондиціонування міокарда, АТФ-залежні К-канали, ізольоване серце, ішемія, похідні імідазо[1,2-а]зепінію.

Вступ. Короткі періоди ішемії зменшують пошкодження міокарда, які виникають внаслідок наступних триваліших періодів ішемії. Цей кардіопротекторний ефект називають ішемічним прекондиціонуванням (Zaugg M. et al., 2003). Рання фаза прекондиціонування триває протягом 1-3 год., пізня – 12-72 год. після запуску захисних механізмів (Imani A. et al., 2008). Деякі фармакологічні агенти мають подібну кардіопротекторну дію. Хоча процеси на тригерній та медіаторній стадії прекондиціонування на сьогодні ще достеменно невідомі, дослідження встановили, що α_1 -адренорецептори приймають важливу участь під час ранньої фази прекондиціонування (Rojas Gomez D. M. et al., 2008). Подальші дослідження виявили участь α_1 -адренорецепторів у процесах раннього (Kudej R. K. et al., 2006, Tejero-Taldo M. I. et al., 2002) та пізнього прекондиціонування (Rajesh K. G. et al., 2004). Було встановлено, що мітохондріальні АТФ-чутливі калієві канали (K_{ATP} канали) також залучені до механізмів прекондиціонування (Shen Y. L. et al., 2004). Наприклад, їх активатор діазоксид проявляє дію, подібну до ранньої фази ішемічного

прекондиціонування (Tsukamoto O. et al., 2005), а застосування 5-гідроксидеканоату (5HD), блокатора даних каналів, унеможливорює кардіопротекторні ефекти раннього ішемічного та фармакологічного прекондиціонування (Obal D. et al., 2005). Припускають, що мітохондріальні K_{ATP} канали беруть участь у внутрішньоклітинній передачі сигналу під час запуску ранньої фази прекондиціонування, викликаній активацією α_1 -адренорецепторів (Gao H. et al., 2007).

Привабливою також здається ідея використання прямих активаторів K_{ATP} -каналів. На теперішній час відомий ряд препаратів, що володіють такою дією (діазоксид, кромакалім, бімакалім та ін.). Спільною рисою для всіх цих препаратів є те, що вони проявляють певний кардіопротекторний ефект тільки в разі призначення їх перед ішемією; прекондиціонування на тлі реперфузії (посткондиціонування) при використанні активаторів K_{ATP} -каналів не відбувається. Це серйозно обмежує їх клінічне застосування (Мойбенко О. О. та ін., 2008).

За хімічною структурою активатори калієвих каналів досить різноманітні, серед них можна виділити наступні основні групи сполук:

- 1) бензопірани: кромакалім, левкромакалім, MJ-451, НОЕ-234 (римакалім), РКР217-744;
- 2) бензотіадизини: діазоксид;
- 3) похідні нікотинаміду: нікоранділ;
- 4) похідні гуанідину: пінацидил, Р-1075, ПФ-10, ПФ-5;
- 5) похідні нафталенону: UR8225;
- 6) піримідини: міноксидил, LP-805 (Струтинський Р. Б. та ін., 2001).

Незважаючи на різну хімічну структуру, відкривачі (активатори) калієвих каналів мають загальний механізм дії: вони, активуючи певні види калієвих каналів в клітинних мембранах, сприяють виходу іонів калію з клітини і виникненню на мембрані стійкої гіперполяризації, яка перешкоджає надходженню іонів кальцію через потенціалзалежні кальцієві канали. При цьому підвищується пороговий потенціал, що викликає зниження збудливості і здатності їх до скорочення (Kudej R. K. et al., 2006).

У відділі фармакології серцево-судинних засобів ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» ведуться пошуки ефективних сполук, здатних прекодиціювати міокард, серед похідних імідазо[1,2-а]азепінію, синтезованих в тому ж інституті у відділі синтезу фізіологічно активних речовин під керівництвом доктора фарм. наук, проф. Демченка А. М. (Патент на корисну модель № 73591). Попередні дослідження показали, що ряд синтезованих сполук ефективно знижували тонус судин на фоні гіперкалієвої констрикції за умов *in vitro* (Герашенко І., 2012). Зважаючи на попередні дослідження *in silico*, нами було зроблено припущення, що вазодилаторна активність виділених похідних може бути пов'язаною з впливом на мітохондріальні K_{ATP} канали. Було проведено дослідження 9 сполук щодо здатності прекодиціювати міокард на моделі ізольованого серця щура та *in vivo* і виділено 2 сполуки-лідери під шифрами IFT_000280 та IFT_000281. В подальших дослідженнях дані сполуки помітно знижували ступінь ушкодження міокарда, спричиненого ішемією-реперфузією, що виражалося у нижчих показниках активності маркерів інфаркту міокарда (лактатдегідрогенази та креатинкінази ізоформи MB) у серцевому ефлюенті (І. М. Kutovyi, 2015). У дослідженнях сполуки-лідера, похідного імідазо[1,2-а]азепінію IFT_000281 *in vivo* було встановлено, що дана сполука, при пероральному введенні при моделюванні гострого інфаркту міокарда викликала зменшення площі зони некрозу на

21%, порівняно з контролем (Кутовий Ю. Н., Мохорт Н. А., 2016) У даній роботі проводилося вивчення механізму дії сполуки-лідера IFT_000281 шляхом підтвердження чи спростування його здатності активувати K_{ATP} канали кардіоміоцитів, використовуючи блокатор K_{ATP} каналів глібенкламід.

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проводили на ізольованих серцях нелінійних білих щурів обох статей масою 150-300 г, розведення ПП «Біомодельсервіс» відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Тварин наркотизували шляхом внутрішньочеревинного введення уретану з розрахунку 1,5 г/кг. Додатково проводили ін'єкцію гепарину (1000 МО) для запобігання тромбоутворенню в коронарних судинах під час видалення серця. Грудну порожнину розкривали поперечним розрізом на рівні діафрагми та видаляли серце, яке одразу поміщали в льодовий розчин Кребса-Хензеляйта, що містив (ммоль/л): NaCl – 116,8, NaHCO₃– 25, KCl – 5,9, MgSO₄ – 1,2, KH₂PO₄ – 1,2, CaCl₂ – 1,7, глюкоза – 12, рН=7,4. Серця під'єднували до установки перфузії ізольованого серця шляхом канюлювання висхідної аорти. Перфузію проводили під постійним тиском 60 мм рт. ст. розчином Кребса-Хензеляйта, який насичували газовою сумішшю 95% O₂ і 5% CO₂. Температуру перфузуючого розчину підтримували на рівні 37°C. У лівий шлуночок вводили латексний балончик, з'єднаний з датчиком тиску Ohmeda (США).

Було проведено дві серії експериментів: 1. Дослідження впливу сполуки IFT_000281 на функціонування ізольованого серця без попередньої блокади K_{ATP} каналів глібенкламідом. 2. Дослідження впливу сполуки IFT_000281 на функціонування ізольованого серця за умов попередньої блокади K_{ATP} каналів глібенкламідом.

У першій серії експериментів після стабілізаційного періоду тривалістю 15 хв до перфузійного розчину протягом 5 хв додавали досліджувану сполуку IFT_000281, попередньо розчинену в ДМСО і розведену в буфері Кребса-Хензеляйта, таким чином, щоб її концентрація у прерфузійному розчині становила $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, після чого відразу моделювали глобальну ішемію міокарда шляхом припинення подачі перфузату. Здатність сполуки змінювати скоротливу активність міокарда визначали за змінами досліджуваних параметрів, а саме: пульсового тиску (різниця між систолічним та діастолічним тиском у лівому шлуночку), ЧСС, а

також за швидкістю скорочення (dp/dtmax) та розслаблення (dp/dtmin) лівого шлуночка. Коронародилататорну активність оцінювали шляхом вимірювання відтоку перфузійного розчину через коронарні артерії. Заміри проводили за 5 хв до введення досліджуваної речовини та на 3 хв введення досліджуваної речовини; під час ішемії встановлення цього показника було неможливим у зв'язку з перекриттям подачі перфузату. Для оцінки стійкості серця до ішемії вимірювали час від початку припинення подачі перфузату до повної зупинки серця. Дані записували на персональний комп'ютер із застосуванням програми DataTrax2 і аналогово-цифрового перетворювача Lab-Trax-4/16 (World Precision Instruments).

У другій серії експериментів (з використанням глібенкламід) після стабілізаційного періоду тривалістю 15 хв до перфузійного розчину протягом 5 хв додавали глібенкламід у концентрації $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Після цього проводили перфузію ізольованих сердець сполукою IFT_000281 у тій самій концентрації протягом 5 хв. Після цього моделювали глобальну ішемію міокарда шляхом припинення подачі перфузату, аналогічно до першої серії експериментів і реєстрували ті ж самі показники.

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою t-критерію Стьюдента у програмі Statistica 6 (Лапач С. Н. и др., 2002). Достовірними вважалися значення при $p \leq 0,05$. Результати, представлені в таблицях, наведені у вигляді змін (у %) відносно контролю.

Результати та їх обговорення. Для підтвердження чи спростування нашого припущення, що досліджувані похідні імідазо[1,2-а]азепінію є активаторами $K_{ATФ}$ каналів, було проведено серію експериментів з використанням блокатора $K_{ATФ}$ каналів глібенкламід. Глібенкламід додавали до

перфузуючого розчину у концентрації $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л протягом 5 хв перед перфузією ізольованого серця сполукою IFT_000281 у тій самій концентрації. У разі, якщо речовина IFT_000281 активує $K_{ATФ}$ канали кардіоміоцитів, попередня дія глібенкламід буде нівелювати її ефекти. Отримані результати наведені в табл. 1.

В результаті досліджень було встановлено, що попередня дія глібенкламід на ізольовані серця щура нівелює кардіопротекторні ефекти сполуки IFT_000281 у концентрації $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Так, без попередньої обробки глібенкламідом, сполука IFT_000281 викликає збільшення тиску у лівому шлуночку на 43%, швидкості скорочення та розслаблення міокарда – на 75% та 53% відповідно. Швидкість коронарного кровообігу збільшується на 38%, а час до зупинки серця подовжується на 33% порівняно з контрольними значеннями. Після попередньої обробки глібенкламідом, не було зафіксовано статистично значущих змін досліджуваних показників під дією сполуки IFT_000281. Дані показники не відрізнялися від контрольних. Тому, аналізуючи отримані результати та беручи до уваги відомий факт, що глібенкламід є селективним блокатором $K_{ATФ}$ каналів, можна стверджувати, що сполука-лідер IFT_000281 діє на АТФ-залежні К-канали і саме це спричиняє її кардіопротекторні властивості.

Хоча в даній роботі робоча концентрація сполуки IFT_000281 становила $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л, дуже важливим є вибір оптимальних доз активаторів $K_{ATФ}$ каналів з метою корекції чи попередження ішемічно-реперфузійних ушкоджень міокарда. Як виявилось, позитивний чи негативний ефекти активаторів калієвих каналів залежать від дози та місця дії активатора (Coetzee W. A., 1992). Великі дози можуть викликати пригнічення скоротливої активності міокарда.

Таблиця 1.

Показники функціонування ізольованого серця щурів під дією сполуки IFT_000281 за попередньої дії глібенкламід (у % змін відносно вихідних значень).

Table 1.

Parameters of isolated rat heart activity pretreated with glybenclamide after adding IFT_000281 compound (in % of baseline values).

Вимірювані показники(%)	Контроль	IFT_000281, 10-5 (після дії глібенкламід)	IFT_000281, 10-5 (без дії глібенкламід)
ТЛШ	100	98,7±8,45	143,3±11,36*
dp/dtmax	100	105,2±11,56	175,6±26,2*
dp/dtmin	100	102,3±7,65	152,9±33,57*
ЧСС	100	98,9±5,12	113,9±10,52*
Швидкість коронарного кровообігу	100	100,7±6,52	137,9±17,55*
Час до зупинки серця	100	101,3±8,31	132,6±8,22*

Примітка: * - $p < 0,05$ порівняно з контролем, $n=7$.

Note: * - $p < 0,05$ as compared to control, $n=7$.

Це можна було спостерігати у попередніх дослідженнях на прикладі сполуки IFT_000273, коли концентрація $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л викликала припинення скорочення ізольованих сердець, тоді, як менші концентрації ($5 \cdot 10^{-7}$, $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л) проявляли позитивні ефекти (Кутовий Ю. Н., Мохорт Н. А., 2016). Така жорстка залежність позитивного та негативного ефектів від дози значною мірою залежить від типу K_{ATP} каналів на які переважно діє сполука. K_{ATP} канали локалізуються в клітинах різних органів, а в середині кардіоміоцитів – у сарколемі та мітохондріях. Якщо позитивний характер активації мітохондріальних K_{ATP} каналів у більшості дослідників не викликає сумніву тому, що призводить до активації процесів дихання в електроннотранспортному ланцюзі, збереження та запасання АТФ і зменшення перенавантаження Ca^{2+} , то активація сарколемальних K_{ATP} каналів може спричинити негативні наслідки у зв'язку з різким зменшенням часу потенціалу дії та рефрактерного періоду, що може закінчитися порушенням ритму і навіть фібриляцією шлуночків (Bratnagar A., Bolli R., 1999). Більшість дослідників протекторні властивості приписують K_{ATP} каналам саме мітохондріального типу, а використання активаторів сарколемальних K_{ATP} каналів у клініці є досить проблематичним, адже вони, крім негативного впливу на потенціал дії кардіоміоцитів, перешкоджають звільненню інсуліну з панкреатичних β -клітин (що неприпустимо при діабеті), можуть посилювати звільнення катехоламінів, викликати гіпотензію (Coetzee W. A., 1992).

Хоча невідомо який тип K_{ATP} каналів активується у нашому конкретному випадку, отримані результати дають змогу стверджувати, що сполука-лідер IFT_000281 діє на АТФ-залежні К-канали і саме це спричиняє її кардіопротекторні властивості.

Висновки. В результаті порівняння впливу на функціонування ізольованого серця щура сполуки IFT_000281 самостійно та IFT_000281 після попередньої обробки серця блокаторм K_{ATP} каналів глібенкламідом було виявлено, що сполука IFT_000281 активує АТФ-залежні калієві канали.

Список літератури:

1. Герашенко І. Токोलітична активність похідних імідазо[1,2-]азепінію / І. Герашенко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – Т. 31, №6 – С. 37-41.
2. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та

інших наукових цілей [Електронний ресурс] - Режим доступу: http://www.zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137.

3. Кутовий Ю. Н. Исследование способности производных имидазо[1,2-а]азепиния к прекодиционированию миокарда на модели изолированного сердца крысы / Мохорт Н. А., Кутовий Ю. Н. // Проблемы здоровья и экологии. – 2016. – №1 (47). – С. 35-40.
4. Лапач С. Н. Статистика в науке и бизнесе / Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. – Киев: Морион, 2002. – 640 с.
5. Мойбенко О. О., Досенко В. Э., Пархоменко О. М. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца // К., Наукова думка. – 2008. – 520с.
6. Патент на корисну модель № 73591 «Похідні 1-феніл-3-арил-3-гідрокси-2,3,6,7,8,9-гексагідро-5Н-імідазо[1,2-А]азепінію, що проявляють міотропну спазмолітичну активність». З. № u 2012 04579, від 25.09.2012.
7. Струтинський Р. Б. Дослідження кардіопротекторних ефектів нового фторвмісного активатора АТФ-залежних калієвих каналів / Р. Б. Струтинський, О. О. Мойбенко, Л. М. Ягупольський та ін. // Фізіологічний журнал. – 2001. – Т. 47, №2. – С. 16-23.
8. Bratnagar A., Bolli R. Modulation of K_{ATP} channels to protect the ischemic myocardium: clinical implications // Exp Clin Cardiol. – 1999. – Vol. 4, № 1. – P. 20-22.
9. Coetzee W. A. ATP-sensitive potassium channels and myocardial ischemia: why do they open? // Cardiovasc Krugs Ther. – 1992. – Vol. 6. – P. 201–208.
10. Gao H. Activation of alpha1B-adrenoceptors alleviates ischemia/reperfusion injury by limitation of mitochondrial Ca^{2+} overload in cardiomyocytes / H. Gao, L. Chen, H. T. Yang // Cardiovasc. Res. – 2007. – Vol. 75. – P. 584–595.
11. I. M. Kutovyi. Attenuation of myocardial ischemia-reperfusion injury by imidazo[1,2-a]azepinium derivatives / I. M. Kutovyi // Pharmacology and drug toxicology. – 2015. – Vol. 6 (46). – P. 70-75.
12. Imani A. Noradrenaline reduces ischemia-induced arrhythmia in anesthetized rats: involvement of alpha1-adrenoreceptors and mitochondrial K ATP channels / A. Imani, M. Faghihi, S. S. Sadr et al // J. Cardiovasc. Electrophysiol. – 2008. – Vol. 19. – P. 309–315.
13. Kudej R. K. Obligatory role of cardiac nerves and alpha1-adrenergic receptors for the second window of ischemic preconditioning in conscious pigs / R. K. Kudej, Y. T. Shen, A. P. Peppas et al // Circ. Res. – 2006. – Vol. 99. – P. 1270–1276.
14. Obal D. The influence of mitochondrial KATP-channels in the cardioprotection of preconditioning and postconditioning by sevoflurane in the rat in vivo / D. Obal, S. Dettwiler, C. Favocchia et al // Anesth. Analg. – 2005. – Vol. 101. – P. 1252–1260.
15. Rajesh K. G. Ischemic preconditioning prevents reperfusion heart injury in cardiac hypertrophy by activation of mitochondrial KATP channels / K. G. Rajesh, S. Sasaguri, R. Suzuki et al. // Int. J. Cardiol. – 2004. – Vol. 96. – P. 41–49.

16. Rojas Gomez D. M. Alpha-1-adrenoceptor subtype selective regulation of connexin 43 expression in rat cardiomyocytes / D. M. Rojas Gomez, J. S. Schulte, F. W. Mohr et al. // *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 377. – P. 77–85.
17. Shen Y. L. Activation of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels delays ischemia-induced cellular uncoupling in rat heart / Y. L. Shen, Y. Y. Chen, X. D. Wu et al. // *Acta. Pharmacol. Sin.* – 2004. – Vol. 25. – P. 22–28.
18. Tejero-Taldo M. I. Alpha-adrenergic receptor stimulation produces late preconditioning through inducible nitric oxide synthase in mouse heart / M. I. Tejero-Taldo, E. Gursoy, T. C. Zhao et al. // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2002. – Vol. 34. – P. 185–195.
19. Tsukamoto O. A role of opening of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels in the infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning via activation of protein kinase C in the canine heart / O. Tsukamoto, H. Asanuma, J. Kim et al // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2005. – Vol. 338. – P. 1460–1466.
20. Zaugg M. Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part I. Signalling and cytoprotective mechanisms / M. Zaugg, E. Lucchinetti, M. Uecker et al. // *Brit. J. Anaesth.* – 2003. – Vol. 91. – P. 551–565.
- miokarda na modeli izolirovannogo serdca krysy / Mohort N. A., Kutovyj Ju. N. // *Problemy zdorov'ja i jekologii.* – 2016. – #1 (47). – S. 35–40.
9. Lapach S. N. Statistika v nauke i biznese / Lapach S. N., Chubenko A. V., Babich P. N. – Kiev: Morion, 2002. – 640 s.
10. Mojbenko O. O., Dosenko V. Je., Parhomenko O. M. Jendogennye mehanizmy kardioprotekcii kak osnova patogeneticheskoy terapii zabolevanij serdca // *K., Naukova dumka.* – 2008. – 520c.
11. Obal D. The influence of mitochondrial KATP-channels in the cardioprotection of preconditioning and postconditioning by sevoflurane in the rat in vivo / D. Obal, S. Dettwiler, C. Favocchia et al. // *Anesth. Analg.* – 2005. – Vol. 101. – P. 1252–1260.
12. Patent na korisnu model' # 73591 «Pohidni 1-fenil-3-aril-3-gidroksi-2,3,6,7,8,9-geksagidro-5N-imidazo[1,2-A]zepiniju, shho projavljajut' miotropnu spazmolitnu aktivnist'». Z. # u 2012 04579, vid 25.09.2012.
13. Rajesh K. G. Ischemic preconditioning prevents reperfusion heart injury in cardiac hypertrophy by activation of mitochondrial KATP channels / K. G. Rajesh, S. Sasaguri, R. Suzuki et al. // *Int. J. Cardiol.* – 2004. – Vol. 96. – P. 41–49.
14. Rojas Gomez D. M. Alpha-1-adrenoceptor subtype selective regulation of connexin 43 expression in rat cardiomyocytes / D. M. Rojas Gomez, J. S. Schulte, F. W. Mohr et al. // *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.* – 2008. – Vol. 377. – P. 77–85.
15. Shen Y. L. Activation of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels delays ischemia-induced cellular uncoupling in rat heart / Y. L. Shen, Y. Y. Chen, X. D. Wu et al. // *Acta. Pharmacol. Sin.* – 2004. – Vol. 25. – P. 22–28.
16. Strutins'kij R. B. Doslidzhennja kardioprotekturnih effektiv novogo ftorvmisnogo aktivatora ATF-zaleznhih kalievih kanaliv / R. B. Strutins'kij, O. O. Mojbenko, L. M. Jagupol's'kij ta in. // *Fiziologichnij zhurnal.* – 2001. – T. 47, #2. – S. 16–23.
17. Tejero-Taldo M. I. Alpha-adrenergic receptor stimulation produces late preconditioning through inducible nitric oxide synthase in mouse heart / M. I. Tejero-Taldo, E. Gursoy, T. C. Zhao et al. // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2002. – Vol. 34. – P. 185–195.
18. Tsukamoto O. A role of opening of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels in the infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning via activation of protein kinase C in the canine heart / O. Tsukamoto, H. Asanuma, J. Kim et al // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2005. – Vol. 338. – P. 1460–1466.
19. Yevropejs'ka konvenciya pro zaxyst xrebetnyx tvaryn, shho vykorystovuyut'sya dlya doslidnyx ta inshyx naukovyx cilej [Elektronnyj resurs] - Rezhym dostupu: http://www.zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137.
20. Zaugg M. Anaesthetics and cardiac preconditioning. Part I. Signalling and cytoprotective mechanisms / M. Zaugg, E. Lucchinetti, M. Uecker et al. // *Brit. J. Anaesth.* – 2003. – Vol. 91. – P. 551–565.

References:

1. Bratnagar A., Bolli R. Modulation of K_{ATP} channels to protect the ischemic myocardium: clinical implications // *Exp Clin Cardiol.* – 1999. – Vol. 4, № 1. – P. 20–22.
2. Coetzee W. A. ATP-sensitive potassium channels and myocardial ischemia: why do they open? // *Cardiovasc Krugs Ther.* – 1992. – Vol. 6. – P. 201–208.
3. Gao H. Activation of alpha1B-adrenoceptors alleviates ischemia/reperfusion injury by limitation of mitochondrial Ca²⁺ overload in cardiomyocytes / H. Gao, L. Chen, H. T. Yang // *Cardiovasc. Res.* – 2007. – Vol. 75. – P. 584–595.
4. Herashhenko I. Tokolitychna aktyvnist' poxidnyx imidazo[1,2-a]zepiniju / I. Herashhenko // *Farmakolohiya ta likars'ka toksykolohiya.* – 2012. – Vol. 31, № 6 – S. 37–41.
5. I. M. Kutovyj. Attenuation of myocardial ischemia-reperfusion injury by imidazo[1,2-a]zepinium derivatives / I. M. Kutovyj // *Pharmacology and drug toxicology.* – 2015. – Vol. 6 (46). – P. 70–75.
6. Imani A. Noradrenaline reduces ischemia-induced arrhythmia in anesthetized rats: involvement of alpha1-adrenoreceptors and mitochondrial K ATP channels / A. Imani, M. Faghihi, S. S. Sadr et al // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* – 2008. – Vol. 19. – P. 309–315.
7. Kudej R. K. Obligatory role of cardiac nerves and alpha1-adrenergic receptors for the second window of ischemic preconditioning in conscious pigs / R. K. Kudej, Y. T. Shen, A. P. Peppas et al // *Circ. Res.* – 2006. – Vol. 99. – P. 1270–1276.
8. Kutovyj Ju. N. Issledovanie sposobnosti proizvodnyh imidazo[1,2-a]zepinija k prekondicionirovaniju

EFFECTS OF IMIDAZO[1,2-A]AZEPINE DERIVATIVE IFT_000281 ON ATP-DEPENDENT POTASSIUM CHANNELS

M. A. Mokhort, I. M. Kutovyi

In this work we have been experimentally tested the ability of imidazo[1,2-a]azepine derivative, compound under IFT_000281 code to activate the ATP-dependent potassium channels (K_{ATP} channels). To confirm or refute our hypothesis that the investigated imidazo[1,2-a]azepine derivative is an activator K_{ATP} channels, a series of experiments using a blocker of K_{ATP} channels glibenclamide was performed. Glibenclamide was added to the perfusion solution at a concentration of $1 \cdot 10^{-5}$ M for 5 minutes before the perfusion of the isolated heart by solution of the same concentration of IFT_000281. If IFT_000281 substance activates K_{ATP} channels of cardiomyocytes preliminary action of glibenclamide will neutralize its effects. As a result of studies, it was found that the preliminary action of glibenclamide on isolated rat heart eliminates cardioprotective effects of the compound IFT_000281 at a concentration of $1 \cdot 10^{-5}$ M. Thus, using without glibenclamide, IFT_000281 causes an increase of pressure in the left ventricle by 43%, the speed of contraction and relaxation of the myocardium – in 75% and 53% respectively. Coronary blood flow speed increased in 38% and the time until cardiac arrest increases in 33% compared to control values. After pretreatment with glibenclamide, there was not statistically significant change in performance under the influence of investigated compounds IFT_000281. These values were not different from controls. Analyzing the results and considering the known fact, that glibenclamide is a selective blocker of K_{ATP} channels, it can be argued that the compound IFT_000281 acts on the ATP-dependent K-channels and this causes its cardioprotective properties.

Key words: myocardium preconditioning, ATP-dependent K-channels, isolated heart, ischemia, imidazo[1,2-a]azepine derivatives.

Одержано редколлегією 04.04.2016