

**Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
Wydział Farmaceutyczny**

JACEK SAPA

**STRUKTURA A AKTYWNOŚĆ
PRZECIWARYTMICZNA I HIPOTENSYJNA
NOWYCH POCHODNYCH PIROLIDYNONU-2 O
DZIAŁANIU α -ADRENOLITYCZNYM**

PRACA DOKTORSKA

PROMOTOR: DR HAB. BARBARA FILIPEK

Pracę wykonano w Pracowni Wstępnych Badań Farmakologicznych CM UJ

Kierownik: Dr hab. Barbara Filipek

Bibl. Medyczna CM UJ



1816019169

KRAKÓW 2001

*Składam serdeczne podziękowania
Pani Dr hab. Barbarze Filipek za ukształtowanie naukowe
i nieocenioną pomoc w realizacji niniejszej pracy.*

*Dziękuję bardzo Pani Dr hab. Barbarze Malawskiej i Mgr Katarzynie
Kulig za syntezę badanych związków.*

*Pani Prof. Lucynie Antkiewicz-Michaluk dziękuję gorąco za wykonanie
badań receptorowych.*

SPIS TREŚCI

WPROWADZENIE.....	6
CEL PRACY.....	13
UZASADNIENIE PODJĘCIA BADAŃ.....	13
WZORY BADANYCH ZWIĄZKÓW.....	15
METODYKA	
1. Materiały.....	20
1.1. Badane związki.....	20
1.2. Związki odniesienia.....	20
1.3. Stosowane leki i odczynniki.....	20
1.4. Zwierzęta.....	21
1.5. Aparatura.....	21
1.6. Obliczenia statystyczne.....	21
2. Badania skriningowe nowych pochodnych pirolidynonu-2.....	22
2.1. Oznaczenie toksyczności ostrej wg Litchfielda i Wilcoxa.....	22
2.2. Oznaczenie wpływu na prawidłowy elektrokardiogram szczura <i>in vivo</i>	22
2.3. Oznaczenie profilaktycznego działania przeciwaritmicznego w modelu arytmii:	
a) adrenaliny u szczura wg Szekeresa.....	22
b) barowej u szczura wg Szekeresa.....	23
2.4. Oznaczenie wpływu na ciśnienie tętnicze krwi u normotensyjnego szczura.....	23
3. Badania poszerzone dla wyselekcjonowanych związków.....	23
3.1. Oznaczenie profilaktycznego działania przeciwaritmicznego po podaniu dożołądkowym w modelu arytmii:	
a) adrenaliny.....	23
b) barowej.....	24
3.2. Oznaczenie leczniczego działania przeciwaritmicznego w modelu arytmii:	
a) adrenaliny wg Szekeresa.....	24
b) barowej wg Szekeresa.....	24
3.3. Oznaczenie działania hipotensyjnego badanych związków po podaniu dożołądkowym.....	24
3.4. Oznaczenie wpływu badanych związków na presyjne działanie amin katecholowych.....	25
3.5. Wpływ na częstotliwość, wpływ wieńcowy i elektrokardiogram wyosobnionego serca szczura wg metody Langendorffa.....	25
3.6. Oznaczenie działania przeciwaritmicznego w niemiarowości wywołanej okluzją i reperfuzją naczyń wieńcowego (<i>in vitro</i>).....	26
3.7. Oznaczenie wiązania z receptorami α_1 -, α_2 - i β -adrenergicznymi w korze mózgowej szczura.....	26
3.8. Oznaczenie wpływu na mięśniówkę gładką wyosobnionego jelita cienkiego królika.....	28
3.9. Wpływ na ośrodkowy układ nerwowy.....	28
3.9.1. Wpływ na ruchliwość spontaniczną.....	28
3.9.2. Wpływ na czas trwania snu tiopentalowego.....	29
WYNIKI	
Ad.2. Badania skriningowe nowych pochodnych pirolidynonu-2.....	30
Ad.2.1. Toksyczność ostra.....	30
Ad.2.2. Wpływ badanych związków na prawidłowy elektrokardiogram szczura <i>in vivo</i>	31
Ad.2.3. Profilaktyczna aktywność przeciwaritmiczna w modelu arytmii:	
a) adrenaliny.....	37
b) barowej.....	42
Ad.2.4. Wpływ na ciśnienie tętnicze krwi.....	45
Ad.3. Poszerzone badania farmakologiczne.....	51
Ad.3.1. Profilaktyczne działanie przeciwaritmiczne po podaniu dożołądkowym w modelu arytmii:	
a) adrenaliny.....	51
b) barowej.....	54
Ad.3.2. Lecznicze działanie przeciwaritmiczne w modelu arytmii:	
a) adrenaliny.....	55
b) barowej.....	57

Ad.3.3. Wpływ na ciśnienie skurczowe i rozkurczowe po podaniu dożołądkowym.....	58
Ad.3.4. Wpływ na presyjne działanie amin katecholowych i DMPP.....	61
Ad.3.5. Wpływ na elektrokardiogram, częstotliwość i wypływ wieńcowy wyosobnionego serca szczura.....	69
Ad. 3.6. Aktywność przeciwartymiczna w arytmii wywołanej okluzją i reperfuzją naczyń wieńcowego szczura <i>in vitro</i>	78
Ad.3.7. Powinowactwo do receptorów adrenergicznych.....	87
Ad.3.8. Wpływ na mięśniówkę gładką wyosobnionego jelita cienkiego królika	88
Ad.3.9. Wpływ na ośrodkowy układ nerwowy.....	90
Ad.3.9.1. Wpływ na ruchliwość spontaniczną.....	90
Ad.3.9.2. Wpływ na czas trwania snu tiopentalowego.....	92
DYSKUSJA.....	93
WNIOSKI.....	102
STRESZCZENIE.....	103
PIŚMIENNICTWO.....	104

WPROWADZENIE

Etiopatogeneza zaburzeń rytmu serca

Do wystąpienia zaburzeń rytmu serca dochodzi najczęściej na drodze:

- zwiększonej pobudliwości pozazatokowych (ektopowych) ośrodków bodźcotwórczych,
- zjawiska nawracającej fali pobudzenia (pobudzenia nawrotnego; *reentry*),
- tzw. automatyzmu wyzwalanego, związanego z obecnością potencjałów następczych (aktywność wymuszona) [10,34,116,121].

W klinice spotykane są również dysrytmie, które mają charakter złożony i są wynikiem zarówno zaburzeń tworzenia, jak i przewodzenia bodźców. Większość jednak spotykanych zaburzeń rytmu serca z szybką czynnością jest wynikiem pobudzenia nawrotnego [10,34,116]. Groźba wystąpienia zaburzeń jest szczególnie duża w stanach niedokrwienia mięśnia sercowego (kwasica), w hipokalemii, hipomagnezemia, nadmiernej aktywacji układu adrenergicznego czy układu renina-angiotensyna-aldosteron, w niewydolności serca, w zaostrzeniach przewlekłej choroby płuc, zapaleniu osierdzia i mięśnia sercowego [8,10,11, 34,55,95]. Przyczyną zaburzeń mogą być też zmiany organiczne w postaci blizn pozawałowych, tętniaków, przerostu mięśnia sercowego. Ponadto za pojawienie się zaburzeń rytmu mogą być odpowiedzialne stosowane leki takie jak: glikozydy nasercowe, diuretyki obniżające potas, leki inotropowe, leki przeciwnowotworowe, środki znieczulenia ogólnego, leki przeciwaritmiczne oraz nadużywanie kawy, tytoniu i alkoholu [5,24,34,47,116].

Leki stosowane w zaburzeniach rytmu serca

W leczeniu zaburzeń rytmu serca, pomimo rosnącej roli nefarmakologicznych metod (abłacja przedsionkowo-komorowych dodatkowych połączeń, wszczepienie automatycznego defibrylatora oraz leczenie chirurgiczne tj. wszczepienie pomostów aortalnowieńcowych, wycięcie tętniaka, operacja wad serca, plastyka naczyń wieńcowych) nadal ważną, czasami niezastąpioną, rolę odgrywają leki przeciwaritmiczne [12,18,34,57, 81,113]. Podstawowymi celami leczenia farmakologicznego są:

- uzyskanie objawowej poprawy u chorych z dokuczliwymi, ale nie zagrażającymi życiu zaburzeniami rytmu
- zapobieżenie wystąpieniu arytmii powodujących istotne następstwa hemodynamiczne
- zapobieżenie nawracającym zaburzeniom rytmu, zagrażającym życiu

Dostępne w terapii leki przeciwyrtmiczne normalizują rytm serca poprzez:

- blokowanie kanałów sodowych, potasowych, wapniowych,
- blokowanie receptorów adrenergicznych β ,
- pobudzenie receptorów adenozynowych,
- jony magnezu

Do końca lat sześćdziesiątych dysponowaliśmy niewieloma lekami przeciwyrtmicznymi. W ostatnich 15-20 latach liczba dostępnych do klinicznego użytku leków przeciwyrtmicznych znacznie wzrosła. Wraz z coraz szybszym tempem pojawiania się nowych leków wysuwano wciąż nowe propozycje ich klasyfikacji. Spośród wielu popularność zyskał tylko schemat przedstawiony w r. 1971 przez Vaughana-Williamsa [114], grupujący leki stosownie do ich głównego mechanizmu działania, tzn. zgodnie z miejscem ich wiązania się z błoną komórkową i wywierania tam wpływu blokującego.

Podział leków przeciwyrtmicznych wg Vaughan Williams'a:

Klasa I - Leki stabilizujące błonę komórkową, blokujące kanał sodowy

- IA - Chinidyna, Dizopiramid, Prokainamid, Ajmalina (umiarkowane zwolnienie przewodzenia, umiarkowane wydłużenie czasu trwania potencjału czynnościowego)
- IB - Lidokaina, Meksyletyna, Tokainid, Fenytoina, Aprindyna, Moracyzyna (minimalne zwolnienie przewodzenia, skrócenie czasu trwania potencjału czynnościowego)
- IC - Flekainid, Enkainid, Lorkainid, Propafenon, Cibenzolina (brak istotnego wpływu na czas trwania potencjału czynnościowego)

Klasa II - Leki blokujące receptory beta

Propranolol, Oksprenolol, Metoprolol, Alprenolol, Acebutolol, Nadolol, Atenolol, Esmolol itp. (skrócenie potencjału czynnościowego lub brak wpływu)

Klasa III - Amiodaron, Bretylium, Sotalol, Ibutilid, Azimilid, Dofetilid, Tedisamil,

Sematilid (leki blokujące kanał potasowy, wydłużające czas trwania potencjału czynnościowego)

Klasa IV - Leki blokujące kanał wapniowy

Werapamil, Diltiazem (wydłużenie fazy *plateau* potencjału czynnościowego)

Do klasy pierwszej należą leki blokujące kanał sodowy, w wyniku czego dochodzi do zwolnienia maksymalnej szybkości depolaryzacji. Efekty elektrofizjologiczne sprzyjają zmniejszeniu spontanicznego automatyzmu. W obrębie tej klasy leki można podzielić dalej, w zależności od czasu trwania potencjału czynnościowego, na 3 grupy. Dominującą cechą

leków należących do klasy IA jest wydłużenie czasu trwania potencjału czynnościowego. Do klasy IB należą leki skracające czas trwania potencjału czynnościowego, a do klasy IC leki nie zmieniające istotnie czasu trwania potencjału czynnościowego. Leki klasy II zmniejszają skłonność do wystąpienia zaburzeń rytmu w odpowiedzi na katecholaminy, mają zdolność hamowania czwartej fazy depolaryzacji. Leki klasy III charakteryzują się wydłużeniem czasu trwania potencjału czynnościowego z następczym wydłużeniem efektywnego okresu repolaryzacji, a leki klasy IV hamują powolny napływ jonów wapniowych do wnętrza komórek sercowych, a więc fazę drugą (*plateau*) potencjału czynnościowego [2,3,14,17,25,37,40,52,56,62,63,105].

Nowszą próbą klasyfikacji leków przeciwaritmicznych jest wprowadzona w roku 1990 [17,34] metoda Gambitu Sycylijskiego, uwzględniająca całą gamę dodatkowych działań leków przeciwaritmicznych - typ i stopień blokady poszczególnych kanałów, antagonistyczny i agonistyczny wpływ na receptory, efekt wywierany na pompę sodowo-potasową oraz skłonność do wiązania w zależności od aktywności lub nieaktywności komórki. Tym samym Gambit Sycylijski jest tabelarycznym zestawieniem pełnych efektów poszczególnych leków przeciwaritmicznych, w którym każdy środek stanowi jak gdyby sam dla siebie klasę.

Działanie niepożądane leków przeciwaritmicznych

Wszystkie leki przeciwaritmiczne posiadają działanie arytmogenne (proarytmiczne) tzn. mogą nasilać już istniejące zaburzenia rytmu lub wywoływać nowe [5,10,16,24,28,34,47,69,97,116,121]. Wyróżniamy co najmniej cztery kategorie zaburzeń rytmu wyzwalanych przez leki przeciwaritmiczne:

- bradyarytmie
- nasilenie się zaburzeń nawrotnych
- *torsade de pointes*
- arytmie spowodowane pogorszeniem warunków hemodynamicznych

Polekowe zaburzenia rytmu serca o charakterze bradyarytmii, mogą powstać wskutek hamowania węzła zatokowo-przedsionkowego lub przez spowodowanie bloku przedsionkowo-komorowego. Jednak klinicznie korzystne zwolnienie czynności pod

Lek	Kanały						Receptory				Pompy	Efekt kliniczny					
	Na			Ca	K		α	β	M ₂	A1	Na-K ATPaza	Czyn- ność lewej komory	Rytm zaw- sowy	Dwa- żenie	PR (skup)	QRS szer- kość	JT (skup)
	Ca	K	Wid														
Lidokaina	○											→	→	○			↓
Meksyletyna	○											→	→	○			↓
Tokainid	○											→	→	●			↓
Moryzycyna	⊙											↓	→	○		↑	
Prokainamid		u			⊙							↓	→	●	↑	↑	↑
Dizopiramid		u			⊙				○			↓	→	○	↑↓	↑	↑
Chinidyna A		u			⊙		○		○			→	↑	○	↑↓	↑	↑
Propafenon		u						⊙				↓	↓	○	↑	↑	
Flekainid A			u		○							↓	→	○	↑	↑	
Enkainid A			u									↓	→	○	↑	↑	
Bepridyl	○			●	⊙							?	↓	○			↑
Werapamil	○			●			⊙					↓	↓	○	↑		
Diltiazem				⊙								↓	↓	○	↑		
Bretylium					●		■	■				→	↓	○			↑
Sotalol					●			●				↓	↓	○	↑		↑
Amiodaron	○			○	●		⊙	⊙				→	↓	●	↑		↑
Alinidyna					⊙	●						?	↓	●			
Nadolol								●				↓	↓	○	↑		
Propranolol	○							●				↓	↓	○	↑		
Atropina									●			→	↑	⊙	↓		
Adenozyna										□		?	↓	○	↑		
Digoksyna									□		●	↑	↓	●	↑		↓

Metoda gambitu sycylijskiego, schemat uwzględniający wszystkie ważniejsze znane właściwości leków przeciwaritmicznych. Zaznaczono działanie każdego leku na kanały, receptory i pompy, a także efekty kliniczne. (Reprodukcja za zgodą Członków Gambitu Sycylijskiego. *Antiarrhythmic Therapy: A Pathophysiologic Approach*. Armonk N.Y.: Futura, 1994:94).

Względna siła bloku: ○ – mała, ⊙ – umiarkowana, ● – duża;

□ – agonista, ■ – agonista/antagonista; u – bloker stanu aktywnego, ⊙ – bloker stanu nie-aktywnego.

wpływem leków przeciwaritmicznych występuje najczęściej u tych pacjentów u których już wcześniej występowały zaburzenia układu bodźco-twórczo-przewodzącego. Bradykardia zatokowa może wystąpić po β-adrenolitykach, naparstnicy lub blokerach kanału wapniowego, a więc po lekach hamujących czynność węzła zatokowo-przedsionkowego.

Najczęstszym przykładem polekowego zwolnienia jest wydłużenie przerwy, która może pojawić się przy konwersji migotania przedsionków w rytm zatokowy. Jednakże ta postać bradyarytmii nie jest w istocie spowodowana przez lek przeciwaritmiczny, lecz u podłoża tego zjawiska leży właściwość chorego węzła zatokowo-predsionkowego polegająca na hamowaniu automatyzmu w warunkach nadmiernego przyspieszenia bodźców (tzw. *overdrive*). W efekcie nagle przerwanie częstoskurczu przedsionkowego, wywołane lekiem powoduje trwającą wiele sekund asystolię, zanim węzeł zatokowo-predsionkowy zacznie od nowa wytwarzać bodźce. Blok przedsionkowo-komorowy może wystąpić po podaniu β -adrenolityków, blokerów kanału wapniowego lub najczęściej digoksyny. Z kolei blok układu Hisa-Purkiniego może być spowodowany przez leki klasy IA, IC oraz III.

Zaostrzenie arytmii nawrotnych może wystąpić podczas leczenia zarówno nadkomorowych jak i komorowych zaburzeń rytmu serca. Zasadniczo każde podanie leku przeciwaritmicznego pacjentowi z potencjalnym obwodem nawrotnym, może spowodować zmniejszenie istniejących zaburzeń rytmu, jak również może je nasilić. Najczęściej z tego typu zaburzeniami mamy do czynienia po podaniu leków klasy IC, które znacznie zwalniają przewodzenie, co może prowadzić do nasilenia bodźców nawrotnych, jak również po lekach z klasy IA. Natomiast rzadziej do tego typu zaburzeń dochodzi po podaniu leków z klasy IB i III. Klinicznym następstwem proarytmii może być nagły zgon. Leki przeciwaritmiczne klasy II i IV nasilają zaburzenia typu nawrotnego tylko u pacjentów z arytmią nadkomorową, w których część układu nawrotnego stanowi węzeł przedsionkowo-komorowy.

Do leków obdarzonych najsilniejszym działaniem proarytmicznym należą głównie leki klasy IC i IA tzn. enkainid, propafenon, flekainid, chinidyna, dizopiramid. Leki zaliczane do klasy III - amiodaron, sotalol, bretylium, ibutilid, azimilid, dofetilid, tedisamil, semailid - mają niewielki efekt proarytmiczny, a β -adrenolityki praktycznie pozbawione są takiego działania [34,47,56,91,92,96,97,99,107]. Siła działania proarytmicznego leków klasy I przewyższa ich pozytywne, tzn. że leki te usuwają co prawda znakomicie pojedynczą ekstrasystolię komorową - ale stwarzają jednocześnie predyspozycję do migotania komór lub częstoskurczu typu *torsade de pointes* z wydłużonym QT [5,62,116]. *Torsade de pointes* jest częstoskurczem komorowym charakteryzującym się stopniowo zmieniającym się kierunkiem i ukształtowaniem zespołów QRS, które wydają się oscylować wokół linii izoelektrycznej. Szczyty zespołów komorowych występują najpierw po jednej stronie linii izoelektrycznej, następnie po drugiej. Naprzemienne odwracanie kierunku wektora QRS w płaszczyźnie

czołowej EKG powoduje typową morfologię, przypominającą “kręcenie się wokół osi” (balet serca). Działanie arytmogenne leku przeciwaritmicznego jest trudne do przewidzenia, chociaż stwierdzenie wystąpienia wydłużenia odstępu QT po podaniu leku może sugerować działanie jatrogenne. Wydaje się, że spośród leków przeciwaritmicznych klasy IA najłatwiej nabyty zespół wydłużonego odstępu QT wywołuje chinidyna. Działanie to może ujawnić się po zastosowaniu większej dawki samego leku przeciwaritmicznego, jak również w wyniku kojarzenia leków przeciwaritmicznych między sobą - w celu osiągnięcia lepszego efektu terapeutycznego - lub kojarzenia z lekami przeciwhistaminowymi II generacji (np. terfenadyną, astemizolem), trójpierścieniowymi lekami przeciwdepresyjnymi, preparatami fenotiazynowymi oraz antybiotykami makrolidowymi (np. erytromycyną). Wydłużeniu odstępu QT sprzyja również hipokalemia, hipomagnezemia, hipokalcemia oraz zwolnienie akcji serca [24,34,121].

Ze względu na opisane wyżej działanie jatrogenne leków przeciwaritmicznych wskazaniem do ich stosowania powinien być utrwalony częstoskurcz komorowy oraz zaburzenia rytmu nasilające niewydolność krążenia. Nie powinno się natomiast leczyć arytmii bezobjawowych [13,15,28,98].

Prawie wszystkie leki przeciwaritmiczne zmniejszają kurczliwość serca oraz działają chronotropowo i dromotropowo ujemnie, co może powodować pogorszenie warunków hemodynamicznych. Najsilniejsze upośledzenie inotropizmu występuje po podaniu flekainidu, β -adrenolityków i antagonistów kanału wapniowego, a najslabsze po podaniu chinidyny i amiodaronu [34]. Podane dożylnie wywołują często zaburzenia hemodynamiczne: obniżenie ciśnienia tętniczego krwi, zwolnienie czynności serca, zmniejszenie objętości wyrzutowej, wzrost ciśnienia końcoworozkurczowego w lewej komorze. Opór obwodowy zmniejsza się pod wpływem chinidyny, fenytoiny i werapamilu, a zwiększa po zastosowaniu prokainamidu i leków β -adrenolitycznych. Werapamil, amiodaron i fenytoina zwiększają przepływ wieńcowy w przeciwieństwie do wszystkich innych leków przeciwaritmicznych zmniejszających kurczliwość serca [34,46].

Stosowane w klinice leki przeciwaritmiczne, poza niekorzystnym działaniem proarytmicznym, ujemnym efektem ino- i tonotropowym czy działaniem depresyjnym na ośrodek naczynioruchowy, mogą wywoływać objawy niepożądane ze strony: układu oddechowego (zwiększenie oporu w drogach oddechowych - β -adrenolityki, zwłóknienie płuc - amiodaron), ośrodkowego układu nerwowego (koszmarne sny, senność lub

bezsensowność, zmęczenie, omamy wzrokowe, bóle i zawroty głowy, zaburzenia mowy, parestezje, zaburzenie widzenia, oczopląs - β -adrenolityki, lidokaina, werapamil, flekainid, fenytoina i propafenon), przewodu pokarmowego (zaburzenia żołądkowo-jelitowe, uszkodzenie wątroby - chinidyna, amiodaron), nerek (amiodaron), czynności gruczołów wydzielania wewnętrznego (zaburzenia wydzielania hormonów tarczycy - amiodaron), zaburzenia metaboliczne (hipoglikemia, wzrost stężenia triglicerydów - β -adrenolityki), reakcje nadwrażliwości (fotodermatozy, rumień i wysypki skórne - amiodaron) [34,63,69,113].

Kluczem do właściwego stosowania leków przeciwaritmicznych w terapii zaburzeń rytmu serca jest gruntowna wiedza o ich mechanizmie działania, fizjologicznych skutkach tego działania, właściwościach farmakokinetycznych, skuteczności terapeutycznej oraz o ich działaniu niepożądanym. Idealny lek przeciwaritmiczny powinien wykazywać szeroki zakres aktywności terapeutycznej przeciwko przedsionkowemu, węzłowemu i komorowemu zaburzeniom rytmu i być dostępny w postaci pozajelitowej i doustnej w celu umożliwienia szybkiego zadziałania oraz utrzymywania się działania profilaktycznego przy prostym schemacie dawkowania. Powinien mieć właściwości farmakokinetyczne umożliwiające przewidywanie stężeń w osoczu podczas długotrwałego leczenia oraz nie wykazywać działania proarytmicznego, depresyjnego wpływu na hemodynamikę oraz znaczących pozasercowych objawów niepożądanych. Na dzień dzisiejszy nie posiadamy "idealnego" leku przeciwaritmicznego, który eliminowałby wszystkie pobudzenia dodatkowe, a działanie proarytmiczne leków przeciwaritmicznych sprawia, że każda decyzja o rozpoczęciu długotrwałego leczenia przeciwaritmicznego powinna być poprzedzona zbilansowaniem korzyści i ryzyka związanego z działaniem niepożądanym. Brak skutecznego i bezpiecznego leku sprawia, że ciągle poszukuje się nowych, aktywnych struktur o działaniu przeciwaritmicznym [80].

CEL PRACY

Celem niniejszej pracy było oznaczenie właściwości elektrofizjologicznych, przeciwaritmicznych, hipotensyjnych i α -adrenolitycznych nowych N-(β -hydroksy- γ -aminopropylowych) pochodnych pirolidynonu-2 i pirolidyny oraz określenie zależności pomiędzy strukturą a aktywnością biologiczną.

UZASADNIENIE PODJĘCIA BADAŃ

W Katedrze Chemii Farmaceutycznej oraz Pracowni Wstępnych Badań Farmakologicznych Collegium Medicum UJ w Krakowie prowadzone są poszukiwania nowych N-podstawionych pochodnych pirolidynonu-2, o spodziewanym działaniu przeciwaritmicznym i/lub hipotensyjnym. Poszukiwania te zainspirowane zostały wykryciem działania przeciwaritmicznego piracetamu (N-acetamido-pirolidynonu-2), [58,102] oraz doniesieniami wskazującymi, że niektóre pochodne pirolidynonu-2 powodują spadek ciśnienia tętniczego krwi i rozszerzają naczynia wieńcowe [30,32,33,71,72,73, 74,76,106,108,112]. Rezultatem tych poszukiwań było otrzymanie kilku serii związków tj. N-alkiloaminowych, N-acetyloguanidynowych i N-hydroksyalkiloaminowych pochodnych pirolidynonu-2 [30,73,74], z których wyselekcjonowano 1-[2-hydroksy-3-(4-fenyl-1-piperazyno) propyl]-pirolidynon-2 oznaczony symbolem MG-1. Poszerzone badania farmakologiczne związku MG-1 wykazały, że zmniejsza on lub zapobiega dysrytmii adrenaliny i barowej *in vivo* oraz wywiera korzystny wpływ na reperfuzyjne zaburzenia rytmu izolowanego serca. Związek MG-1 nieznacznie zwalnia pracę serca, wydłuża odcinek P-Q, Q-T oraz zespół QRS, nie wpływając istotnie na wpływ wieńcowy, kurczliwość i ciśnienie w lewej komorze serca [30,75]. W doświadczeniach *in vitro* na izolowanych skrawkach mięśnia brodawkowego badany związek przedłuża czas trwania potencjału czynnościowego, zmniejsza szybkość narastania potencjału czynnościowego i jego amplitudę. Związek MG-1 posiada również działanie miejscowo znieczulające. Otrzymane wyniki wskazują, że związek MG-1 można zaliczyć do klasy I leków przeciwaritmicznych o mechanizmie działania zbliżonym do chinidyny, ale o słabszym działaniu kardiodepresyjnym [30,32,75,78]. MG-1 wykazuje działanie hipotensyjne, hamuje lub zapobiega wzrostowi ciśnienia krwi po adrenalinie, potęguje działanie presyjne noradrenaliny i DMPP

(dimetylofenylopipezyna), a nieznacznie zmniejsza reakcję na podanie metoksaminy. Działanie to jest wynikiem blokady receptorów α_1 - i α_2 - pre- i post-synaptycznych ($K_i=1,9 \mu\text{M}$, $K_i=29 \mu\text{M}$). Ponadto związek MG-1 posiada słabe działanie spazmolityczne, przeciwhistaminowe oraz uspokajające [30]. Blokada receptora α -adrenergicznego może mieć korzystne znaczenie w zapobieganiu zaburzeniom rytmu serca. Wiele danych eksperymentalnych wskazuje, że niektóre α -adrenolityki mogą hamować reperfuzyjne zaburzenia rytmu serca [7,12,61].

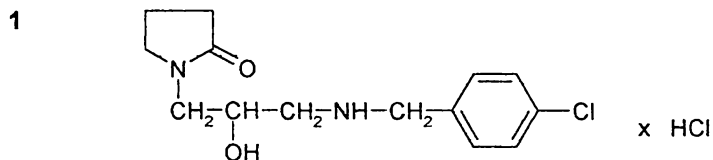
Uzyskane wyniki stanowiły podstawę do syntezy 18 nowych analogów związku MG-1, które stały się przedmiotem wstępnych badań farmakologicznych obejmujących oznaczenie:

- toksyczności ostrej
- wpływu na elektrokardiogram szczura (*in vivo*)
- aktywności przeciwaritmicznej w modelu arytmii adrenalinowej i barowej (*in vivo*) przy podaniu dożylnym (*i.v.*)
- wpływu na ciśnienie skurczowe i rozkurczowe krwi u normotensyjnego, znieczulonego szczura, przy podaniu dożylnym

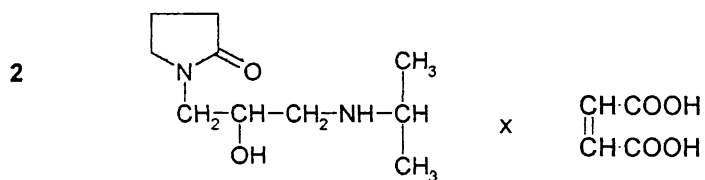
Dla wyselekcjonowanych w pierwszym etapie związków w dalszym etapie przewidziano oznaczenie:

- aktywności przeciwaritmicznej w modelu arytmii adrenalinowej i barowej przy podaniu dożołądkowym
- wpływu na ciśnienie skurczowe i rozkurczowe krwi u normotensyjnego, znieczulonego szczura, przy podaniu *per os*
- wpływu na presyjne działanie amin katecholowych
- wpływu na pracę wyosobnionego serca szczura
- aktywności przeciwaritmicznej w komorowych zaburzeniach rytmu wyosobnionego serca szczura, wywołanych okluzją i reperfuzją naczyń wieńcowego *in vitro*
- powinowactwa do receptorów α_1 - , α_2 - i β -adrenergicznych (przy współpracy z Instytutem Farmakologii PAN)
- wpływu na mięśniówkę gładką
- wpływu na OUN (ruchliwość spontaniczna, sen tiopentalowy)

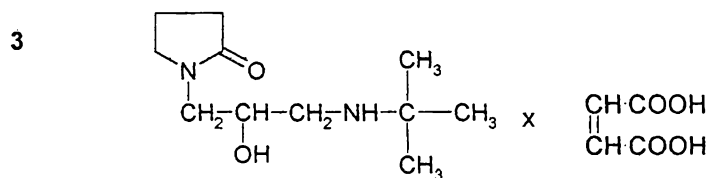
WZORY BADANYCH ZWIĄZKÓW



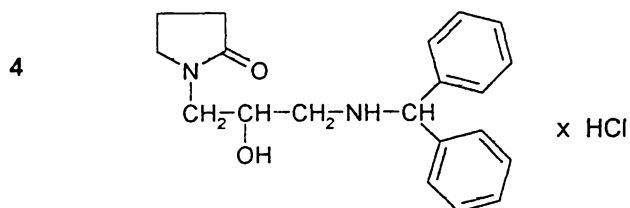
Chlorowodorek 1-[β-hydroksy-γ-(p-chlorobenzylamino)propyl]-pirolidynonu-2



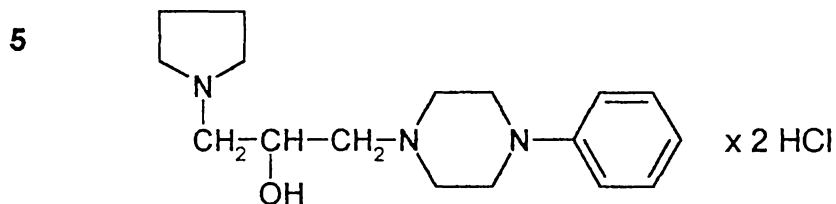
Maleinian 1-[β-hydroksy-γ-(izopropylamino)propyl]-pirolidynonu-2



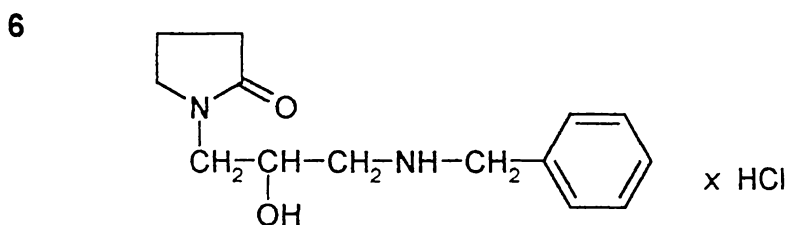
Maleinian 1-[β-hydroksy-γ-(tert-butyloamino)propyl]-pirolidynonu-2



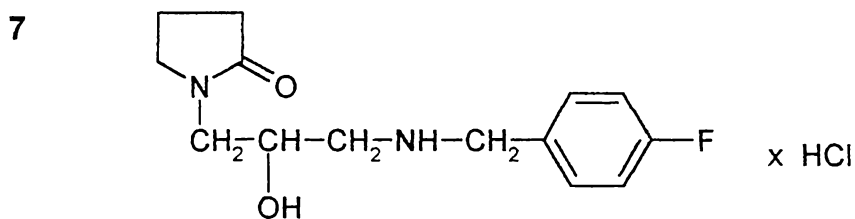
Chlorowodorek 1-[β-hydroksy-γ-(difenylometyloamino)propyl]-pirolidynonu-2



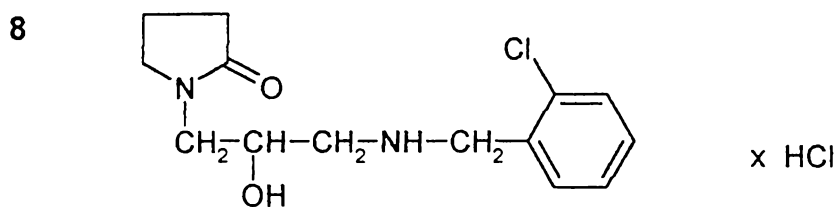
Dichlorowodorek 1-[β-hydroksy-γ-(N-fenylpiperazyno)propylo]-pirolidyny



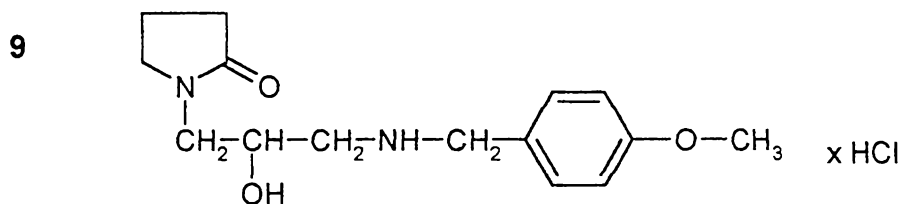
Chlorowodorek 1-[β-hydroksy-γ-(benzylamino)propylo]-pirolidynonu-2



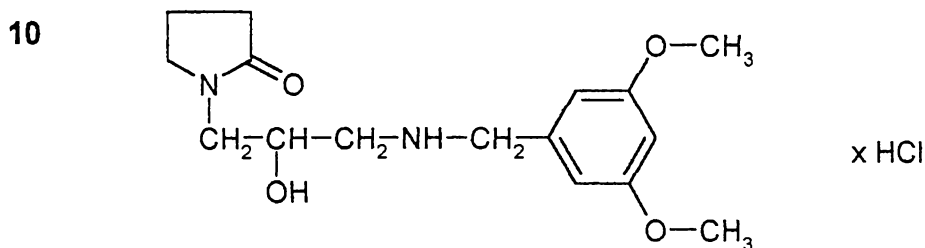
Chlorowodorek 1-[β-hydroksy-γ-(p-fluorobenzylamino)propylo]-pirolidynonu-2



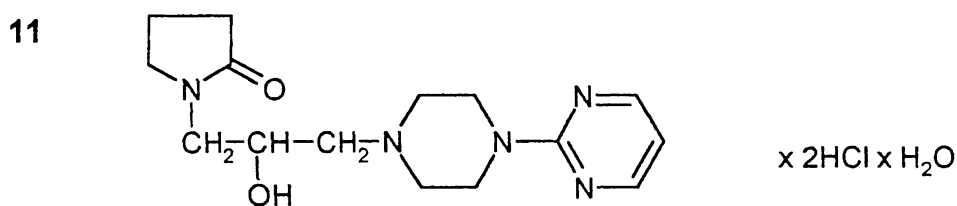
Chlorowodorek 1-[β-hydroksy-γ-(o-chlorobenzylamino)propylo]-pirolidynonu-2



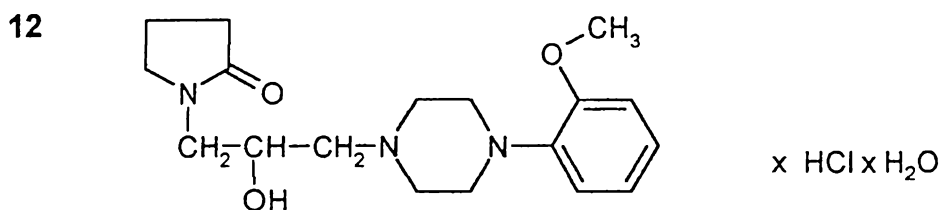
Chlorowodorek 1-[β-hydroksy-γ-(p-metoksybenzyloamino)propylo]-pirolidynonu-2



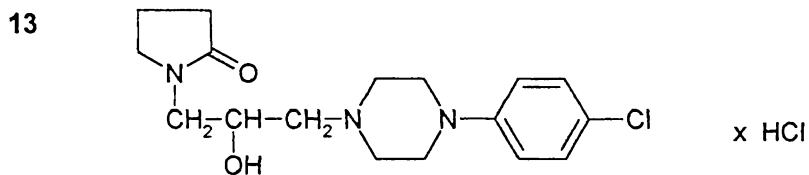
Chlorowodorek 1-[β-hydroksy-γ-(3',4'-dimetoksybenzyloamino)propylo]-pirolidynonu-2



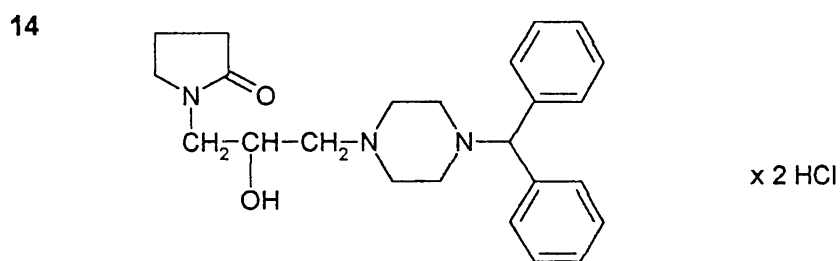
Dichlorowodorek 1-{β-hydroksy-γ-[4-(2'-pirimidyno)-1-piperazyno]propylo}-pirolidynonu-2



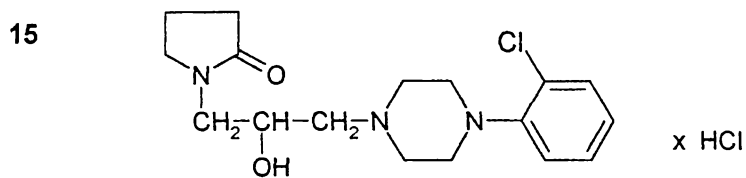
Chlorowodorek 1-{β-hydroksy-γ-[4-(o-metoksyfenylo)-1-piperazyno]propylo}-pirolidynonu-2



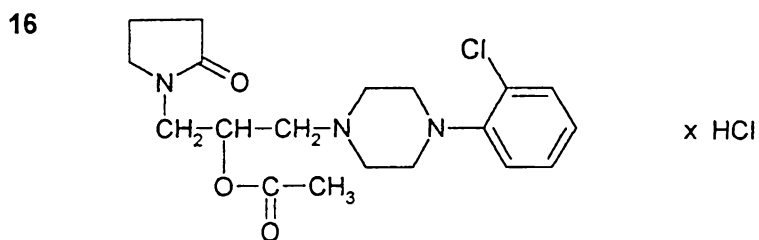
Chlorowodorek 1-β-hydroksy-γ-[4-(p-chlorofenylo)-1-piperazyno]propylo]-pirolidynonu-2



Dichlorowodorek 1-β-hydroksy-γ-[4-(difenylometylo)-1-piperazyno]propylo]-pirolidynonu-2

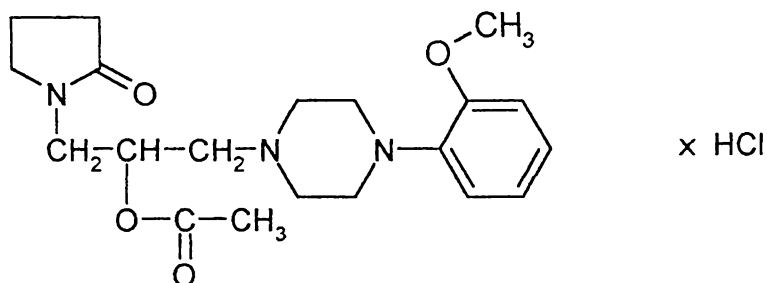


Chlorowodorek 1-β-hydroksy-γ-[4-(o-chlorofenylo)-1-piperazyno]propylo]-pirolidynonu-2



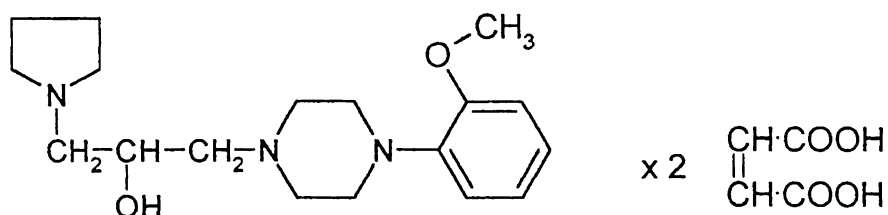
Chlorowodorek 1-β-acetylo-γ-[4-(o-chlorofenylo)-1-piperazyno]propylo]-pirolidynonu-2

17



Chlorowodorek 1-{β-acetylo-γ-[4-(o-metoksyfenylo)-1-piperazyno]propylo}-pirolidynonu-2

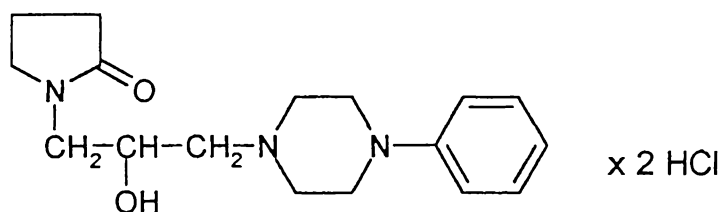
18



Dimaleinian 1-{β-hydroksy-γ-[4-(o-metoksyfenylo)-1-piperazyno]propylo}-pirolidyny

ZWIĄZEK ODNIESIENIA

MG-1



Dichlorowodorek 1-{β-hydroksy-γ-[4-fenylopiperazyno]-propylo}-pirolidynonu-2

METODYKA

1. Materiały

1.1. Badane związki

18 nowych pochodnych pirolidynonu-2 zsyntetyzowano w Katedrze Chemii Farmaceutycznej CM UJ w Krakowie. Struktury i nazwy chemiczne badanych związków zamieszczono na stronie 15-19.

1.2. Związki odniesienia

Jako związku odniesienia użyto związku MG-1 czyli 1-[2-hydroksy-3-(4-fenyl - 1-piperazyno)-propylo]-pirolidynonu-2 oraz propranolol i chinidynę.

1.3. Stosowane leki i odczynniki

adrenalina (Adrenalinum hydrochloricum-Polfa)

chlorek baru (Barium chloratum-P.O.Ch.)

chlorek magnezu (Magnesii chloridum-P.O.Ch.)

chlorek wapnia (Calcii chloridum-P.O.Ch.)

chlorek potasu (Kalii chloridum-P.O.Ch.)

chlorek sodu (Natrii chloridum isotonica -Polfa)

DMPP (Dimethylphenylpiperazinum-Sigma)

glukoza bezwodna (Glucosum-Polfa)

heparyna (Heparinum sulfuricum-Polfa)

metoksamina (Methoxamine hydrochloride-Sigma)

propranolol (Propranololum hydrochloricum -Polfa)

chinidyna (Chinidinum sulfuricum-Polfa)

noradrenalina (Levonor-Polfa)

tiopental (Thiopentone sodium- Helfa-Frenon-Arzneimittel-Germany)

tyramina (Tyramine-Sigma)

wodorowęglan sodowy (Natrii hydrocarbonas- P.O.Ch.)

1.4. Zwierzęta

Myszy białe rasy Swiss/Alb., samce o masie ciała 18-25 g, szczury normotensyjne szczepu Wistar o masie ciała 180-350 g oraz króliki rasy mieszanej o masie ciała 2,5-3,5 kg. Zwierzęta przebywały w standardowych klatkach odpowiednich do ich rozmiarów, w pomieszczeniu o temperaturze 20-24 °C, cykl świetlny 12 -godzinny. Karmione były standardową paszą granulowaną. Do picia otrzymywały wodę z kranu w dowolnych ilościach.

1.5. Aparatura

Elektrokardiograf typ Multicard E-30

Kardiomonitor CMK-405

Kardiotachometr CTK-301

Transformator separacyjny TSK-301

Aparat do pomiaru ciśnienia tętniczego u małych zwierząt DATAMAX (firma Columbus Instruments, Ohio)

Pompa perystaltyczna typ-315

Rejestrator TZ 4100

1.6. Obliczenia statystyczne

Wyniki przedstawiono jako średnie z pomiarów $\pm$ błąd standardowy średniej ($\bar{x} \pm \text{SEM}$). Przy porównaniu wartości średnich dla dwóch różnych grup zastosowano test t-Studenta, uznając różnicę średnich za znamiennej statystycznie przy poziomie istotności $p < 0,05$. Przy porównywaniu wartości średnich obliczonych przed podaniem i po podaniu związku zastosowano test ANOVA.

Wartości LD_{50} i ED_{50} obliczano przy użyciu metody Litchfielda i Wilcoxona [66].

2. Badania skriningowe nowych pochodnych pirolidynonu-2

2.1. Oznaczenie toksyczności ostrej wg Litchfielda i Wilcoxa [66].

Toksyczność ostrą oznaczono na myszach. Badane związki podawano dożylnie lub dożołądkowo. Grupy doświadczalne liczyły po 6 zwierząt. Obserwację zachowania się zwierząt prowadzono przez 6 godzin, a śmiertelność odczytano po 24 godz. Wartość LD_{50} obliczono wg Litchfielda i Wilcoxa [66].

2.2. Oznaczenie wpływu na prawidłowy elektrokardiogram szczura *in vivo*

Badania elektrokardiograficzne wykonano aparatem typu Multicard E-30, stosując odprowadzenie dwubiegunowe II, przy szybkości przesuwu taśmy 50 mm/sek i kalibracji napięcia 1mV=1cm. Po wykonaniu, w narkozie tiopentalowej (60 mg/kg i.p.), elektrokardiogramów kontrolnych podawano dożylnie badane związki w dawce 1/10 i 1/5 LD_{50} i.v.. Zapisu EKG dokonywano powtórnie po 1, 5 i 15 minucie od podania związku.

2.3. Oznaczenie profilaktycznego działania przeciwaritmicznego w modelu arytmii:

a) adrenalinowej u szczura wg Szekeresa [109]

Celem wywołania niemiarowości podawano znieczulonym ogólnie (tiopental 60 mg/kg i.p.) szczurom dożylnie adrenalinę w dawce 20 μ g/kg i.v., w objętości 1 ml/kg. Badane związki podawano dożylnie, w stałej objętości 1 ml/kg, na 15 minut przed arytmogেনem.

W grupie kontrolnej, otrzymującej 0,9% NaCl, po około 5-10 sekundach od wstrzyknięcia adrenaliny obserwowano zwolnienie czynności serca u około 83-100% zwierząt, ekstrasystole u około 83-100% oraz blok przedsionkowo-komorowy u około 67-83% zwierząt. Opisane zaburzenia doprowadzały do śmierci około 50-67% zwierząt.

Za kryterium działania przeciwaritmicznego przyjęto zmniejszenie wyżej opisanych objawów arytmii, zabezpieczenie przed ich wystąpieniem oraz osłonę przed śmiercią.

b) barowej u szczura wg Szekeresa [109]

Badania przeprowadzono na szczurach znieczulonych tiopentalem (60 mg/kg i.p.). Chlorek baru w dawce 32 mg/kg, w stałej objętości 1 ml/kg, wstrzykiwano do żyły ogonowej. Badane związki podawano dożylnie na 15 minut przed arytmogেনem.

W grupie kontrolnej, otrzymującej 0,9% NaCl, po 10-15 sekundach od podania BaCl₂ obserwowano krótkotrwałą bradykardię zatokową przechodzącą w rytm komorowy z całkowicie zniekształconymi zespołami QRS, prowadzący do asystoli i śmierci wszystkich zwierząt po około 3-5 minutach.

Za aktywność przeciwaritmiczną związku przyjęto zmniejszenie liczby przedwczesnych pobudzeń nadkomorowych i komorowych, zapobieganie fibrylacji oraz przedłużenie czasu przeżycia zwierząt w stosunku do kontroli.

2.4. Oznaczenie wpływu na ciśnienie tętnicze krwi u normotensyjnego szczura

Doświadczenie wykonano na normotensyjnych, znieczulonych tiopentalem (60 mg/kg i.p.) szczurach. Badane związki podawano dożylnie w dawkach 1/40, 1/20, 1/10 LD₅₀. Ciśnienie krwi mierzono w tętnicy szyjnej wspólnej, przy pomocy aparatu do pomiaru ciśnienia tętniczego u małych zwierząt typu DATAMAX, firmy Columbus Instruments (Ohio), przed podaniem oraz po 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50 i 60 minutach od podania związku.

3. Badania poszerzone dla wyselekcjonowanych związków

3.1. Oznaczenie profilaktycznego działania przeciwaritmicznego po podaniu dożołądkowym w modelu arytmii:

a) adrenaliny

Niemiarowość poadrenalinową wywoływano wg metody opisanej uprzednio. Badane związki podawano dożołądkowo na 30 i 60 minut przed wstrzyknięciem arytmogenu. Za kryterium działania przeciwaritmicznego przyjęto zabezpieczenie przed wystąpieniem zaburzeń oraz przedłużenie czasu przeżycia zwierząt w stosunku do kontroli.

b) barowej

Arytmię wywoływano wg metody opisanej uprzednio. Badane związki podawano dożołądkowo na 30 i 60 minut przed wstrzyknięciem arytmogenu. Za kryterium działania przeciwaritmicznego przyjęto ochronę przed fibrylacją oraz zabezpieczenie przed śmiercią.

3.2. Oznaczenie leczniczego działania przeciwaritmicznego w modelu arytmii:

a) adrenalinowej wg Szekeresa [109]

Badane związki podawano dożylnie na szczycie niemiarowości wywołanej wstrzyknięciem adrenaliny w dawce 20 $\mu\text{g/kg}$.

Za kryterium działania przeciwaritmicznego przyjęto czas umiarowienia akcji serca, powrót rytmu zatokowego oraz osłonę przed śmiercią w porównaniu do grupy kontrolnej.

b) barowej wg Szekeresa [109]

Badane związki podawano dożylnie bezpośrednio po wywołaniu niemiarowości (chlorek baru 32 mg/kg i.v.) u znieczulonych (tiopental 60 mg/kg i.p.) szczurów.

Jako kryterium działania przeciwaritmicznego przyjęto umiarowienie akcji serca, powrót rytmu zatokowego oraz przedłużenie czasu przeżycia zwierząt w stosunku do kontroli.

3.3. Oznaczenie działania hipotensyjnego badanych związków po podaniu dożołądkowym

Badane związki podawano dożołądkowo szczurom w zakresie dawek 1/40-1/10 LD_{50} . Pomiaru ciśnienia skurczowego i rozkurczowego dokonywano przed i po 10, 20, 30, 40, 50 i 60 minutach od podania związku w sposób analogiczny jak opisano na str.23.

3.4. Oznaczenie wpływu badanych związków na presyjne działanie amin katecholowych

Badania wykonano na normotensyjnych szczurach (190-250 g). Ciśnienie tętnicze krwi mierzono w tętnicy szyjnej wspólnej (wg metody opisanej w punkcie 2.4). Po kontrolnym zapisie skurczowego ciśnienia tętniczego podawano dożylnie kolejno: adrenalinę ($2\mu\text{g/kg}$), noradrenalinę ($2\mu\text{g/kg}$), metoksaminę ($150\mu\text{g/kg}$), tyraminę ($200\mu\text{g/kg}$) oraz DMPP ($100\mu\text{g/kg}$), a następnie badane związki ($1/40$ - $1/10$ LD_{50}). Po 5 min. od podania badanego związku ponownie podawano aminy katecholowe oraz DMPP, w kolejności jak wyżej, rejestrując za każdym razem wartości ciśnienia tętniczego.

Przy ocenie wyników brano pod uwagę przyrosty ciśnienia skurczowego (ΔBP), indukowanego podawaniem amin katecholowych oraz DMPP, przed i po podaniu badanego związku.

3.5. Wpływ na częstotliwość, wypływ wieńcowy i elektrokardiogram wyosobnionego serca szczura wg metody Langendorff'a [60]

Szczurom, samcom (180-350 g), podawano dootrzewnowo heparynę w objętości 1 ml/kg. Po upływie 30 min. zwierzęta zabijano, szybko wycinano serce i umieszczano je w płynie odżywczym o $\text{pH}=7,4$, o składzie (mmol/l): NaCl (120,0), KCl (5,6), MgCl_2 (2,2), CaCl_2 (2,4), NaHCO_3 (19,0), glukoza (10,0), natlenianym karbogenem (95% O_2 i 5% CO_2). Następnie wyizolowane serce zawieszano, przez podwiązanie aorty, na metalowej kaniuli i perfundowano przefiltrowanym (filtr Sartorius, typ SM 65) płynem odżywczym pod ciśnieniem 70 cm H_2O . Zawieszone serce przy pomocy dwóch stalowych, nierdzewnych elektrod (jedna umieszczona bezpośrednio w mięśniu sercowym, druga na metalowej kaniuli) podłączano do elektrokardiografu. Po 15 minutowym okresie adaptacyjnym rejestrowano kontrolną krzywą EKG. Następnie badany związek dodawano do płynu odżywczego perfundującego serce we wzrastających stężeniach: 10^{-9} , 3×10^{-9} , 10^{-8} , 3×10^{-8} , 10^{-7} , 3×10^{-7} , 10^{-6} , 3×10^{-6} , 10^{-5} , 3×10^{-5} , 10^{-4} mol/l. Zapisu EKG dokonywano przed podaniem związku oraz po 5 min. od podania odpowiedniego stężenia badanego związku. Równocześnie przy pomocy cylinderka miarowego mierzono wypływ wieńcowy (ml/min.).

3.6. Oznaczenie działania przeciwaritmicznego w niemiarowości wywołanej okluzją i reperfuzją naczyń wieńcowego (*in vitro*)

Doświadczenie wykonano na wyosobnionym sercu szczura wg metody Lubbe [68]. Serce wyosabniano i podwieszano analogicznie jak w metodzie Langendorff'a [60]. Po 15 min. okresie adaptacyjnym wywoływano niedotlenienie mięśnia sercowego przez zamknięcie, przy pomocy specjalnego zacisku, lewej tętnicy wieńcowej. Po 15 min. zacisk usuwano i przez 30 min. zapisywano elektrokardiogram w sposób ciągły. Równocześnie, przy użyciu cylinderka, mierzono w ml/min. wypływ wieńcowy bezpośrednio przed okluzją, w czasie okluzji i reperfuzji. Badany związek, w odpowiednim stężeniu molowym, dodawano do płynu odżywczego na 15 min. przed okluzją i utrzymywano przez cały czas trwania eksperymentu. Aktywność każdego stężenia badano minimum na 6 sercach. Rozpoznawanie i określenie ilościowe arytmii prowadzono zgodnie z wytycznymi zawartymi w "The Lambeth Conventions" [117]. Dla oceny intensywności arytmii przyjęto punktową skalę opisaną przez Bernauera [7], gdzie wystąpienie w ciągu 30 minutowego okresu reperfuzji:

mniej niż 10 ekstrasystoli = 1 punkt

więcej niż 10 ekstrasystoli = 2 punkty

tachykardii lub trzepotania komorowego = 3 punkty

fibrilacji = 4 punkty

3.7. Oznaczenie wiązania z receptorami α_1 - α_2 - i β - adrenergicznymi w korze mózgowej szczura [32]

Szczura dekapitowano, szybko wyciągano mózg, który następnie homogenizowano przy użyciu homogenizatora Polytron w temperaturze 0°C po 20-krotnym rozcieńczeniu 50 mmol/l buforem Tris-HCl o pH 7.6, a następnie homogenat wirowano z prędkością 1000 x g w temperaturze 0°C przez 10 min. Otrzymany supernatant ponownie wirowano z prędkością 25000 x g przez 30 min. Ostatecznie uzyskany pellet (frakcja P₂) używano do oznaczenia powinowactwa badanych związków do receptora noradrenergicznego α_1 -, α_2 lub β stosując odpowiednie ligandy: [³H]prazosynę, [³H]klonidynę lub [³H]-CGP₂₃₃₉₀.

Receptor noradrenergiczny α_1

Powinowactwo badanych związków do receptora noradrenergicznego α_1 badano przy użyciu ^3H - prazosyny (Amersham, aktywność specyficzna 25 Ci./mmol) jako specyficznego liganda. Mieszanina inkubacyjna o objętości próbki 550 μl zawierała 450 μl preparatu błonowego, 50 μl radioliganda w stężeniu 0.7 nM oraz 50 μl buforu zawierającego od 7 do 8 stężeń (1 nM - 100 μM) badanych związków. Do pomiaru wiązania niespecyficznego stosowano 10 μM fentolaminę. Próbki inkubowano w duplikatach w łaźni wodnej w temperaturze 25°C przez 30 min, następnie filtrowano przez filtry Whatman GF/C, filtry płukano dwukrotnie 5 ml zimnego buforu i umieszczano w naczynkach z 3 ml płynu scyntylicyjnego i liczono w liczniku scyntylicyjnym Beckman LS 3801. Wiązanie specyficzne określano jako różnicę pomiędzy wiązaniem całkowitym, a wiązaniem niespecyficznym. Wartości K_i (μM) oznaczono przy zastosowaniu programu komputerowego GraphPad.Prism.

Receptor noradrenergiczny α_2

Powinowactwo badanych związków do receptora noradrenergicznego α_2 badano przy użyciu ^3H - klonidyny (Amersham, aktywność specyficzna 25.5 Ci./mmol) jako specyficznego liganda. Mieszanina inkubacyjna o objętości próbki 550 μl zawierała 450 μl preparatu błonowego, 50 μl radioliganda w stężeniu 2 nM oraz 50 μl buforu zawierającego od 7 do 8 stężeń (1 nM - 100 μM) badanych związków. Do pomiaru wiązania niespecyficznego stosowano 10 μM klonidynę. Próbki inkubowano w duplikatach w łaźni wodnej w temperaturze 25°C przez 30 min, następnie filtrowano przez filtry Whatman GF/C, filtry płukano dwukrotnie 5 ml zimnego buforu i umieszczano w naczynkach z 3 ml płynu scyntylicyjnego i liczono w liczniku scyntylicyjnym Beckman LS 3801. Wiązanie specyficzne określano jako różnicę pomiędzy wiązaniem całkowitym, a wiązaniem niespecyficznym. Wartości K_i (μM) oznaczono przy zastosowaniu programu komputerowego GraphPad.Prism.

Receptor noradrenergiczny β

Powinowactwo badanych związków do receptora noradrenergicznego β badano przy użyciu ^3H - CGP₂₃₃₉₀ (Amersham, aktywność specyficzna 53.1 Ci./mmol) jako specyficznego liganda. Mieszanina inkubacyjna o objętości próbki 550 μl zawierała 450 μl preparatu błonowego, 50 μl radioliganda w stężeniu 1 nM oraz 50 μl buforu zawierającego od 7 do 8 stężeń (1 nM - 100 μM) badanych związków. Do pomiaru wiązania niespecyficznego

stosowano 10 μM propranolol. Próbkę inkubowano w duplikatach w łaźni wodnej w temperaturze 25°C przez 30 min, następnie filtrowano przez filtry Whatman GF/C, filtry płukano dwukrotnie 5 ml zimnego buforu i umieszczano w naczynkach z 3 ml płynu scyntylicyjnego i liczono w liczniku scyntylicyjnym Beckman LS 3801. Wiązanie specyficzne określano jako różnicę pomiędzy wiązaniem całkowitym, a wiązaniem niespecyficznym. Wartości K_i (μM) oznaczono przy zastosowaniu programu komputerowego GraphPad.Prism.

3.8. Oznaczenie wpływu na mięśniówkę gładką wyosobnionego jelita cienkiego królika

Wpływ badanych związków na mięśniówkę gładką badano na izolowanym jelicie cienkim królika wg klasycznej metody Magnusa [70]. Zwierzęta zabijano, wypreparowywano i wycinano odcinki jelita cienkiego długości 3-4 cm, które umieszczano w natlenionym płynie Tyrode'a.

Następnie odcinek jednym końcem mocowano do uchwytu w naczynku termostatowanym, o pojemności 50 ml, zawierającym natleniony płyn Tyrode'a o temp. 37°C, a drugim do izometrycznego przetwornika. Skurcze spontaniczne jelita, przy obciążeniu 1g, zapisywano na rejestratorze typ TZ-4100. Badane związki podawano we wzrastających stężeniach (10^{-8} - 10^{-4} M), rejestrując wpływ każdej dawki przez 5 min.

3.9. Wpływ na ośrodkowy układ nerwowy

3.9.1. Wpływ na ruchliwość spontaniczną

Myszom (18-24 g) podawano dożołądkowo badany związek w dawkach odpowiadających 1/20-1/5 LD_{50} p.o. Zwierzęta kontrolne otrzymywały 0,9 % NaCl.

Po upływie 30 minut myszy wkładano pojedynczo do specjalnie skonstruowanych klatek z fotokomórką, połączonych z licznikiem telefonicznym. Ilość wykonanych ruchów rejestrowano przez 30 minut dokonując odczytu co 10 minut. Wyniki obliczono statystycznie wg metody t-Studenta.

3.9.2. Wpływ na czas trwania snu tiopentalowego

Tiopental w dawce 55 mg/kg, wstrzykiwano myszom dootrzewnowo po 30 minutach od momentu dożołądkowego podania badanego związku ($1/10$ - $1/5$ LD_{50}) lub 0,9% roztworu NaCl, w objętości 10 ml/kg. Czas trwania snu narkotycznego liczono od momentu utraty do momentu powrotu odruchu postawy. Wyniki opracowano testem t-Studenta.

WYNIKI

Ad 2. Badania skринingowe nowych pochodnych pirolidynonu-2

Ad 2.1. Toksyczność ostra

Wartości LD_{50} , wyznaczone na myszach, dla wszystkich badanych pochodnych pirolidynonu-2 po podaniu dożylnym oraz dla wybranych aktywnych związków po podaniu dożołądkowym zebrano w tabeli 1.

Tabela 1. Toksyczność ostra badanych pochodnych pirolidynonu-2

Zwierzę: mysz ; Liczba zwierząt w grupie = 6

Związek	LD_{50} (mg/kg)	
	i.v.	p.o.
1	120 (105,4 - 135,2)	
2	380 (352 - 410)	
3	350 (378 - 324)	
4	125 (119 - 131,2)	
5	59 (54,6 - 63,7)	600 (519,5 - 693)
6	340 (315 - 367)	
7	140 (127 -154)	
8	175 (160,5 - 190,7)	
9	124 (96,8 - 158,7)	
10	150 (133 - 169)	
11	310 (269,5 - 356,5)	
12	145 (118,8 - 176,9)	800 (710 - 920)
13	100 (76 - 132)	595 (476 - 743,7)
14	71 (60,7 - 83,1)	
15	80 (61,5 - 104)	348 (274 - 442)
16	120 (100,2 - 137,4)	400 (312 - 476)
17	350 (324 - 384)	733 (632 - 850)
18	145 (126 - 187,2)	700 (610 - 897)
MG-1	132 (102,3 - 170,3)	290 (238 - 368)
Propranolol	22	471 (448 - 503)
Chinidyna	66,9 (63,6 - 70,3)	594 (511 - 677)

Ad 2.2. Wpływ badanych związków na prawidłowy elektrokardiogram szczura *in vivo*

Związki 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11 i 18, podane dożylnie w dawce odpowiadającej $1/5 LD_{50}$, nie wpływały istotnie na częstotliwość pracy serca oraz na elektrokardiogram szczura (Tab. 2a, 2b, 2c i 2d).

Związek 5, podany dożylnie, w dawce odpowiadającej $1/5 LD_{50}$ i $1/10 LD_{50}$ (11,8 i 5,9 mg/kg) wywoływał zaburzenia rytmu pracy serca. Podany w dawce 3,5 mg/kg (tj. około $1/17 LD_{50}$) statystycznie znamienne zwalniał akcję serca o około 69 uderzeń na minutę oraz wydłużał odstęp Q-T (o 24%), nie zmieniając istotnie czasu trwania odstępu P-Q i zespołu QRS (Tab.2a). Zbliżony efekt obserwowano po podaniu dawki 2,5 mg/kg (ok. $1/24 LD_{50}$), natomiast podanie dawki odpowiadającej ok. $1/34 LD_{50}$ (tj. 1,75 mg/kg) prowadziło do zaniku znamionnego wpływu na częstotliwość pracy serca (Tab.2a).

Związek 12, w dawce 29 mg/kg (tj. $1/5 LD_{50}$ i.v.) wywoływał zaburzenia rytmu pracy serca. W dawce 14,5 mg/kg ($1/10 LD_{50}$ i.v.) istotnie zmniejszał częstotliwość o 74 uderzenia na minutę (18,5%), przy nieznacznym, statystycznie nieistotnym, wydłużeniu czasu trwania odstępu P-Q, Q-T i zespołu QRS (Tab.2b).

Związek 13, podany w dawce 20 mg/kg i 10 mg/kg (tj. $1/5$ i $1/10 LD_{50}$ i.v.), znamienne zwalniał częstość pracy serca o 64 i 56 uderzeń na minutę. Zwolnieniu pracy serca towarzyszyło nieznamiennie wydłużenie odcinka P-Q (o 11,3 i 25%), zespołu QRS (o 9 i 37%) oraz odcinka Q-T w dawce niższej o 6,7%, a w dawce wyższej o 17% ($p<0,01$) (Tab.2c).

Związek 14 w dawce $1/5 LD_{50}$ (14 mg/kg) zwalniał statystycznie nieistotnie pracę serca szczura o 39 uderzeń na minutę oraz istotnie wydłużał czas trwania odstępu P-Q (o 24 %), zespołu QRS (o 12%) oraz odstępu Q-T (o około 21-25 %), (Tab.2c).

Związek 15 w dawce 16 mg/kg ($1/5 LD_{50}$) praktycznie nie zmieniał czasu trwania odstępu P-Q i zespołu QRS, natomiast wydłużał odstęp Q-T o 13,3% oraz nieznacznie zwalniał pracę serca o 19 uderzeń na minutę (Tab.2c).

Związek 16, podany w dawce $1/5 LD_{50}$ (24 mg/kg,) praktycznie nie zmieniał czasu trwania odstępu P-Q i zespołu QRS, natomiast nieznacznie zwalniał pracę serca o około 27 uderzeń na minutę i wydłużał statystycznie znamienne czas trwania odstępu Q-T o około 14,5% (Tab.2c).

Związek 17 w dawce $1/5 LD_{50}$ (tj. 70 mg/kg), podobnie jak związki 5 i 12, zaburzał rytm pracy serca szczura. W dawce 35 mg/kg ($1/10 LD_{50}$) statystycznie znamienne wydłużał czas trwania odstępu P-Q o 20% praktycznie nie wpływając na zespół QRS i odstęp Q-T, w dawce $1/20 LD_{50}$ (17,5 mg/kg) nie zmieniał istotnie krzywej elektrokardiograficznej (Tab.2c).

Tabela 2a. Wpływ badanych pochodnych pirolidynonu-2 na elektrokardiogram szczura *in vivo*

Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg i.p.) Droga podania: dożylnie

Związek	Dawka (mg/kg)	Parametr	Czas obserwacji (min)			
			0	1	5	15
1	24	P-Q (msek)	50,0 $\pm$ 4,0	52,0 $\pm$ 5,1	52,0 $\pm$ 5,1	52,0 $\pm$ 5,1
		QRS (msek)	19,1 $\pm$ 1,2	19,1 $\pm$ 1,2	19,1 $\pm$ 1,2	19,1 $\pm$ 1,2
		Q-T (msek)	78,3 $\pm$ 5,6	86,0 $\pm$ 6,0	86,0 $\pm$ 6,0	82,0 $\pm$ 5,0
		Częstotliwość (uderz./min.)	402,7 $\pm$ 13,1	390,1 $\pm$ 21	390,1 $\pm$ 21,0	398,0 $\pm$ 11,2
2	76	P-Q (msek)	50,0 $\pm$ 5,1	55,2 $\pm$ 5,5	55,2 $\pm$ 5,5	54,0 $\pm$ 4,2
		QRS (msek)	20,2 $\pm$ 1,8	22,3 $\pm$ 2,2	20,2 $\pm$ 1,8	20,2 $\pm$ 1,8
		Q-T (msek)	72,4 $\pm$ 5,1	78,5 $\pm$ 6,1	80,4 $\pm$ 2,3	80,4 $\pm$ 2,3
		Częstotliwość (uderz./min.)	409,2 $\pm$ 8,4	398,0 $\pm$ 15,2	398,0 $\pm$ 15,2	403,0 $\pm$ 13,1
3	70	P-Q (msek)	50,0 $\pm$ 4,8	50,0 $\pm$ 4,8	52,0 $\pm$ 6,2	50,0 $\pm$ 4,8
		QRS (msek)	18,6 $\pm$ 1,2	18,6 $\pm$ 1,2	18,6 $\pm$ 1,2	18,6 $\pm$ 1,2
		Q-T (msek)	76,4 $\pm$ 4,8	80,1 $\pm$ 5,2	80,1 $\pm$ 5,2	78,6 $\pm$ 6,1
		Częstotliwość (uderz./min.)	398,0 $\pm$ 12,2	374,0 $\pm$ 4,8	370,0 $\pm$ 5,8	380,4 $\pm$ 12,1
4	25	P-Q (msek)	46,6 $\pm$ 3,3	50,0 $\pm$ 5,8	46,6 $\pm$ 3,3	46,6 $\pm$ 3,3
		QRS (msek)	17,3 $\pm$ 1,3	20,6 $\pm$ 0,7	20,6 $\pm$ 0,7	20,6 $\pm$ 0,7
		Q-T (msek)	76,6 $\pm$ 3,3	83,3 $\pm$ 3,3	81,7 $\pm$ 1,7	83,3 $\pm$ 3,3
		Częstotliwość (uderz./min.)	401,0 $\pm$ 15,3	350,0 $\pm$ 25,0	367,0 $\pm$ 37,1	376,0 $\pm$ 13,6
5	1,75	P-Q (msek)	46,6 $\pm$ 3,3	55,0 $\pm$ 4,3	55,0 $\pm$ 4,3	55,0 $\pm$ 4,3
		QRS (msek)	16,6 $\pm$ 0,7	16,6 $\pm$ 0,7	20,3 $\pm$ 2,1	18,6 $\pm$ 0,8
		Q-T (msek)	71,6 $\pm$ 3,1	80,0 $\pm$ 4,5	80,0 $\pm$ 4,5	80,0 $\pm$ 4,5
		Częstotliwość (uderz./min.)	400,2 $\pm$ 25,9	384,2 $\pm$ 26,9	389,6 $\pm$ 23,8	384,2 $\pm$ 26,9
	2,5	P-Q (msek)	52,5 $\pm$ 4,8	55,0 $\pm$ 5,0	52,5 $\pm$ 2,5	57,5 $\pm$ 2,5
		QRS (msek)	17,0 $\pm$ 1,0	18,0 $\pm$ 1,1	17,0 $\pm$ 1,0	17,0 $\pm$ 1,0
		Q-T (msek)	65,0 $\pm$ 2,9	72,5 $\pm$ 4,8	75,0 $\pm$ 5,0	77,5 $\pm$ 2,5*
		Częstotliwość (uderz./min.)	407,7 $\pm$ 12,7	407,7 $\pm$ 12,7	408,7 $\pm$ 27,7	398,0 $\pm$ 20,3
	3,5	P-Q (msek)	50,0 $\pm$ 3,2	56,2 $\pm$ 3,2	58,0 $\pm$ 3,7	60,0 $\pm$ 4,5
		QRS (msek)	17,6 $\pm$ 0,1	17,6 $\pm$ 0,1	19,2 $\pm$ 0,8	19,2 $\pm$ 0,8
		Q-T (msek)	76,0 $\pm$ 2,4	86,0 $\pm$ 6,0	86,0 $\pm$ 6,0	94,2 $\pm$ 0,8**
		Częstotliwość (uderz./min.)	399,4 $\pm$ 21,9	375,4 $\pm$ 23,4	375,4 $\pm$ 23,4	330,4 $\pm$ 8,5*

Wyniki przedstawiają średnie $\pm$ SEM z 6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie
 znamienne w porównaniu z odpowiednim parametrem przed podaniem związku (test
 ANOVA); * $p < 0,05$; ** $p < 0,02$

Tabela 2b. Wpływ badanych pochodnych pirolidynonu-2 na elektrokardiogram szczura *in vivo*

Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg i.p.) Droga podania: dożylnie

Związek	Dawka (mg/kg)	Parametr	Czas obserwacji (min)			
			0	1	5	15
6	70	P-Q (msek)	50,0 $\pm$ 5,0	52,0 $\pm$ 6,0	52,0 $\pm$ 6,0	52,0 $\pm$ 6,0
		QRS (msek)	20,0 $\pm$ 0,8	20,0 $\pm$ 0,8	20,0 $\pm$ 0,8	20,0 $\pm$ 0,8
		Q-T (msek)	79,0 $\pm$ 4,1	82,0 $\pm$ 5,2	82,0 $\pm$ 5,2	85,0 $\pm$ 6,1
		Częstotliwość (uderz./min.)	397,0 $\pm$ 11,0	388,0 $\pm$ 9,0	388,0 $\pm$ 9,0	380,0 $\pm$ 10,2
7	28	P-Q (msek)	52,0 $\pm$ 5,0	54,0 $\pm$ 6,1	54,0 $\pm$ 6,1	54,0 $\pm$ 6,1
		QRS (msek)	19,5 $\pm$ 1,8	19,5 $\pm$ 1,8	19,5 $\pm$ 1,8	19,5 $\pm$ 1,8
		Q-T (msek)	80,0 $\pm$ 6,8	84,5 $\pm$ 5,5	84,5 $\pm$ 5,5	84,5 $\pm$ 5,5
		Częstotliwość (uderz./min.)	409,0 $\pm$ 9,4	398,0 $\pm$ 12,1	398,0 $\pm$ 12,1	403,0 $\pm$ 9,8
8	17,5	P-Q (msek)	54,0 $\pm$ 4,2	54,0 $\pm$ 5,1	54,0 $\pm$ 5,1	54,0 $\pm$ 5,1
		QRS (msek)	18,2 $\pm$ 2,2	18,2 $\pm$ 2,2	18,2 $\pm$ 2,2	18,2 $\pm$ 2,2
		Q-T (msek)	82,0 $\pm$ 4,8	84,5 $\pm$ 5,5	84,5 $\pm$ 5,5	84,5 $\pm$ 5,5
		Częstotliwość (uderz./min.)	408,0 $\pm$ 10,1	396,0 $\pm$ 11,2	398,0 $\pm$ 12,2	398,0 $\pm$ 12,2
9	25	P-Q (msek)	50,0 $\pm$ 4,9	50,0 $\pm$ 4,9	51,2 $\pm$ 5,2	51,2 $\pm$ 5,2
		QRS (msek)	17,4 $\pm$ 1,5	17,4 $\pm$ 1,5	17,4 $\pm$ 1,5	17,4 $\pm$ 1,5
		Q-T (msek)	76,5 $\pm$ 5,2	80,2 $\pm$ 5,4	80,2 $\pm$ 5,4	80,2 $\pm$ 5,4
		Częstotliwość (uderz./min.)	398,0 $\pm$ 13,0	374,0 $\pm$ 6,2	371,0 $\pm$ 6,0	370,0 $\pm$ 7,2
10	30	P-Q (msek)	48,6 $\pm$ 3,4	48,6 $\pm$ 3,4	50,0 $\pm$ 6,2	50,0 $\pm$ 6,2
		QRS (msek)	17,6 $\pm$ 2,3	17,6 $\pm$ 2,3	17,6 $\pm$ 2,3	17,6 $\pm$ 2,3
		Q-T (msek)	80,1 $\pm$ 4,2	81,7 $\pm$ 1,7	81,7 $\pm$ 1,7	81,7 $\pm$ 1,7
		Częstotliwość (uderz./min.)	401,0 $\pm$ 13,0	398,0 $\pm$ 12,0	398,0 $\pm$ 12,0	390,0 $\pm$ 10,2
11	60	P-Q (msek)	51,0 $\pm$ 5,0	52,0 $\pm$ 5,1	52,0 $\pm$ 5,1	52,0 $\pm$ 5,1
		QRS (msek)	18,1 $\pm$ 2,1	18,1 $\pm$ 2,1	18,1 $\pm$ 2,1	18,1 $\pm$ 2,1
		Q-T (msek)	78,4 $\pm$ 4,2	80,2 $\pm$ 5,4	80,2 $\pm$ 5,4	80,2 $\pm$ 5,4
		Częstotliwość (uderz./min.)	397,0 $\pm$ 10,0	381,0 $\pm$ 9,1	381,0 $\pm$ 9,1	380,0 $\pm$ 8,2
12	14,5	P-Q (msek)	53,3 $\pm$ 3,3	63,3 $\pm$ 3,3	56,7 $\pm$ 3,4	63,3 $\pm$ 3,3
		QRS (msek)	20,7 $\pm$ 0,7	20,7 $\pm$ 0,7	20,7 $\pm$ 0,7	20,7 $\pm$ 0,8
		Q-T (msek)	76,7 $\pm$ 3,4	83,3 $\pm$ 3,0	86,7 $\pm$ 3,3	83,3 $\pm$ 3,3
		Częstotliwość (uderz./min.)	401,3 $\pm$ 13,0	347,0 $\pm$ 14,0	336,0 $\pm$ 21,7	327,0 $\pm$ 29,6*

Wyniki przedstawiają średnie $\pm$ SEM z 6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie
 znamienne w porównaniu z odpowiednim parametrem przed podaniem związku (test
 ANOVA); * $p < 0,05$

Tabela 2c. Wpływ badanych pochodnych pirolidynonu-2 na elektrokardiogram szczura *in vivo*

Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg i.p.) Droga podania: dożylnie

Związek	Dawka (mg/kg)	Parametr	Czas obserwacji (min)			
			0	1	5	15
13	10	P-Q (msek)	55,0 $\pm$ 2,9	55,0 $\pm$ 2,9	55,7 $\pm$ 3,3	61,2 $\pm$ 1,2
		QRS (msek)	18,5 $\pm$ 0,5	18,5 $\pm$ 0,5	19,7 $\pm$ 0,6	20,2 $\pm$ 0,2
		Q-T (msek)	77,5 $\pm$ 2,5	83,0 $\pm$ 2,4	77,5 $\pm$ 2,5	82,7 $\pm$ 2,4
		Częstotliwość (uderz./min.)	402,0 $\pm$ 15,6	384,2 $\pm$ 20,3	360,2 $\pm$ 16,5	345,7 $\pm$ 18,0*
	20	P-Q (msek)	50,0 $\pm$ 4,1	55,0 $\pm$ 2,9	57,5 $\pm$ 7,5	62,5 $\pm$ 2,5
		QRS (msek)	17,5 $\pm$ 0,9	24,0 $\pm$ 3,5	24,0 $\pm$ 3,5	24,0 $\pm$ 3,5
		Q-T (msek)	75,0 $\pm$ 2,9	88,0 $\pm$ 2,5***	90,0 $\pm$ 0,2****	88,0 $\pm$ 2,5***
		Częstotliwość (uderz./min.)	388,5 $\pm$ 13,5	353,5 $\pm$ 8,6*	354,0 $\pm$ 12,1*	324,5 $\pm$ 4,9****
14	14	P-Q (msek)	52,5 $\pm$ 2,5	55,0 $\pm$ 2,9	55,0 $\pm$ 2,9	65 $\pm$ 2,9***
		QRS (msek)	17,0 $\pm$ 0,9	19,0 $\pm$ 0,6*	18,5 $\pm$ 0,5	19,0 $\pm$ 0,6*
		Q-T (msek)	70,0 $\pm$ 4,1	88 $\pm$ 4,8***	85,0 $\pm$ 2,9**	88 $\pm$ 2,5***
		Częstotliwość (uderz./min.)	364,5 $\pm$ 10,5	320,2 $\pm$ 22	333,2 $\pm$ 29,5	325,2 $\pm$ 23,5
15	16	P-Q (msek)	62,5 $\pm$ 2,5	65,0 $\pm$ 2,9	62,5 $\pm$ 2,5	67,5 $\pm$ 4,8
		QRS (msek)	19,5 $\pm$ 0,5	20,5 $\pm$ 0,5	20,5 $\pm$ 0,5	20,5 $\pm$ 0,5
		Q-T (msek)	75,0 $\pm$ 2,9	82,5 $\pm$ 2,5	85,0 $\pm$ 2,9*	85,0 $\pm$ 2,9*
		Częstotliwość (uderz./min.)	378 $\pm$ 19,7	343,5 $\pm$ 10,5	378 $\pm$ 19,7	359,2 $\pm$ 27,8
16	24	P-Q (msek)	55,0 $\pm$ 3,0	55,0 $\pm$ 3,0	56,0 $\pm$ 3,2	58,0 $\pm$ 3,6
		QRS (msek)	18,2 $\pm$ 0,6	18,5 $\pm$ 0,5	19,6 $\pm$ 0,7	19,6 $\pm$ 0,9
		Q-T (msek)	76,0 $\pm$ 3,0	86,0 $\pm$ 2,1*	87,0 $\pm$ 2,2*	87,0 $\pm$ 2,2*
		Częstotliwość (uderz./min.)	378 $\pm$ 20,1	343 $\pm$ 11	350 $\pm$ 19,6	351 $\pm$ 26,7
17	35	P-Q (msek)	50,2 $\pm$ 2,5	58 $\pm$ 2,5***	60 $\pm$ 0,2****	60 $\pm$ 0,2****
		QRS (msek)	19,0 $\pm$ 0,6	20,5 $\pm$ 0,5	20,5 $\pm$ 0,5	20,5 $\pm$ 0,5
		Q-T (msek)	80,2 $\pm$ 0,2	82,5 $\pm$ 2,5	82,5 $\pm$ 2,5	85,0 $\pm$ 2,9
		Częstotliwość (uderz./min.)	364,5 $\pm$ 10,5	335,2 $\pm$ 15,4	367,5 $\pm$ 22,8	335,2 $\pm$ 15,4
18	29	P-Q (msek)	54,2 $\pm$ 3,4	58,6 $\pm$ 3,3	58,6 $\pm$ 3,5	59,1 $\pm$ 3,8
		QRS (msek)	20,7 $\pm$ 0,8	20,7 $\pm$ 0,8	20,7 $\pm$ 0,8	21,1 $\pm$ 0,9
		Q-T (msek)	80,0 $\pm$ 2,4	83,3 $\pm$ 4,2	83,3 $\pm$ 4,2	83,3 $\pm$ 4,2
		Częstotliwość (uderz./min.)	404 $\pm$ 12	376 $\pm$ 15	366 $\pm$ 24	366 $\pm$ 24

Wyniki przedstawiają średnie $\pm$ SEM z 6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie
 znamienna w porównaniu z odpowiednim parametrem przed podaniem związku (test
 ANOVA); * $p < 0,05$; ** $p < 0,02$; *** $p < 0,01$; **** $p < 0,001$

Tabela 2d. Wpływ związku odniesienia MG-1 na elektrokardiogram szczura *in vivo*

Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg i.p.) Droga podania: dożylnie

Związek	Dawka (mg/kg)	Parametr	Czas obserwacji (min)			
			0	1	5	15
MG-1	16	P-Q (msek)	43,0 $\pm$ 0,2	60,0 $\pm$ 0,1	60,0 $\pm$ 0,0**	60,0 $\pm$ 0,0
		QRS (msek)	18,0 $\pm$ 0,1	19,0 $\pm$ 0,1	19,0 $\pm$ 0,1	20,0 $\pm$ 0,1
		Q-T (msek)	60,0 $\pm$ 0,1	60,0 $\pm$ 0,0	60,0 $\pm$ 0,0	73,0 $\pm$ 0,2
		Częstotliwość (uderz./min.)	400,0 $\pm$ 10	400,0 $\pm$ 10	340,0 $\pm$ 10**	340,0 $\pm$ 10**

Wyniki przedstawiają średnie $\pm$ SEM z 6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie
 znamienne w porównaniu z odpowiednim parametrem przed podaniem związku (test
 ANOVA); **p<0,02

Ad.2.3. Profilaktyczna aktywność przeciwaritmiczna w modelu arytmii:

a) adrenalinojowej

Z przebadanych związków jedynie siedem związków, a mianowicie 5, 12, 13, 15, 16, 17 i 18, podanych dożylnie na 15 minut przed arytmogেনem, zmniejszało objawy arytmii wywołanej u szczura podaniem adrenaliny (Ryc.1).

Związek 5 podany w dawce 1,75; 2,5 i 3,5 mg/kg i.v., zmniejszał arytmie adrenalinojową w stosunku do kontroli odpowiednio o 34, 50 i 67% oraz śmiertelność zwierząt (o 50-34%). Wartość ED_{50} = 2,5 (2,25-2,8) mg/kg, a IT = 23,6 (Tab.3a).

Związek 12 w dawce 8,5 i 13 mg/kg, chronił 33 i 67% zwierząt przed wystąpieniem przedwczesnych nadkomorowych i komorowych pobudzeń, a podany w dawce 17 mg/kg zapobiegał wystąpieniu arytmii adrenalinojowej u 83% zwierząt. Ponadto we wszystkich badanych dawkach obserwowano zmniejszenie śmiertelności w granicach 50%. Wartość ED_{50} = 12 (9,7-14,8) mg/kg, IT = 12,1 (Tab.3a).

Związek 13, podany w dawce 5, 10 i 20 mg/kg, zapobiegał ekstrasystolom odpowiednio u 17, 33 i 67% zwierząt oraz zmniejszał śmiertelność w granicach 34-50%. ED_{50} = 13,5 (7,9-22,9), IT = 7,6 (Tab.3a).

Związek 15, podany w dawce 1, 2 i 4 mg/kg, zapobiegał pobudzeniom przedwczesnym odpowiednio u 17, 50 i 67% zwierząt oraz zmniejszał śmiertelność w granicach 34-50%. Natomiast w dawce 8 mg/kg, w porównaniu z grupą kontrolną, zabezpieczał odpowiednio 83% i 50% zwierząt przed wystąpieniem arytmii ED_{50} = 2,7 (1,95-3,7); IT = 29,6 (Tab.3a).

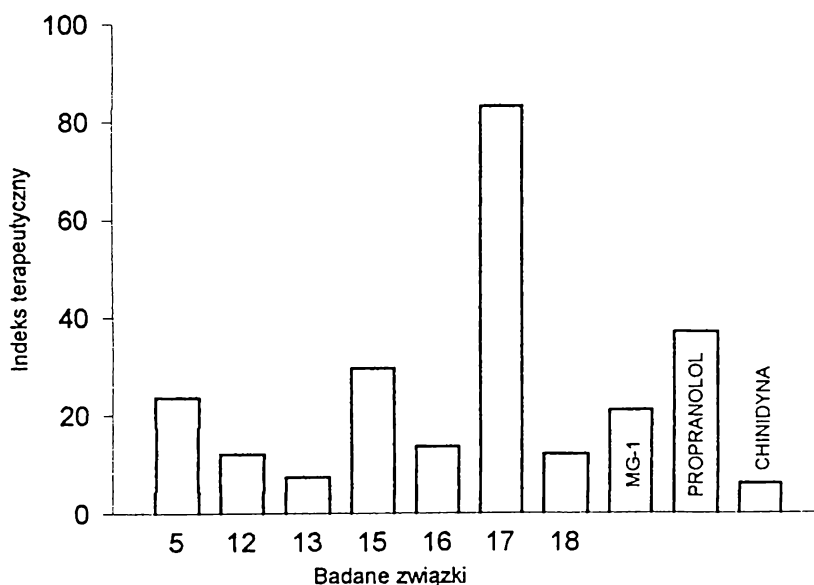
Związek 16, podany w dawce 3, 6, 12 i 24 mg/kg zmniejszał proporcjonalnie do użytej dawki zaburzenia poadrenalinojowe w granicach 16-83%, co prowadziło do obniżenia śmiertelności zwierząt w grupie badanej o 51-67%. ED_{50} = 8,8 (4,9 - 15,9); IT = 13,6 (Tab.3a).

Związek 17, podany w dawkach niższych (2,2-4,4 mg/kg) chronił 17 i 50% zwierząt przed wystąpieniem ekstrasystoli, a w dawkach wyższych (8,75-17,5 mg/kg) zabezpieczał 83% zwierząt przed ich wystąpieniem oraz zmniejszał śmiertelność w granicach 34-50%. Wartość ED_{50} = 4,2 (2,5-6,9); IT = 83,3 (Tab.3a).

Związek 18, podany w dawce 7,25; 14,5 i 29 mg/kg, zmniejszał arytmie w stosunku do kontroli o 17, 67 i 67% oraz zmniejszał śmiertelność w granicach 51-67%. ED_{50} = 12 (9,1-24,7); IT = 12,1.

Związek odniesienia MG-1, podany w dawce 6,4; 7 i 8,6 mg/kg zapobiegał wystąpieniu zaburzeń poadrenalinowych odpowiednio u około 17, 33 i 71% zwierząt. ED_{50} = 7,6 (6,9-8,4); (Tab.3b).

Pozostałe badane związki nie wykazały znamiennej efektu przeciwaritmicznego w tym modelu arytmii (Tab.3c).



Ryc.1 Porównanie indeksów terapeutycznych badanych związków w modelu arytmii adrenergicznej u szczura po podaniu dożylnym

Tabela 3a. Profilaktyczne działanie przeciwartymiczne badanych pochodnych pirolidynonu-2

Droga podania: dożylnie Arytmogen: adrenalina - 20 µg/kg i.v.
 Czas podania związków: 15 minut przed arytmogenem.
 Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg i.p.)

Związek	Dawka (mg/kg)	% zapobiegania arytmii	ED ₅₀ (mg/kg)	Indeks terapeutyczny	% zmniejszenia śmiertelności
5	1,75	34	2,5 (2,25-2,8)	23,6	50
	2,5	50			50
	3,5	67			34
12	8,5	33	12 (9,7-14,8)	12,1	50
	13	67			50
	17	83			50
13	5	17	13,5 (7,9-22,9)	7,4	50
	10	33			34
	20	67			50
15	1	17	2,7 (1,95-3,7)	29,6	34
	2	50			50
	4	67			50
	8	83			50
16	3	16	8,8 (4,9-15,9)	13,6	51
	6	33			67
	12	67			67
	24	83			67
17	2,2	17	4,2 (2,5-6,9)	83,3	34
	4,4	50			50
	8,75	83			50
18	7,25	17	12 (9,1-24,7)	12,1	51
	14,5	67			67
	29	67			67

Tabela 3b. Profilaktyczne działanie przeciwaritmiczne związków odniesienia

Droga podania: dożylnie Arytmogen: adrenalina - 20 $\mu\text{g/kg}$ i.v.
 Czas podania związków: 15 minut przed arytmogenem.
 Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg i.p.)

Związek	Dawka (mg/kg)	% zapobiegania arytmii	ED ₅₀ (mg/kg)	Indeks terapeutyczny
MG-1	6,4	16,7	7,6 (6,9-8,4)	21
	7	33,3		
	8,6	71,4		
Propranolol	0,5	0	1,05(0,64-1,73)	37
	1,0	50		
	1,5	66,7		
Chinidyna	8	33,3	8,7 (8,0-9,4)	6
	9,5	66,7		
	11	100		

Tabela 3c. Profilaktyczne działanie przeciwartmiczne badanych pochodnych pirolidynonu-2

Droga podania: dożylnie Arytmogen: adrenalina - 20 $\mu\text{g/kg}$ i.v.

Czas podania związków: 15 minut przed arytmogenem.

Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg i.p.)

Związek	Dawka (mg/kg)	% zapobiegania arytmii	% zapobiegania śmiertelności
1	12	17	0
	24	17	17
2	38	34	0
	76	0	3
3	35,5	43	7
	70	0	7
4	12,5	10	7
	19	10	24
	25	26	24
6	35	33	0
	70	43	0
7	14	0	33
	28	17	50
8	17,5	50	0
	35	33	33
9	12,5	17	33
	25	17	0
10	15	50	33
	30	50	16
11	30	0	16
	60	17	33
14	7	50	0
	14	40	0

b) barowej

W modelu arytmii barowej u szczura aktywność przeciwarrytmiczną wykazały związki: 5, 12, 15 i 17 (Tab.4a), (Ryc.2).

Tabela 4a. Aktywność przeciwarrytmiczna badanych pochodnych pirolidynonu-2 w modelu arytmii barowej

Zwierzę: szczur Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg, i.p.)
 Droga podania : dożylnie Arytmogen: BaCl₂ - 32 mg/kg i.v.
 Czas podania: 15 minut przed arytmogenem

Związek	Dawka (mg/kg)	% zmniejszenia arytmii	ED ₅₀ mg/kg	Indeks terapeutyczny	% zmniejszenia śmiertelności
5	1,75	0	2,9 (2,4-3,5)	20,3	66
	2,5	33			66
	3,5	66			66
12	8,5	33	11 (7,9-15,3)	13,2	50
	13	67			67
	17	67			67
15	4	17	7,1 (4,7-10,6)	11,3	50
	8	67			67
	16	83			87
17	8,75	33	17,5 (10,3-29,7)	20	67
	17,5	50			83
	35	67			83
MG-1	10		11,3 (6,45-19,2)	14	
	12,5				
	25				

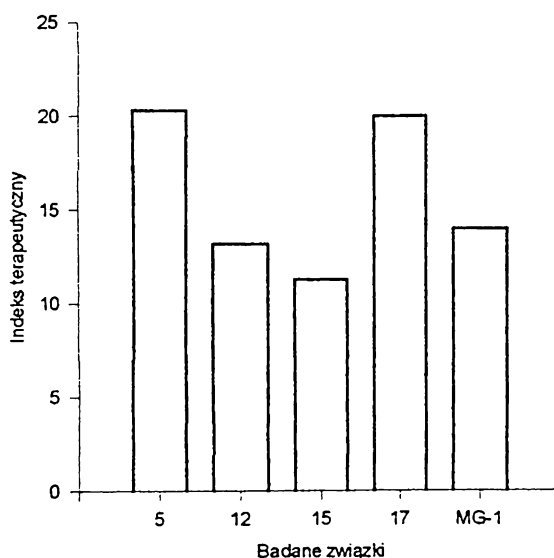
Związek 5, podany dożylnie, w dawce 1,75 mg/kg nie zapobiegał fibrylacji komorowej, natomiast chronił 66% zwierząt przed śmiercią. W dawkach wyższych (2,5 i 3,5 mg/kg) zapobiegał arytmii u 33 i 66% zwierząt oraz podobnie jak w dawce 1,75 mg/kg chronił je w 66% przed śmiercią ($ED_{50} = 2,9$ (2,4-3,5); $IT = 20,3$).

Związek 12, podany dożylnie, w dawce 8,5; 13 i 17 mg/kg zapobiegał arytmii barowej odpowiednio u 33, 67 i 67% zwierząt oraz zmniejszał śmiertelność w granicach 50-67%. $ED_{50} = 11$ (7,9-15,3) mg/kg; $IT=13,2$.

Związek 15, w dawce 4, 8 i 16 mg/kg zabezpieczał przed wystąpieniem niemiarowości wywołanych podaniem $BaCl_2$ 17, 67 i 83% zwierząt, co prowadziło do obniżenia śmiertelności w grupie badanej o 50-87%. Wartość $ED_{50} = 7,1$ (4,7-10,6); $IT = 11,3$.

Związek 17 w dawce 8,75; 17,5 i 25 mg/kg zmniejszał zaburzenia w stosunku do kontroli o 33, 50 i 67% oraz śmiertelność o 67-83%. ($ED_{50} = 17,5$ (10,3-29,7); $IT = 20$), (Tab.4a).

Pozostałe badane związki nie wykazały istotnego działania w tym modelu arytmii (Tab.4b)



Ryc.2 Porównanie indeksów terapeutycznych badanych związków w modelu arytmii barowej

Tabela 4b. Profilaktyczna aktywność przeciwaritmiczna badanych pochodnych
pirolidynonu-2 w modelu arytmii barowej

Zwierzę: szczur Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg, i.p.)

Droga podania: dożylnie Arytmogen: BaCl₂ - 32 mg/kg i.v.

Czas podania: 15 min. przed arytmogenem

Związek	Dawka (mg/kg)	% zmniejszenia arytmii	% zmniejszenia śmiertelności
1	12	0	0
	24	0	0
2	38	0	0
	76	0	17
3	35,5	17	33
	70	17	50
4	12,5	0	33
	25	16	50
6	35	33	66
	70	33	66
7	14	0	33
	28	0	49
8	17,5	33	49
	35	33	49
9	12,5	33	33
	25	33	49
10	15	33	49
	30	33	49
11	30	33	66
	60	33	66
13	10	17	67
	20	33	67
14	7	0	17
	14	17	33
16	12	16	34
	24	33	67
18	14,5	0	34
	29	33	51

Ad.2.4. Wpływ na ciśnienie tętnicze krwi

Z przebadanych związków jedynie związki 12, 13, 15, 16 i 17, podane w zakresie dawek 1/40-1/10 LD₅₀ i.v., wykazały istotne działanie hipotensyjne (Tab.5a,b,c), (Ryc.3a,b).

Związek 12 podany w dawce 1/40 LD₅₀ (3,6 mg/kg) w czasie godzinnej obserwacji obniżał ciśnienie skurczowe o około 39-19 mmHg (30,7-17,3 %), a ciśnienie rozkurczowe o około 44-15,5 mmHg (41,4-19,5%), przy czym obserwowane spadki ciśnienia skurczowego i rozkurczowego były statystycznie istotne do 10-20 min. obserwacji. W dawce wyższej, wynoszącej 1/20 LD₅₀ (7,25 mg/kg) obserwowane spadki ciśnienia skurczowego wahały się w granicach 62 - 29 mmHg (spadek o 44-21%), a rozkurczowego w granicach 63 - 30 mmHg (spadek o 51-21,4%) i były istotne przez cały okres obserwacji tzn. przez 1 godzinę. Podanie dawki odpowiadającej 1/10 LD₅₀ (14,5 mg/kg) nie prowadziło do nasilenia spadku ciśnienia skurczowego (53,6-27 mmHg) ani rozkurczowego (58-31 mmHg).

Tabela 5a. Wpływ badanych pochodnych pirolidynonu-2 na ciśnienie skurczowe i rozkurczowe u normotensyjnego szczura w znieczuleniu ogólnym

Droga podania: dożylnie			Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg i.p.)								
Związek	Dawka mg/kg	Ciśnienie (mm Hg)	Czas obserwacji (min)								
			0	1	5	10	20	30	40	50	60
12	3,6	skurczowe	128 ±4,1	88,7 ±5,8 *****	96,6 ±7,8 *****	98,6 ±7,3 ***	105,7 ±7,8 *	109 ±8,5	109,3 ±8,2	104,5 ±9,5	105,8 ±10,8
		rozkurczowe	106,6 ±5,3	62,4 ±5,8 *****	77,3 ±7,4 **	78,8 ±7,3 **	86,6 ±7,8	91,1 ±8,6	90,6 ±8,8	81,8 ±9,7 *	85,8 ±11,2
	7,25	skurczowe	140,4 ±4,7	87,8 ±9,8 *****	95,4 ±2,9 *****	100,8 ±4,4 *****	107,6 ±5,8 *****	112,2 ±7,1 ***	109,5 ±10,4 ***	111 ±10,1 ***	111,5 ±10,3 ***
		rozkurczowe	123,2 ±7,9	70,4 ±11,5 *****	81 ±4,2 *****	85,4 ±4,8 *****	91,4 ±6,9 ***	91,8 ±7,7 ***	91,7 ±11,5 ***	92,5 ±9,9 ***	93 ±10,2 ***
	14,5	skurczowe	134,8 ±6,6	89,6 ±7 *****	88 ±9,1 *****	94,4 ±6,3 *****	99,2 ±5,1 *****	98,5 ±6,7 ***	101,5 ±7,7 ***	107 ±6,4 **	107,5 ±6,5 **
		rozkurczowe	114 ±8,1	65,8 ±11,2 *****	67 ±8,6 *****	72,4 ±9 ***	81 ±7,1 ***	74,7 ±8,3 ***	79,2 ±9,8 ***	82,2 ±8,3 **	83 ±8,7 **

Wyniki: średnie ± SEM z 6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie istotna w porównaniu z ciśnieniem przed podaniem związku (test ANOVA); * p<0,05; ** p<0,02; *** p<0,01; ****p<0,001

Tabela 5b. Wpływ badanych związków na ciśnienie skurczowe i rozkurczowe u normotensyjnego szczura w znieczuleniu ogólnym

Droga podania: dożylnie

Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg, i.p.)

Związek	Dawka mg/kg	Ciśnienie (mm Hg)	Czas obserwacji (min)								
			0	1	5	10	20	30	40	50	60
13	10	skurczowe	134,3 ±6,6	113,3 ±2,2 ****	120 ±1,1 **	121,7 ±2,2 *	120 ±5,5 **	127,3 ±4,6	124,6 ±3,2	122,2 ±4,4 *	124,3 ±4,4
		rozkurczowe	116,3 ±1,4	93,4 ±8,9 ***	100 ±3,5 *	98,7 ±4,4 *	92,3 ±9,7 **	96,7 ±3,7 **	97,3 ±3,8 *	92 ±3 **	93,7 ±3,7 **
15	8	skurczowe	140,3 ±10,3	101 ±11,5 ***	112,7 ±8,1 *	118 ±8,4	123,3 ±7,1	125,3 ±6,4	125 ±4,5	127,7 ±3,8	127 ±4
		rozkurczowe	113,3 ±9,9	78 ±7,8 ***	87,7 ±8,4 *	93,3 ±9,3	99,7 ±7,6	100,3 ±8,1	101,7 ±6,8	103,3 ±5,8	102,7 ±6,2

Wyniki: średnie ± SEM z 6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie znamienne w porównaniu z ciśnieniem przed podaniem związku (test ANOVA); * $p < 0,05$; ** $p < 0,02$; *** $p < 0,01$; **** $p < 0,001$

Związek 13 podany dopiero w dawce odpowiadającej 1/10 LD₅₀ (10 mg/kg) obniżał znamienne ciśnienie skurczowe o 21-10 mmHg (15,6-7,4%) do 50 min. obserwacji, a ciśnienie rozkurczowe o 24-23 mmHg (20,9 -19,4) do 60 min. obserwacji.

Związek 15, podany w analogicznej dawce (1/10 LD₅₀), obniżał ciśnienie skurczowe o 39-13 mmHg (28-9,5%) i rozkurczowe o 35-11 mmHg (31-9,3%), przy czym obserwowane spadki ciśnienia skurczowego i rozkurczowego były znamienne tylko w czasie pierwszych 5 minut obserwacji.

Tabela 5c. Wpływ badanych związków na ciśnienie skurczowe i rozkurczowe u normotensyjnego szczura w znieczuleniu ogólnym

Droga podania: dożylnie

Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg, i.p.)

Związek	Dawka mg/kg	Ciśnienie (mm Hg)	Czas obserwacji (min)								
			0	1	5	10	20	30	40	50	60
16	12	skurczowe	136,3 ±3,4	104,3 ±6,8 ***	103,7 ±12 ***	99 ±8 ****	120 ±2,3	121,3 ±2,6	125 ±2,3	127,7 ±4,3	129,6 ±3,5
		rozkurczowe	112 ±5,3	81 ±9,5 ***	78,7 ±13,9 ***	76 ±9,1 ***	92,3 ±4,1	95 ±3,2	100 ±2,3	102 ±4,2	103,3 ±4,4
17	8,75	skurczowe	135,7 ±3,1	97 ±7,4 ****	110 ±3,7 ****	112 ±3,6 ***	118,2 ±4,6 **	119,2 ±4,5 *	119,2 ±4,2 *	121,7 ±5,2	122,2 ±5
		rozkurczowe	114,7 ±4,1	78,2 ±10,2 ****	91,5 ±6,9 *	93,5 ±6,4 *	97,2 ±4,1	98 ±4,5	96,5 ±4,4 *	102,5 ±3,7	103,7 ±4,6
	17,5	skurczowe	146,7 ±0,9	81,7 ±6,1 ****	100,7 ±4,8 ****	99,5 ±5,4 ****	107 ±7 ****	106 ±7 ****	107 ±8,4 ****	105,7 ±6,4 ****	110,5 ±10,4 ****
		rozkurczowe	129,5 ±4,3	61,5 ±1,8 ****	80,2 ±2,6 ****	81,2 ±4 ****	86 ±5,9 ****	85 ±6 ****	84,2 ±6,7 ****	81,5 ±4,6 ****	91,5 ±9 ****

Wyniki: średnie ± SEM z 6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie znamienna w porównaniu z ciśnieniem przed podaniem związku (test ANOVA); *p<0,05; **p<0,02; ***p<0,01; **** p<0,001

Związek 16 podany w dawce 1/10 LD₅₀ (12 mg/kg) obniżał ciśnienie skurczowe o 42,6-6,7 mmHg (31,2-4,9%) i rozkurczowe o 36,3-8,7 mmHg (32,4-7,7%), przy czym znamienny efekt hipotensyjny utrzymywał się tylko przez 10 - 15 minut.

Związek 17 podany w dawce 1/40 LD₅₀ (8,75 mg/kg), w czasie 60 minut obserwacji obniżał ciśnienie skurczowe o 39-13 mmHg (28,5-9,9%) i rozkurczowe o 36-8 mmHg (31,8 -9,6%), przy czym statystycznie znamienne spadki ciśnienia występowały do 40 minuty obserwacji. Podanie dawki wyższej (1/20 LD₅₀) prowadziło do znamiennego spadku ciśnienia skurczowego o 65-36 mmHg (44,3-24,7%) i rozkurczowego o 68 -38 mmHg (52,4-29,3%) w czasie całego okresu obserwacji.

Pozostałe związki wykazały słaby, nieistotny statystycznie, efekt hipotensyjny (Tab.5d,e).

Tabela 5d. Wpływ badanych związków na ciśnienie skurczowe i rozkurczowe u normotensyjnego szczura w znieczuleniu ogólnym

Droga podania: dożylnie

Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg, i.p.)

Związek	Dawka mg/kg	Ciśnienie (mm Hg)	Czas obserwacji (min)								
			0	1	5	10	20	30	40	50	60
1	12	skurczowe	140 ±6,6	129 ±5,8	134 ±2,5	137 ±6,2	133,7 ±6,6	131,7 ±6	136 ±2,3	134 ±3,2	135,3 ±2,1
		rozkurczowe	121 ±2,1	106,7 ±5,9	107,7 ±4,8	102,7 ±19,3	113,3 ±10,9	109 ±8,9	108 ±5,7	113 ±7,2	112,7 ±7,5
2	38	skurczowe	148,3 ±4,9	144,3 ±6,3	148 ±7	149,7 ±7,2	134,7 ±4	147 ±6,6	136 ±6,4	134 ±10,8	134 ±8,5
		rozkurczowe	120,3 ±1,4	115,7 ±1,8	117,3 ±1,4	116,7 ±1,2	106,3 ±7,6*	117,6 ±4,2	106,7 ±3,7*	103,7 ±6,3*	108,7 ±6,3*
3	35	skurczowe	141,3 ±5,2	133,7 ±7,1	142 ±4,6	148 ±3,8	148,3 ±2,4	136,7 ±4,9	144 ±3	145,3 ±5,5	145 ±5,8
		rozkurczowe	120,3 ±2	115,3 ±0,9	117,7 ±0,7	125 ±6	123,7 ±7,2	112,7 ±13	121 ±5	118 ±2,1	120 ±3,8
4	12,5	skurczowe	152,7 ±8,2	144,7 ±7,5	155,3 ±6,2	142,7 ±17,4	145,7 ±10,6	153 ±2,1	143,3 ±10,8	143 ±11,5	145,7 ±8,9
		rozkurczowe	119,3 ±7,7	115 ±8,6	120 ±10,6	111 ±19,5	111,3 ±9,3	121,3 ±2,3	105,7 ±14,7	107,7 ±13,5	115,7 ±5,8
5	3,5	skurczowe	127,4 ±7,1	123 ±19,5	124,2 ±7,3	116 ±5,4	119 ±3,8	121,8 ±8,3	119,4 ±3,7	119,6 ±3,3	119,4 ±4,4
		rozkurczowe	109,8 ±7,3	100,2 ±15,1	100,2 ±6,1	93 ±7,5	98,6 ±4,7	101,6 ±7	96,2 ±7	97,4 ±6,6	100,4 ±5,8
6	34	skurczowe	142,3 ±5,1	134,8 ±8,1	139 ±7,1	138,2 ±4,2	140 ±5,1	142 ±6,2	143 ±8,2	142 ±4,2	142 ±4,2
		rozkurczowe	120,3 ±2,1	116,4 ±1,2	118,1 ±6,2	117,4 ±5,4	118,4 ±6,8	119,1 ±7,4	120 ±9,1	118 ±5,1	118 ±5,1
7	14	skurczowe	133,7 ±3,9	129 ±5,8	131,7 ±4,2	133,7 ±6,6	134 ±3,3	136 ±2,5	136 ±2,5	131,7 ±6,4	131,7 ±6,4
		rozkurczowe	114 ±9,8	106,8 ±6	109 ±8	113,3 ±10,9	113 ±7,1	108 ±5,7	108 ±5,7	113,3 ±9,8	113,3 ±9,8

Wyniki: średnie ± SEM z 6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie znamienne w porównaniu z ciśnieniem przed podaniem związku (test ANOVA); * p<0,05

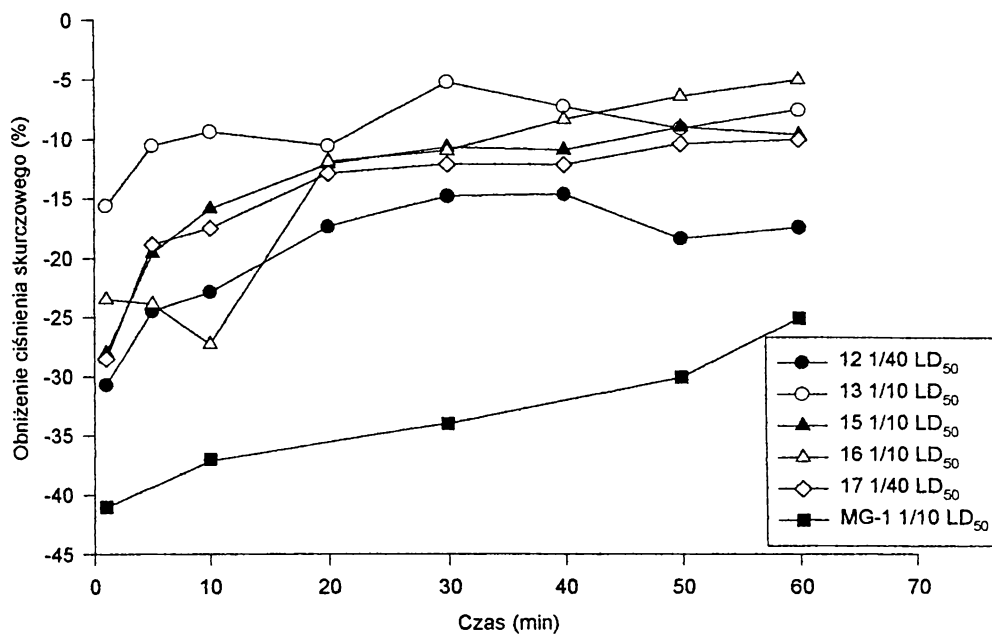
Tabela 5e. Wpływ badanych związków na ciśnienie skurczowe i rozkurczowe u normotensyjnego szczura w znieczuleniu ogólnym

Droga podania: dożylnie

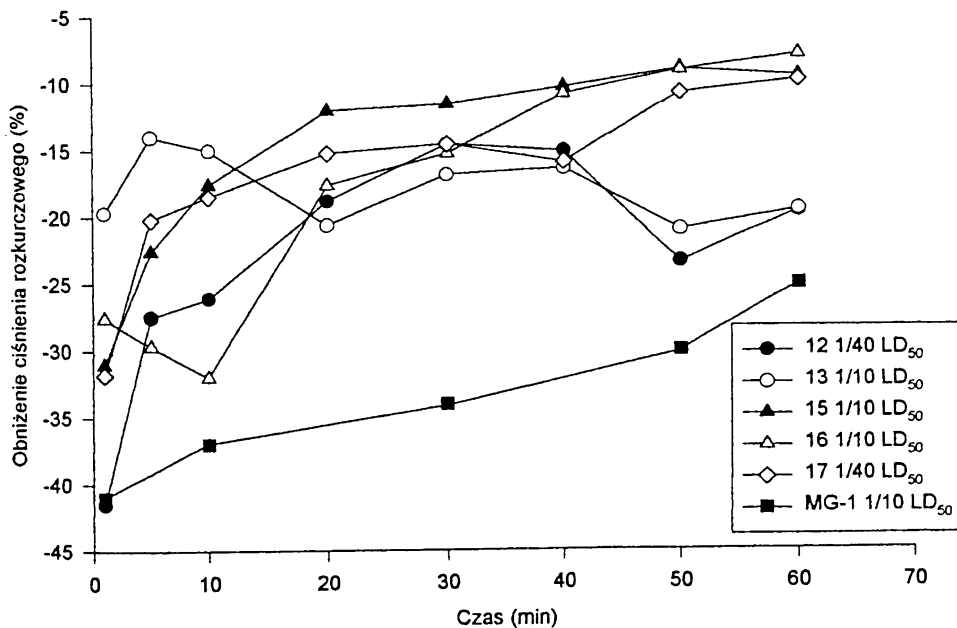
Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg, i.p.)

Związek	Dawka mg/kg	Ciśnienie (mm Hg)	Czas obserwacji (min)								
			0	1	5	10	20	30	40	50	60
8	17,5	skurczowe	141 ±10,1	136,6 ±9,5	139,5 ±4,3	136,1 ±6,9	136,2 ±4,5	137,5 ±7,1	136,2 ±4,5	136 ±6,9	136 ±6,9
		rozkurczowe	108,2 ±8,2	103,2 ±7	110,7 ±3,1	108,2 ±4,7	107,5 ±3,1	109,8 ±4	107,5 ±3,7	108,2 ±4,7	108,2 ±4,7
9	12,4	skurczowe	140 ±9,8	137,5 ±7,1	136,1 ±6,9	136,1 ±6,9	136 ±6,8	136 ±6,8	141 ±2,6	141,3 ±4	141,3 ±4
		rozkurczowe	108 ±8,1	109,6 ±4,2	108,2 ±4,7	108,2 ±4,7	108,2 ±4,7	108,2 ±4,7	110,3 ±6,5	110 ±6,1	110 ±6,1
10	15	skurczowe	138,7 ±9,3	161,7 ±14,3	129,2 ±9,9	137,5 ±7,2	132,7 ±9,8	139,5 ±4,3	136 ±6,8	136,2 ±4,5	135,5 ±4,3
		rozkurczowe	112,7 ±7,9	127 ±10,8	102,2 ±6,1	109,7 ±4	105,2 ±8,6	110,7 ±3,1	108,2 ±4,7	107,5 ±3,1	107 ±2,9
11	31	skurczowe	161,3 ±6	143 ±4	144,6 ±4,7	150 ±9,2	150,3 ±6,9	141,3 ±14,2	156,3 ±10,1	153,6 ±7,3	151 ±5,2
		rozkurczowe	131 ±6,2	109,7 ±6,9	109 ±3,5	106 ±18,4	118 ±4,5	97,3 ±18**	121,3 ±6,5	121,7 ±9,3	118,3 ±5,6
14	7,1	skurczowe	128,6 ±4,4	109,8 ±11,3	120 ±9,8	118 ±7,1	120,6 ±4,8	122,4 ±5,7	119,4 ±6,4	115,2 ±6	117,2 ±6,5
		rozkurczowe	105,2 ±4,4	84,8 ±11,7	98,2 ±8	96 ±7,9	99,6 ±5,7	100,2 ±7,3	96,2 ±8,3	91,8 ±8,3	92 ±8,8
18	14,5	skurczowe	135,4 ±8,2	123 ±5,1	123 ±7,2	120 ±8,4	120 ±4,2	122 ±8,2	119,3 ±3,8	120 ±3,4	119,2 ±8,2
		rozkurczowe	105 ±8,2	98 ±8,4	100,6 ±6,3	92 ±8,2	98 ±7,4	100 ±8,4	102 ±10,2	100 ±11,1	103 ±12,1

Wyniki: średnie ± SEM z 6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie znamienna w porównaniu z ciśnieniem przed podaniem związku (test ANOVA); ** p<0,02



Ryc.3a Wpływ badanych związków na ciśnienie skurczowe u szczura



Ryc.3b Wpływ badanych związków na ciśnienie rozkurczowe u szczura

Przeprowadzone wstępne badania farmakologiczne doprowadziły do wyselekcjonowania siedmiu związków wykazujących przy podaniu dożylnym znamienne działanie przeciwartymiczne w modelu arytmii adrenergicznej i/lub barowej u szczura (zw. 5, 12, 13, 15, 16, 17 i 18) oraz pięć związków (zw. 12, 13, 15, 16 i 17) obniżających znamienne ciśnienie skurczowe i rozkurczowe u normotensyjnego, znieczulonego szczura.

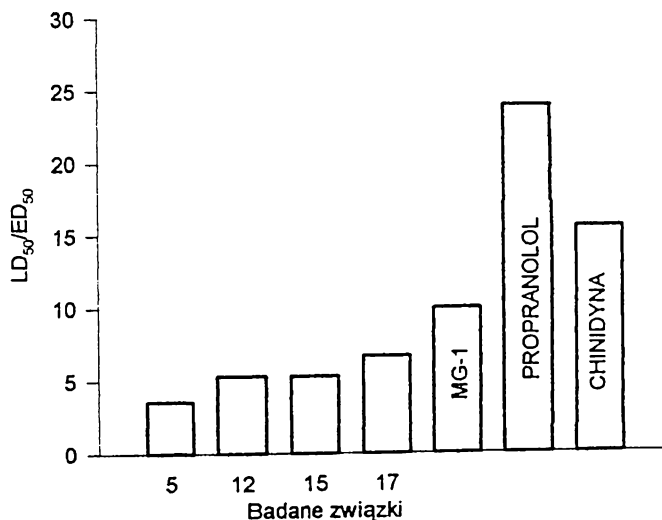
Wyselekcjonowane związki stały się przedmiotem poszerzonych badań farmakologicznych.

AD. 3. POSZERZONE BADANIA FARMAKOLOGICZNE

Ad.3.1. Profilaktyczne działanie przeciwartymiczne po podaniu dożołądkowym w modelu arytmii:

a) adrenergicznej

Badane związki podawano dożołądkowo, w zakresie dawek $1/20-1/5 LD_{50p.o.}$, na 1 godz. przed arytmogenezą. Obserwowane działanie pojawiało się po 30 min od podania i zanikało po 2 godz. (Tab.6, Ryc.4)



Ryc.4 Porównanie indeksów terapeutycznych w modelu arytmii adrenergicznej po podaniu dożołądkowym

Tabela 6. Działanie przeciwaritmiczne badanych związków w modelu arytmii adrenaliny

Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg, i.p.) Droga podania: dożołądkowo
 Arytmogen: adrenalina (20 µg/kg, i.v.) Czas podania arytmogenu: 1 godz. po
 podaniu związku

Związek	Dawka (mg/kg)	% zmniejszenia arytmii	ED ₅₀ (mg/kg)	Indeks terapeutyczny	% zmniejszenia śmiertelności
5	60	17	170 (100-289)	3,53	34
	120	34			34
	240	67			50
12	40	7,5	151 (75,9-300,5)	5,3	0
	80	20,5			42
	160	54			75
13	59,5	0			42
	119	37,5			75
15	17,4	7,5	65,5 (32,5-132)	5,3	15
	34,8	20,5			75
	69,6	54,5			75
16	40	4,5			25
	80	37,5			58
17	36,7	4,5	110 (68,3-177)	6,7	59
	73,3	20,5			59
	147	71,5			75
18	70	21,5			41
	140	37,5			59
MG-1	14,5	16	29 (21,3-39,4)	10	
	29	52			
	58	67			
Propranolol	10	34	19,5 (14,5-26,1)	24	
	20	50			
	30	67			
Chinidyna	20	33	38 (33,6-42,9)	15,6	
	40	49			
	60	67			

Związek 5, podany w dawkach 60, 120 i 240 mg/kg p.o., zmniejszał arytmie poadrenalinową w stosunku do kontroli o 17, 34 i 67%, jak również zmniejszał śmiertelność zwierząt w granicach 34-50% ($ED_{50} = 170$ (100-289) mg/kg); $IT = 3,53$ (Tab.6).

Związek 12, podany w dawkach 40, 80 i 160 mg/kg p.o., zapobiegał arytmii odpowiednio u 7,5; 20,5 i 54% zwierząt oraz w dawkach wyższych ($1/10$ i $1/5$ $LD_{50p.o.}$) zmniejszał śmiertelność w granicach 42-75% ($ED_{50} = 151$ (75,9-300,5) mg/kg); $IT = 5,3$.

Związek 13 w dawce $1/10$ $LD_{50p.o.}$ (59,5 mg/kg) nie zabezpieczał zwierząt przed wystąpieniem zaburzeń poadrenalinowych, a w dawce wyższej (119 mg/kg; $1/5$ $LD_{50p.o.}$) chronił około 37% zwierząt przed arytmią oraz zmniejszał śmiertelność zwierząt (o ok. 75%). Wartość ED_{50} ze względu na słabą aktywność niemożliwa do obliczenia.

Związek 15 podany w zakresie dawek 17,4-69,6 mg/kg ($1/20$ - $1/5$ LD_{50}) zapobiegał arytmii u 7,5-54,5% oraz zmniejszał śmiertelność zwierząt w granicach 15-75%; $ED_{50} = 65,5$ (32,5-132); $IT = 5,3$.

Związek 16, podany w zakresie dawek 40-80 mg/kg ($1/10$ - $1/5$ $LD_{50p.o.}$), hamował zaburzenia poadrenalinowe jedynie u około 4,5-37,5% oraz zmniejszał śmiertelność w granicach 25-58%.

Związek 17 podany w dawkach niższych tj. $1/20$ i $1/10$ $LD_{50p.o.}$ (36,7 i 73,3 mg/kg) zabezpieczał jedynie 4,5 i 20,5% zwierząt przed arytmią, natomiast podany w dawce 147 mg/kg chronił około 71% zwierząt przed wystąpieniem niemiaryowości indukowanych adrenaliną oraz zmniejszał śmiertelność zwierząt w porównaniu do grupy kontrolnej o 59-75%. $ED_{50} = 110$ (68,3-177); $IT = 6,7$.

Związek 18, podany w zakresie dawek 70-140 mg/kg ($1/10$ - $1/5$ $LD_{50p.o.}$), wykazał słaby efekt przeciwarytmiczny w granicach 21,5-37,5% (ED_{50} niemożliwe do obliczenia).

b) barowej

Z przebadanych 7 związków jedynie dwa, a mianowicie 5 i 18 podane dożołądkowo na 1 godz. przed chlorkiem baru wykazały istotną aktywność przeciwaritmiczną (Tab 7).

Związek 5 podany w dawkach 120 i 240 mg/kg (1/10 - 1/5 $LD_{50p.o.}$), w porównaniu do kontroli, zmniejszał niemiarowość odpowiednio u 50 i 66% zwierząt oraz obniżał śmiertelności o 33 i 66% ($ED_{50} = 145$ (85,3-246,5); $IT = 4,1$).

Związek 18 natomiast, w dawkach 70 i 140 mg/kg (1/10 i 1/5 $LD_{50p.o.}$), zmniejszał arytmie o 17 i 50% oraz śmiertelność o 50%. Podanie dawki wyższej niż 140 mg/kg prowadziło do wystąpienia zaburzeń rytmu pracy serca i śmierci szczura (ED_{50} około 140).

Tabela 7. Aktywność przeciwaritmiczna badanych pochodnych pirolidynonu-2 w modelu arytmii barowej Czas podania związku: 1 godz. przed arytmogenem
Droga podania: dożołądkowo Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg, i.p.)
Arytmogen: chlorek baru 32 mg/kg i.v.

Związek	Dawka mg/kg	% zmniejszenia arytmii	ED_{50} mg/kg	Indeks terapeutyczny	% zmniejszenie śmiertelności
5	60	0	145 (85,3-246,5)	4,1	33
	120	50			33
	240	66			66
12	80	0			0
	160	0			16
13	59,5	0			0
	119	16			33
15	34,8	3			3
	69,6	17			33
16	40	3			3
	80	16			16
17	73,3	0			0
	147	0			33
18	70	17	ok. 140		50
	140	50			50
MG-1	14,5	16	31 (18,8-51,1)	9	
	29	50			
	58	67			

Ad.3.2. Lecznicze działanie przeciwaritmiczne w modelu arytmii:

a) adrenalinowej

Z badanych 7 związków, cztery związki tj. 5, 12, 15 i 18 podane na szczycie zaburzeń poadrenalinowych znosiły istotnie przedwczesne pobudzenia nadkomorowe i komorowe (Tab.8).

Związek 5 podany dożylnie, w dawkach 1,75; 2,5 i 3,5 mg/kg, na szczycie zaburzeń poadrenalinowych znosił w porównaniu do kontroli przedwczesne pobudzenia nadkomorowe i komorowe odpowiednio u 35, 50 i 84% zwierząt oraz zmniejszał śmiertelność zwierząt w granicach 17-50% ($ED_{50} = 2,35$ (1,66-3,75); $IT = 25$).

Związek 12, w dawkach 4,25 ; 8,5 i 17 mg/kg znosił arytmie u 17, 33 i 83% zwierząt oraz zmniejszał śmiertelność w stosunku do kontroli o 50% ($ED_{50} = 9,5$ (6,3-14,2) mg/kg ; $IT = 15,3$).

Związek 15 podany w dawkach 4 ; 8 i 16 mg/kg, w dawce najniższej nie wykazywał aktywności przeciwaritmicznej, a w dawkach wyższych znosił arytmie u 33 i 83 % zwierząt oraz zmniejszał śmiertelność o 17-34%. $ED_{50} = 10,5$ (8,27-13,3) ; $IT = 7,6$.

Związek 18 podany w dawkach 14,5 i 29 mg/kg znosił arytmie u 33 i 67% zwierząt oraz zmniejszał śmiertelność o 50-67%. $ED_{50} = 21$ (15,7-28,1) ; $IT = 6,9$.

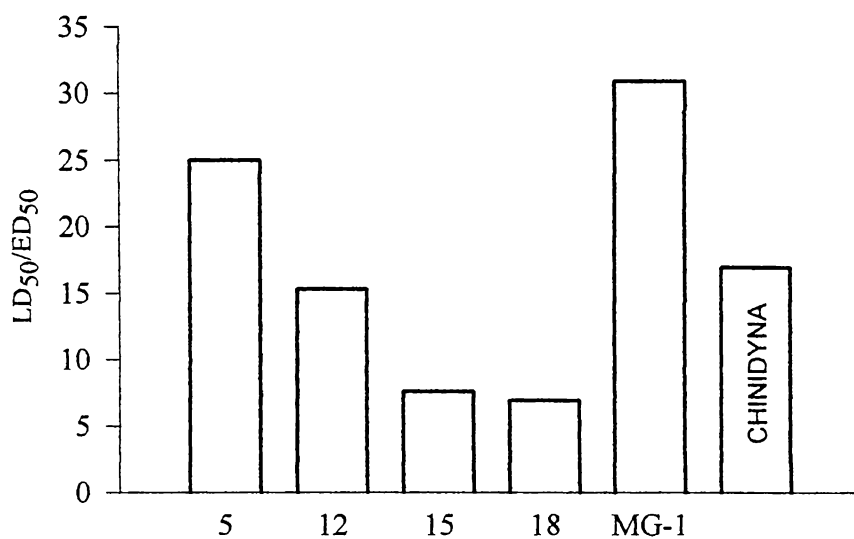
Związki 13, 16 i 17, podane w dawkach odpowiadających $1/20 - 1/5 LD_{50}$, nie wykazały istotnego działania leczniczego (Tab.8).



Tabela 8. Lecznicza aktywność przeciwaritmiczna badanych pochodnych pirolidynonu-2 w modelu arytmii adrenaliny u szczura

Droga podania: dożylnie Czas podania: na szczycie zaburzeń poadrenalinowych
 Arytmogen: adrenalina 20 $\mu\text{g/kg}$ i.v. Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg, i.p.)

Związek	Dawka mg/kg	% zmniejszenia arytmii	ED ₅₀ mg/kg	Indeks terapeutyczny	% zmniejszenia śmiertelności
5	1,75	35	2,35 (1,66-3,75)	25	17
	2,5	50			50
	3,5	84			17
12	4,25	17	9,5 (6,3-14,2)	15,3	50
	8,5	33			50
	17	83			50
13	5	0			0
	10	0			17
	20	17			17
15	4	0	10,5 (8,27-13,3)	7,6	17
	8	33			34
	16	83			34
16	6	0			17
	12	17			50
	24	33			50
17	4,38	0			17
	8,75	17			33
	17,5	33			33
	35	33			33
18	7,25	0	21 (15,7-28,1)	6,9	17
	14,5	33			50
	29	67			67
MG-1	3	17	5,2 (3,1-8,0)	31	
	6,8	67			
	12,5	85			
Chinidyna	2,8	50	3,2 (1,7-6,0)	17	
	5,5	67			
	11	83			



Ryc.5 Porównanie indeksów terapeutycznych badanych związków w modelu arytmii adrenergicznej. Czas podania związków : na szczycie arytmii
 Arytmogen : adrenalina 20 µg/kg Droga podania : dożylnie

b) barowej

Badane związki podane w 1/10 i 1/5 LD₅₀ na szczycie arytmii wywołanej BaCl₂, podobnie jak związek odniesienia, nie wykazały aktywności przeciwaritmicznej.

Ad.3.3. Wpływ na ciśnienie skurczowe i rozkurczowe po podaniu dożołądkowym

Związek 12 podany w dawce 80 mg/kg (tj. $1/10 LD_{50p.o.}$), w czasie godzinnej obserwacji, obniżał znamienne ciśnienie skurczowe o około 54-29 mmHg (37-20%), a ciśnienie rozkurczowe o około 59-33 mmHg (48-27%). Znamienny efekt hipotensyjny pojawiał się już w 10 minucie po podaniu i utrzymywał do 40 minuty obserwacji (Tab. 9a, Ryc.6). Podanie dawki niższej znacznie osłabiało efekt hipotensyjny.

Związek 13 podany w dawce 59,5 mg/kg ($1/10 LD_{50p.o.}$) obniżał znamienne ciśnienie skurczowe o około 18-8,6 mmHg (13-6,3%) zaś rozkurczowe o 19,5-11,5 mmHg (18-11%). Znamienny efekt hipotensyjny pojawiał się w 20 minucie od podania i utrzymywał do końca obserwacji (Tab 9a).

Związek 15 podany w dawce 34,8 mg/kg ($1/10 LD_{50p.o.}$) obniżał ciśnienie skurczowe o 16,5-6 mmHg (12,5-4,5%) i rozkurczowe o 17-8 mmHg (15,3-7,2%), przy czym znamienny efekt hipotensyjny obserwowano pomiędzy 10 a 40 minutą obserwacji (Tab. 9a, Ryc.6).

Związek 17 podany w dawce 73,3 mg/kg p.o. ($1/10 LD_{50p.o.}$) obniżał ciśnienie skurczowe o około 42-22 mmHg (28-14,5%) i rozkurczowe o 39-19,5 mmHg (29-14,5%). Znamienny spadek ciśnienia pojawiał się między 20 a 30 minutą po podaniu i utrzymywał do 1 godziny (Tab.9a Ryc.6).

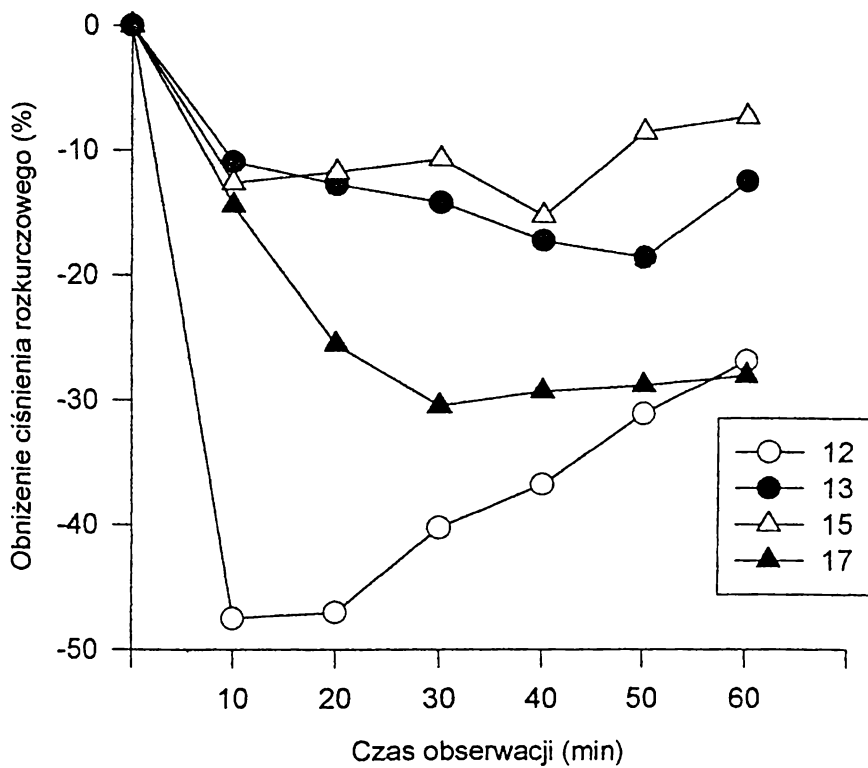
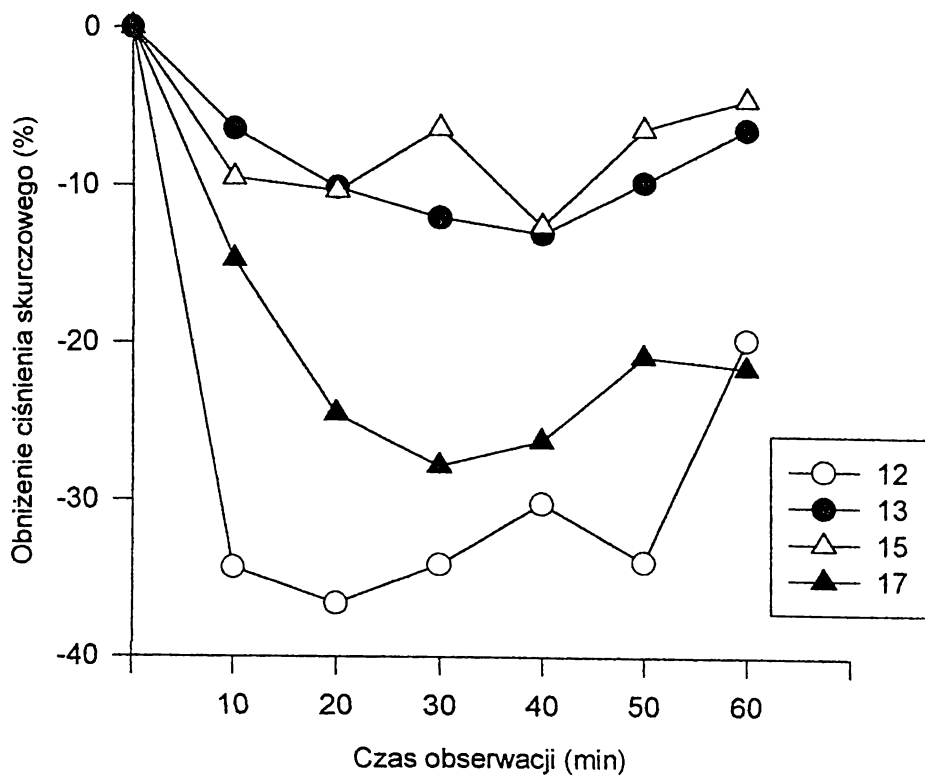
Pozostałe związki tj. 5, 16, i 18, podane dożołądkowo w dawkach odpowiadających $1/10 LD_{50}$ wykazały bardzo słaby, statystycznie nieznamienny efekt hipotensyjny (Tab.9b).

Tabela 9a. Aktywność hipotensyjna badanych pochodnych pirolidynonu-2 u normotensyjnego szczura po podaniu dożołądkowym

Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg, i.p.)

Związek	Dawka mg/kg	Ciśnienie (mm Hg)	Czas obserwacji (min)						
			0	10	20	30	40	50	60
12	80,0	skurczowe	147,3± 9,1	96,7± 9,2**	93,3± 8,6***	97,0± 12,1**	102,7± 17,3*	110,0± 21,4	118,3± 17,0
		rozkurczowe	123,3± 13,6	64,7± 3,2***	65,3± 3,2***	73,7± 15,5**	78,0± 17,8*	85,0± 20,8	90,3± 18,3
13	59,5	skurczowe	136,2± 2,0	127,4± 5,7	122,4± 3,5*	119,8± 4,0**	118,4± 4,1***	123,0± 3,9*	127,6± 5,5
		rozkurczowe	106,6± 4,6	95,0± 5,3*	93,0± 3,7**	91,6± 2,2***	88,4± 3,9***	87,0± 4,2****	93,6± 3,6*
15	34,8	skurczowe	132,4± 3,3	119,8± 3,1*	118,8± 2,6**	124,0± 2,8	115,8± 6,3***	124,0± 3,9	126,5± 3,5
		rozkurczowe	111,0± 4,5	97,0± 2,2*	98,0± 2,4*	99,2± 4,0	94,2± 8,3***	101,8± 4,6	103,2± 4,3
17	73,3	skurczowe	150,0± 1,2	128,0± 12,0	113,3± 16,4	108,3± 13,1*	110,7± 13,4*	118,7± 10,2	117,7± 10,3
		rozkurczowe	134,7± 3,3	115,3± 9,9	100,3± 14,5	93,7± 12,4*	95,3± 12,4*	96,0± 13,8*	97,0± 12,3*

Wyniki: średnie ± SEM z 6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie znamiennej w porównaniu z ciśnieniem przed podaniem związku (test ANOVA); * p<0,05; ** p<0,02; *** p<0,01; **** p<0,001



Ryc.6 Wpływ badanych związków na ciśnienie skurczowe i rozkurczowe u normotensyjnego szczura po podaniu dożołądkowym

Tabela 9b. Aktywność hipotensyjna badanych pochodnych pirolidynonu-2 u normotensyjnego szczura po podaniu dożołądkowym

Znieczulenie ogólne: tiopental (60 mg/kg, i.p.)

Związek	Dawka (mg/kg)	Ciśnienie (mm Hg)	Czas obserwacji (min)						
			0	10	20	30	40	50	60
5	60,0	skurczowe	150,3± 7,1	148,1± 9,4	146,0± 9,3	148,0± 1,1	146,7± 15,3	145,0± 2,4	148,3± 14,1
		rozkurczowe	113,3± 15,4	111,7± 3,5	112,3± 5,2	112,0± 15,8	110,0± 12,8	111,0± 10,8	112,1± 7,3
16	40,0	skurczowe	146,1± 2,7	147,4± 5,5	142,7± 3,8	139,8± 4,9	141,4± 4,9	143,0± 3,7	142,6± 7,5
		rozkurczowe	116,7± 6,6	112,0± 5,6	110,0± 4,8	112,0± 2,8	113,4± 12,0	111,5± 6,3	112,6± 3,8
18	70,0	skurczowe	135,0± 3,7	132,8± 6,7	138,0± 6,6	134,0± 7,8	135,0± 6,9	134,0± 3,7	136,5± 8,5
		rozkurczowe	111,0± 8,7	111,4± 9,5	109,0± 2,9	106,0± 4,8	105,2± 9,3	110,8± 7,6	110,2± 8,3

Wyniki: średnie ± SEM z 6 zwierząt w grupie.

Ad.3.4. Wpływ na presyjne działanie amin katecholowych i DMPP

Związki 12, 13, 15, 16, 17 i 18, podane na pięć minut przed adrenaliną w zakresie dawek 1/40 - 1/10 LD_{50 i.v.}, zmniejszały presyjną fazę działania adrenaliny (Ryc.8, 9,10,12,13,14,15,16), przy czym najsilniejsze, znamienne działanie wykazały związki 12 i 17, które już w dawce odpowiadającej 1/40 LD₅₀ prawie całkowicie zapobiegały presyjnemu działaniu adrenaliny (Ryc.8,9,14,15). Nieco słabsze działanie zapobiegające pierwszej, hipertensyjnej fazie działania adrenaliny w kolejności wykazały związki 15, 16 i 13 (1/10 LD_{50 i.v.}), (Ryc.10,12,13). Jedynie związek 5 w 1/10 LD_{50 i.v.} nie zapobiegał istotnie wzrostowi ciśnienia krwi po adrenalinie (Ryc.7).

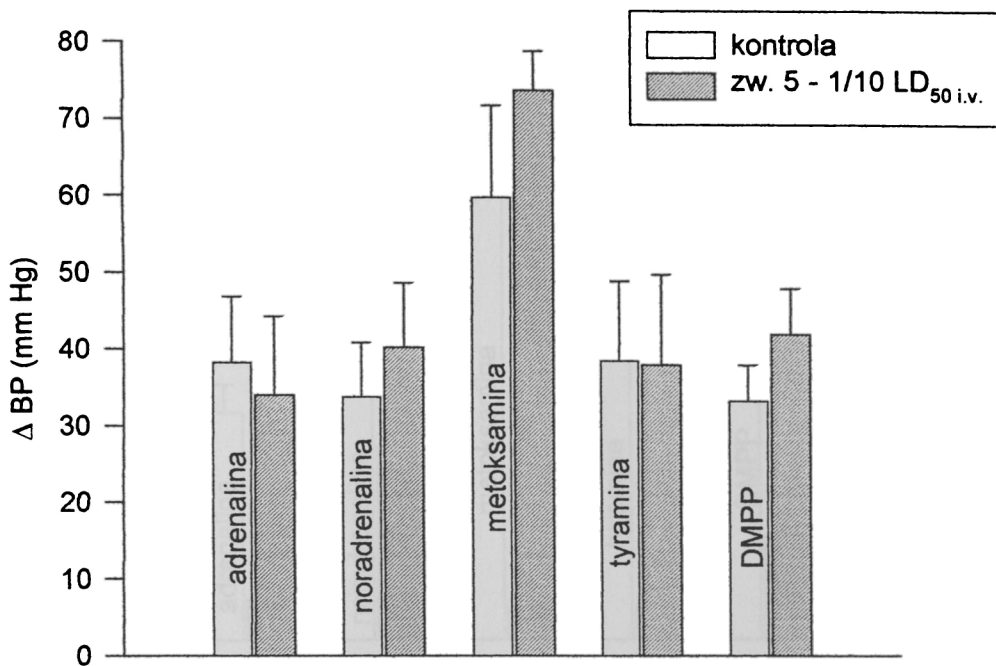
Związki 12, 13, 15, 16 i 17 zmniejszały również wzrost ciśnienia wywołany podaniem noradrenaliny, przy czym znamieny efekt występował po podaniu związku 12, 16 ($1/10 LD_{50i.v.}$) i 17 ($1/40 - 1/20 LD_{50 i.v.}$), (Ryc.8, 13, 14, 15). Natomiast związki 5 i 18 nieznacznie, statystycznie nieistotnie, zwiększały presyjne działanie noradrenaliny (Ryc.7, 16).

Związki 12, 13, 15, 16 i 17 w sposób znamieny, zmniejszały lub zapobiegały wzrostowi ciśnienia krwi po podaniu metoksaminy i tyraminy (Ryc. 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15), przy czym najsilniejsze działanie występowało po podaniu związku 12 i 17 ($1/40 LD_{50 i.v.}$), a nieco słabsze po podaniu związków 15, 13 i 16 ($1/10 LD_{50 i.v.}$). Związki 5 i 18 praktycznie nie zmieniały lub nieznacznie zwiększały hipertensyjne działanie metoksaminy i/lub tyraminy (Ryc.7, 16).

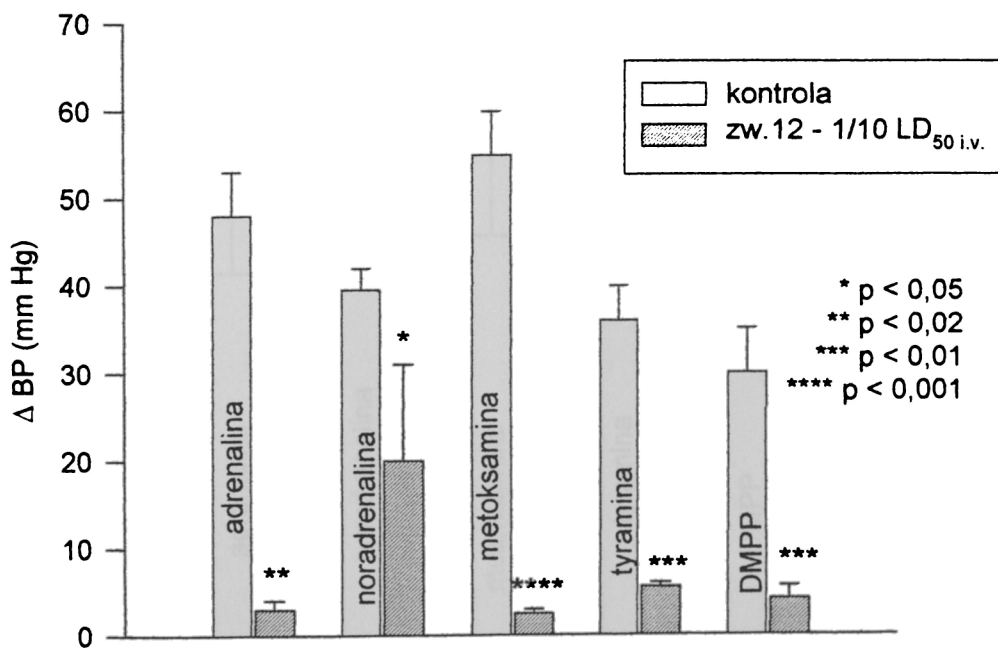
Podanie związków 12, 13, 15, 16 i 17 zapobiegało także wzrostowi ciśnienia krwi indukowanego podaniem DMPP, przy czym najsilniejszy efekt występował również po podaniu związków 12 i 17 ($1/40 LD_{50i.v.}$). Natomiast po podaniu związków 5 i 18 obserwowano nieznaczne, statystycznie nieznamienne nasilenie działania presyjnego DMPP (Ryc.7-16).

Wcześniejsze podanie związku 14 zapobiegało znamienne wzrostowi ciśnienia krwi indukowanego podaniem adrenaliny oraz nieznacznie wzrostowi ciśnienia krwi po DMPP, ale zwiększało odpowiedź presyjną po podaniu noradrenaliny, metoksaminy i tyraminy (Ryc.11).

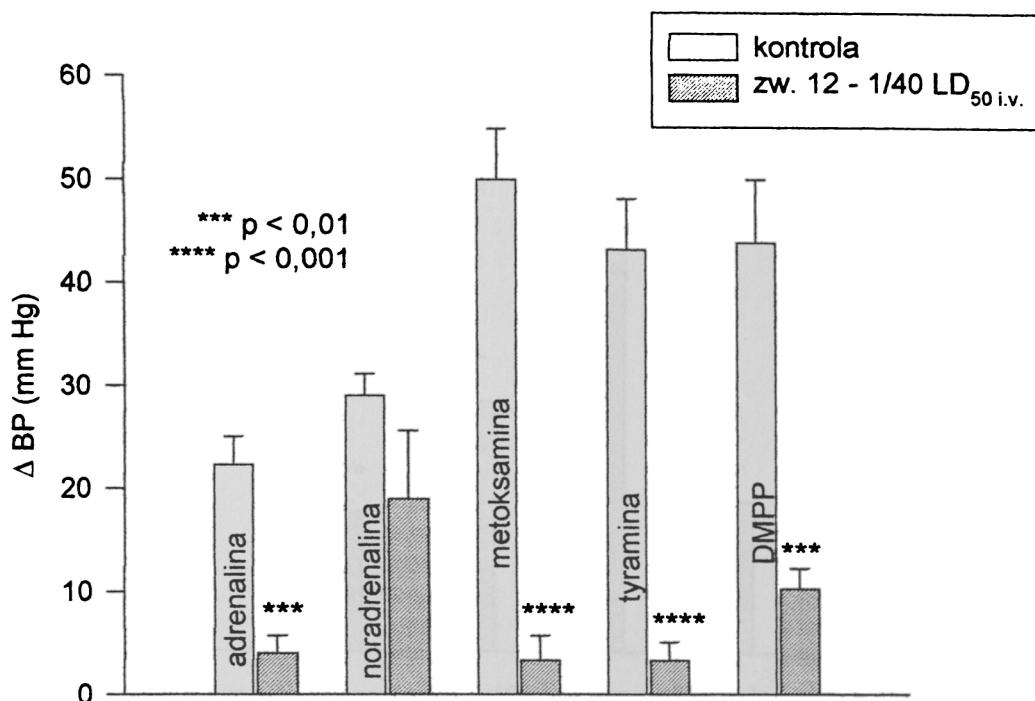
Związek odniesienia MG-1 zmniejszał lub całkowicie zapobiegał efektowi presyjnemu po adrenalinie oraz nieznacznie, w wyższych dawkach - 2 mg/kg ($1/80 LD_{50 i.v.}$), hamował presyjne działanie metoksaminy. W dawce 1 mg/kg ($1/160 LD_{50 i.v.}$) nieznacznie zmniejszał efekt presyjny po noradrenalinie, natomiast w dawce 2 mg/kg istotnie potęgował presyjne działanie noradrenaliny i DMPP. Związek MG-1 nie zmieniał odpowiedzi po podaniu tyraminy (Ryc.17), [30].



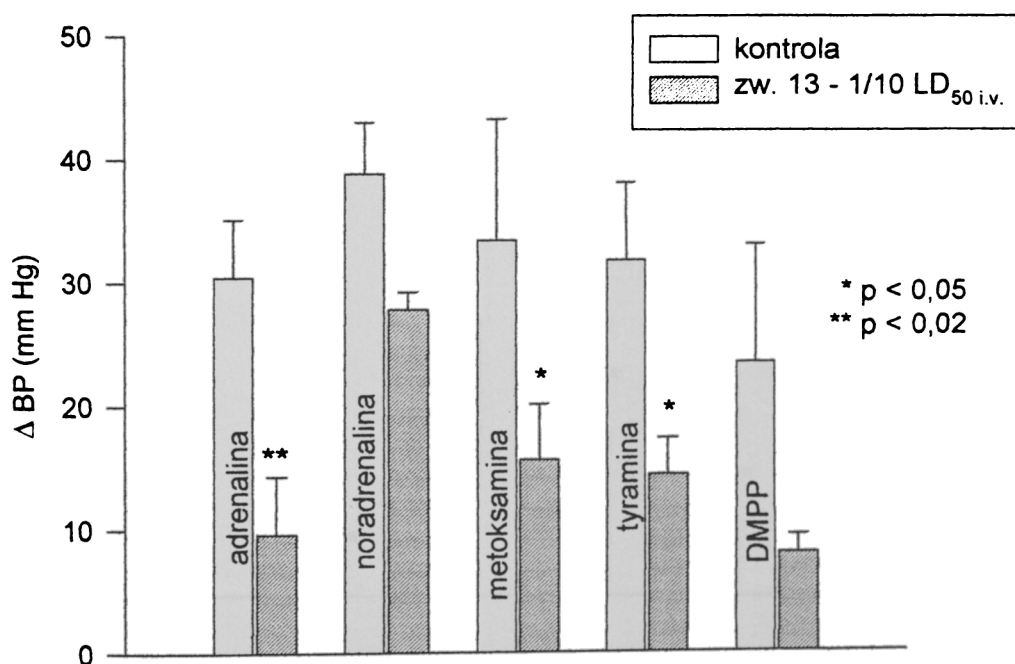
Ryc. 7 Wpływ dichlorowodorku 1-[β -hydroksy- γ -(N-fenylpiperazyno)propylo]-pirolidyny (5) na presyjne działanie amin katecholowych i DMPP



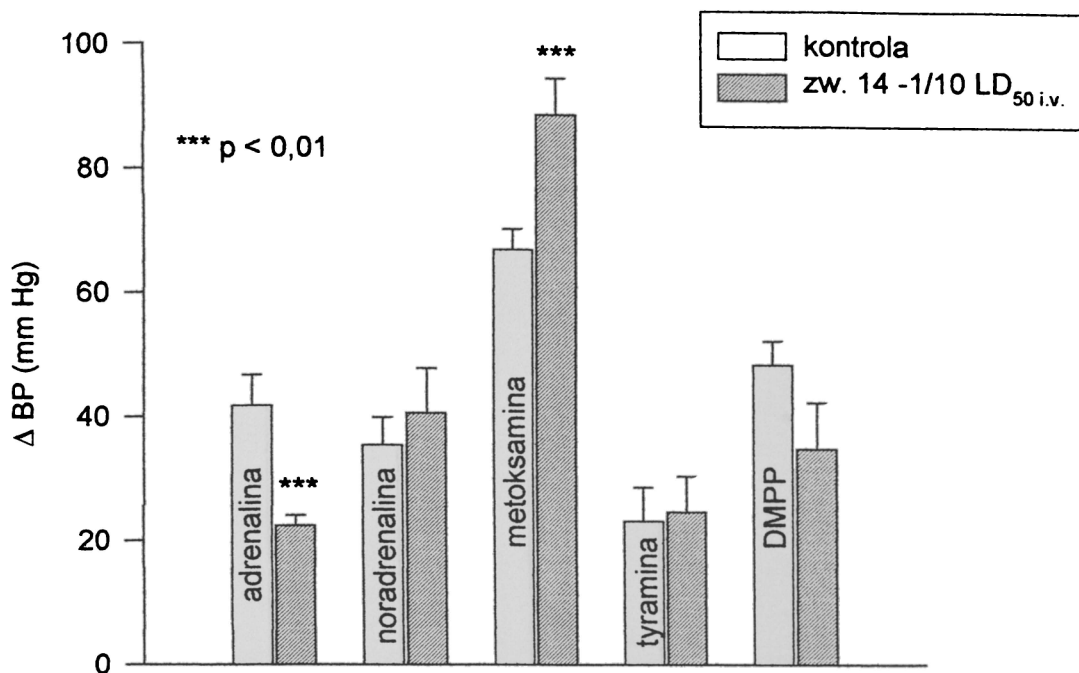
Ryc. 8 Wpływ chlorowodorku 1-{ β -hydroksy- γ -[4-(o-metoksyfenylo)-piperazyno]propylo}-pirolidynonu-2 (12) na presyjne działanie amin katecholowych i DMPP



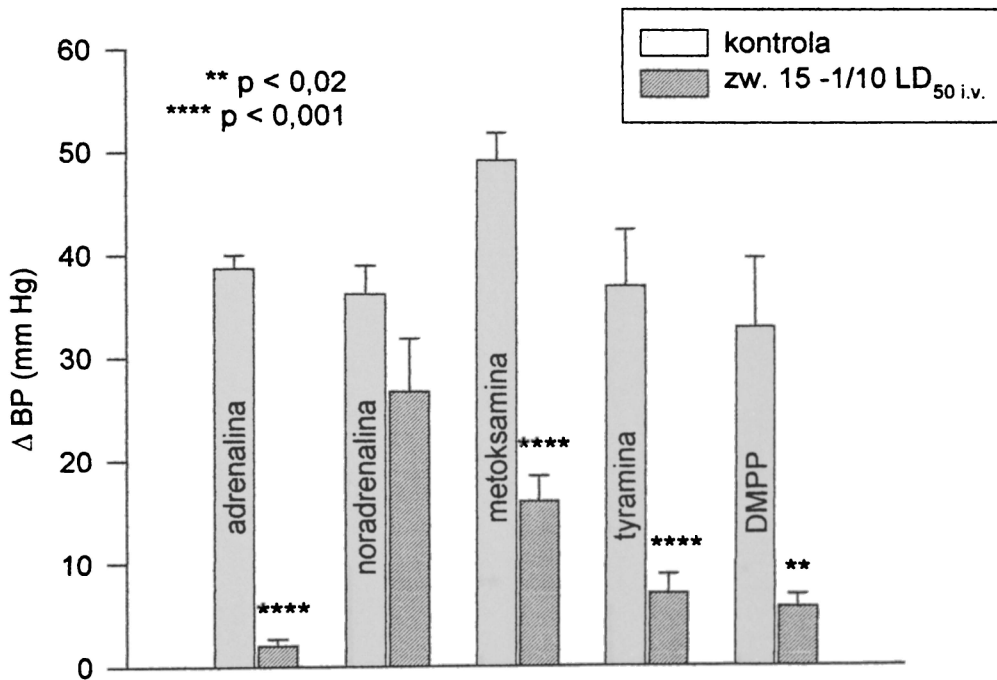
Ryc. 9 Wpływ chlorowodorku 1-{ β -hydroksy- γ -[4-(o-metoksyfenylo)- piperazyno] propylo}-pirolidynonu-2 (**12**) na presyjne działanie amin katecholowych i DMPP



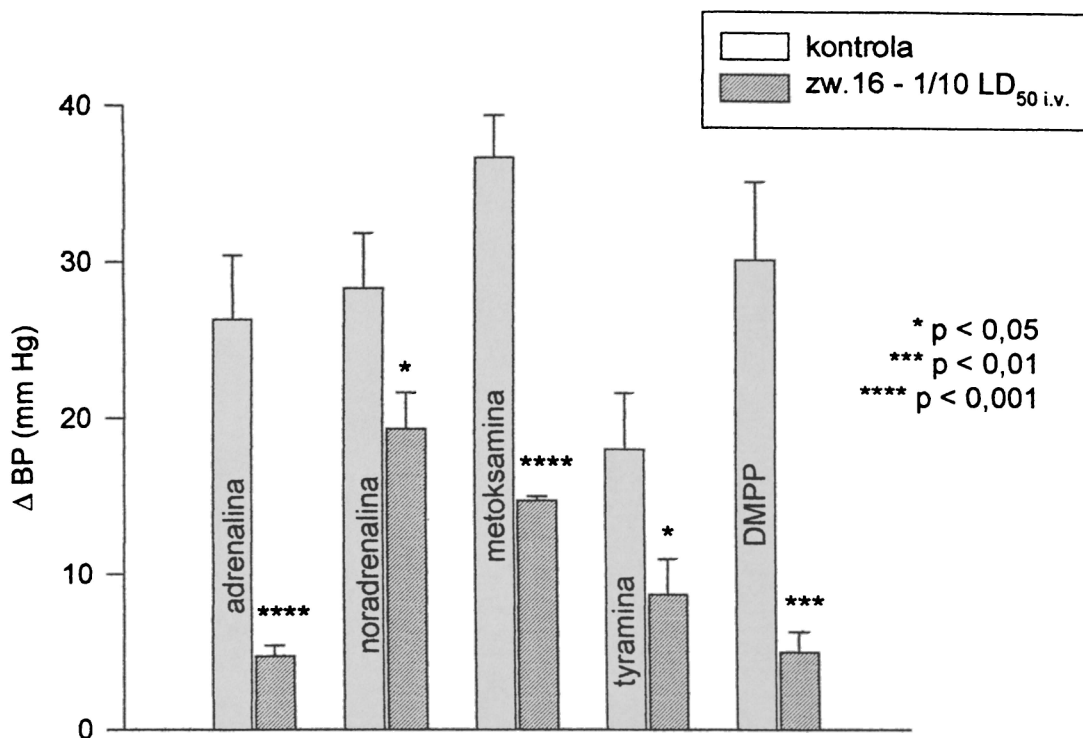
Ryc.10 Wpływ chlorowodorku 1-{ β -hydroksy- γ -[4-(p-chlorofenylo)- piperazyno] propylo}-pirolidynonu-2 (**13**) na presyjne działanie amin katecholowych i DMPP



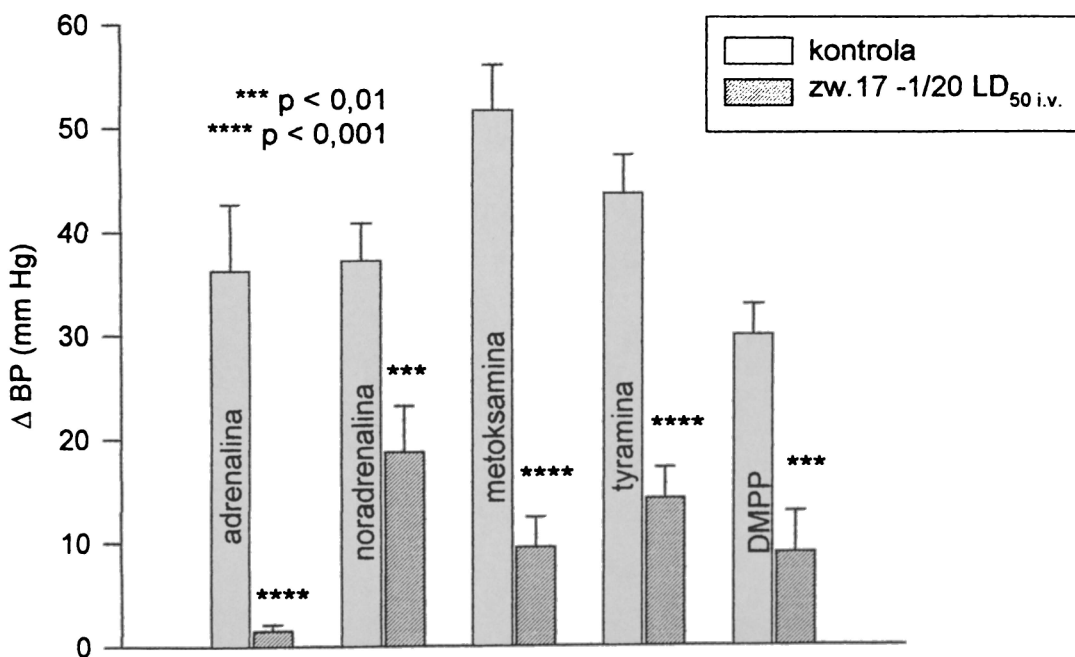
Ryc.11 Wpływ dichlorowodorku 1-{ β -hydroksy- γ -[4-(difenylometylo)-1 piperazyno] propylo}-pirolidynonu-2 (**14**) na presyjne działanie amin katecholowych i DMPP



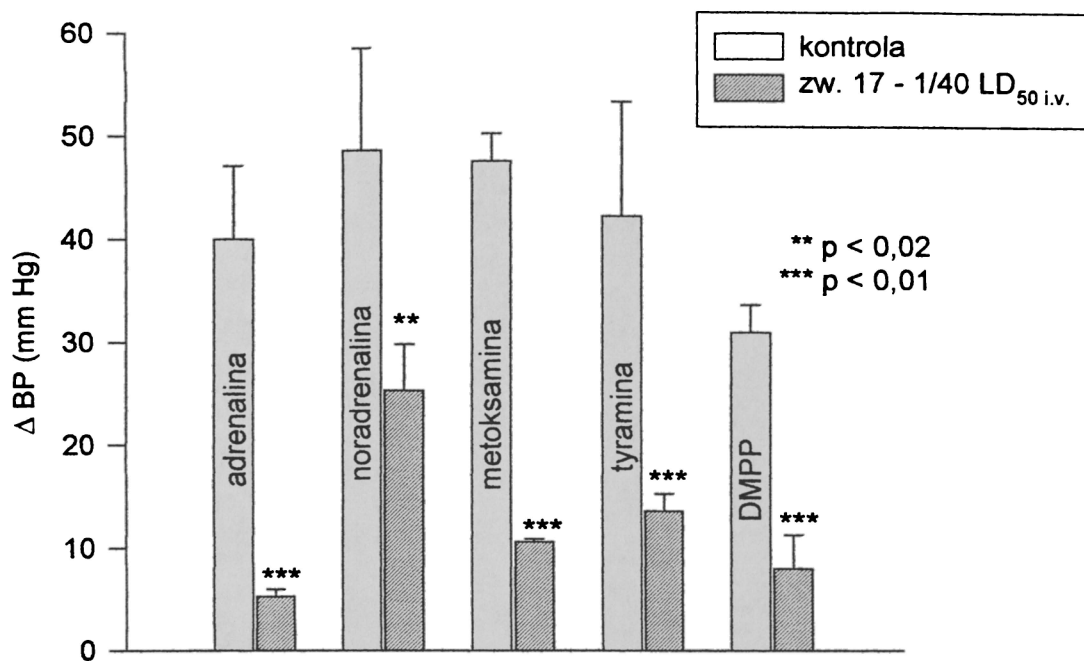
Ryc.12 Wpływ chlorowodorku 1-{ β -hydroksy- γ -[4-(o-chlorofenylo)-1 piperazyno] propylo}-pirolidynonu-2 (**15**) na presyjne działanie amin katecholowych i DMPP



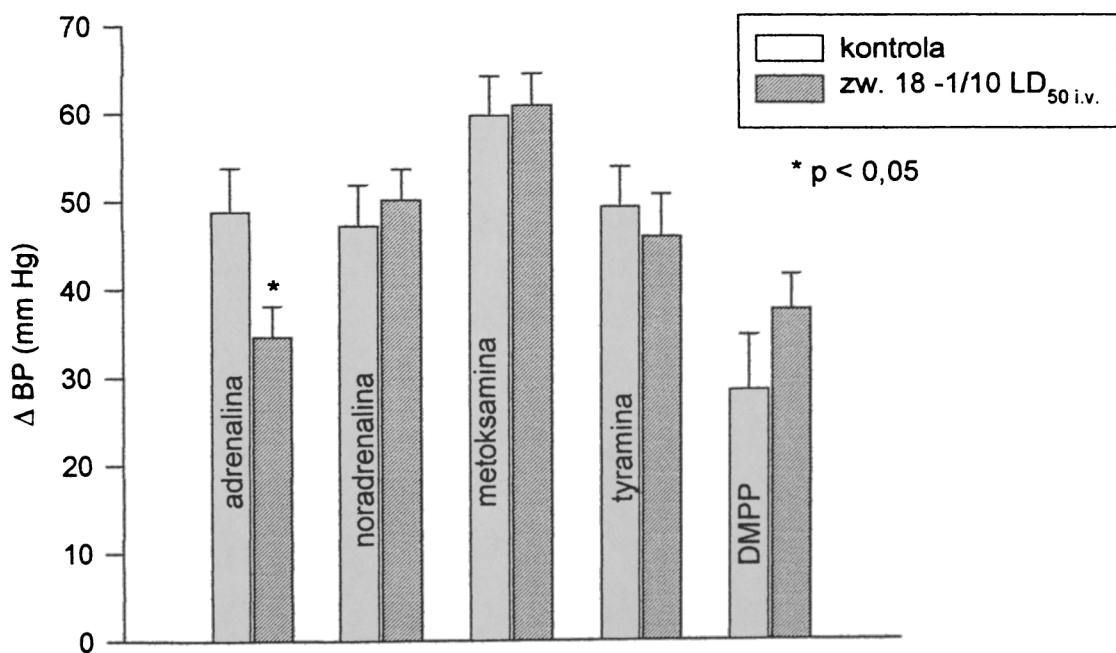
Ryc.13 Wpływ chlorowodoru 1-{ β -acetylo- γ -[4-(o-chlorofenilo)- piperazyno] propylo}-pirolidynonu-2 (16) na presyjne działanie amin katecholowych i DMPP



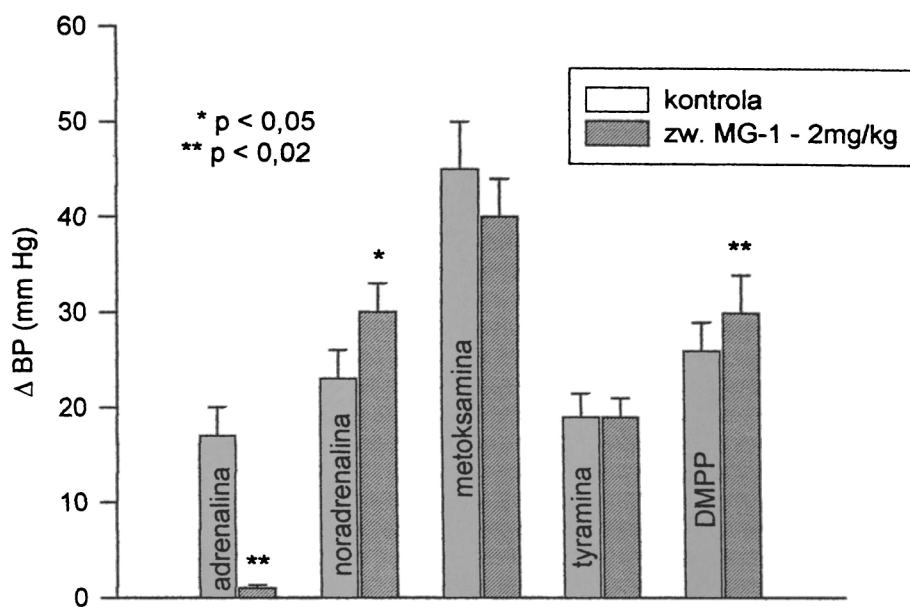
Ryc.14 Wpływ chlorowodoru 1-{ β -acetylo- γ -[4-(o-metoksyfenilo)- piperazyno] propylo}-pirolidynonu-2 (17) na presyjne działanie amin katecholowych i DMPP



Ryc.15 Wpływ chlorowodoru 1-{ β -acetylo- γ -[4-(o-metoksyfenilo)- piperazyno] propylo}-pirolidynonu-2 (17) na presyjne działanie amin katecholowych i DMPP



Ryc.16 Wpływ dimaleinianu 1-{ β -hydroksy- γ -[4-(o-metoksyfenilo) -1-piperazyno] propylo}-pirolidyny (18) na presyjne działanie amin katecholowych i DMPP



Ryc.17 Wpływ związku **MG-1** na presyjne działanie amin katecholowych i DMPP

Ad.3.5. Wpływ na elektrokardiogram, częstotliwość i wypływ wieńcowy wyosobnionego serca szczura

Wybrane do badań poszerzonych nowe pochodne pirolidynonu-2, podane w zakresie stężeń 10^{-9} - 10^{-4} M, zmniejszały częstotliwość i wypływ wieńcowy oraz zmieniały czas trwania odstępu P-Q, Q-T i zespołu QRS (Tab. 10, 11, 12, 13, 14, 15 i 16).

Związek 5, w stężeniu 10^{-8} - 10^{-4} M, wydłużał statystycznie znamienne czas trwania odstępu P-Q o 29,5 - 124 i Q-T o 12,5 - 50% oraz w zakresie stężeń 3×10^{-7} - 10^{-4} M istotnie przedłużał czas trwania zespołu QRS o 44,3-107,7%. Obserwowanym zmianom EKG towarzyszyło znamienne zwolnienie pracy serca o 12,3-26,5% (w stężeniu 10^{-7} - 10^{-4} M) oraz zmniejszenie wypływu wieńcowego o 12,7- 27,3% (Tab.10).

Związek 12 (10^{-9} - 10^{-4} M) wydłużał znamienne odstęp P-Q i Q-T począwszy od stężenia 3×10^{-8} M (P-Q o 31,5-94,7%; Q-T o 14,7-48%), a czas trwania zespołu QRS począwszy od stężenia 3×10^{-7} (o 45-110%). Istotne zmniejszenie częstotliwości obserwowano od stężenia 10^{-7} M (o 25-35%), a zmniejszenie wypływu wieńcowego począwszy od stężenia 10^{-5} M (o 24%), (Tab.11).

Związek 13 podany w analogicznych stężeniach wydłużał znamienne czas trwania odstępu P-Q i Q-T od stężenia 3×10^{-7} M (P-Q o 32,5-72,2%; Q-T o 20,6-47,3%) oraz zespołu QRS od stężenia 10^{-6} M (o 45-63%). Obserwowanym zmianom towarzyszyło znamienne zmniejszenie częstotliwości pracy serca, od stężenia 10^{-6} M (o 24,5%) oraz spadek wypływu wieńcowego o 19-24% (stęż. 3×10^{-6} - 10^{-4} M), (Tab.12).

Związek 15 w zakresie stężeń 3×10^{-7} - 10^{-4} M wydłużał istotnie odstęp P-Q i Q-T odpowiednio o 27,6-72,5% i 25,2-53,1%, a począwszy od stężenia 10^{-6} M także zespół QRS o 38,6-53,4%. Zmianom w EKG towarzyszyło istotne zwolnienie pracy serca o 20,6-43,3% (3×10^{-7} - 10^{-4} M) oraz zmniejszenie wypływu wieńcowego w granicach 14,3-30,6% (stęż. 10^{-6} M - 10^{-4}), (Tab.13).

Związek 16 wydłużał znamienne odstęp Q-T w zakresie stężeń 3×10^{-8} - 10^{-4} M o 10,5-49%, odstęp P-Q w zakresie stężeń 3×10^{-7} - 10^{-4} M o 27-69% oraz zespół QRS o 37-77,3% w stężeniach 10^{-6} - 10^{-4} M. Wydłużeniu czasu trwania odstępu P-Q, Q-T i zespołu QRS towarzyszyło zmniejszenie częstotliwości o 27-35% (stęż. 3×10^{-7} - 10^{-4} M) oraz zmniejszenie wypływu wieńcowego o 14,3-30,5% (stęż. 10^{-6} - 10^{-4} M), (Tab.14).

Związek 17, podany w stężeniach 10^{-9} - 10^{-4} M, zmniejszał znamienne częstotliwość pracy serca począwszy od stężenia 3×10^{-8} M w granicach 14,3-34%, wypływ wieńcowy od stęż. 3×10^{-6} o 20 - 25% oraz przedłużał czas trwania odstępu P-Q i Q-T w zakresie stężeń 3×10^{-8} - 10^{-4} M odpowiednio o 36,7-105,6% i 13 -50,3%, a zespołu QRS o 41,3-83,6% (3×10^{-7} - 10^{-4} M), (Tab.15).

Związek 18 natomiast wykazał istotne działanie chronotropowo ujemne od stężenia 3×10^{-7} M, zmniejszając częstotliwość o 28%, (w stęż. 10^{-4} M o 36%) oraz począwszy od stęż. 3×10^{-6} M wypływ wieńcowy o 16% (w stęż. 10^{-4} M o 30%). Znamienne wydłużenie czasu trwania odstępu P-Q i Q-T występowało od stężenia 3×10^{-7} M (P-Q o 28,7%, Q-T o 21,3%), a zespołu QRS od stęż. 10^{-6} M (o 37%). W stężeniu 10^{-4} M obserwowano wydłużenie odcinka P-Q i Q-T odpowiednio o 70,7 i 50%, a zespołu QRS o 49,5% (Tab.16).

Związek odniesienia MG-1 (w dawkach 10-2000 μ g) zmniejszał częstotliwość pracy izolowanego serca szczura (16-26%), wydłużał odstęp P-Q (22-62%), Q-T (12-24%) i zespół QRS (14-45%), natomiast nie zmieniał, a nawet nieznacznie zwiększał wypływ wieńcowy [30].

Tabela 10. Wpływ dichlorowodoru 1-[[β -hydroksy- γ -(N-fenylpiperazyno)propylo]-pirolidyny (5) na elektrokardiogram wyosobnionego serca szczura

Obserwowany parametr	Dawka (mol/l)											
	0	10 ⁻⁹	3x10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	3x10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	3x10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	3x10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	3x10 ⁻⁵	10 ⁻⁴
Częstotliwość /min	162,5± 8,1	165± 10,1	153,5± 8,7	153,5± 8,7	151,2± 9,1	141,8± 6,2*	135,3± 5,6***	128,6± 2,9****	127± 3,2****	125,2± 3***	120,2± 2,1****	119,5± 2,7****
Wpływ wieńcowy ml/min	5,5± 0,2	5,5± 0,3	5,6± 0,4	5,1± 0,2	5,0± 0,2	4,8± 0,1	4,7± 0,2*	4,5± 0,2***	4,4± 0,2***	4,1± 0,3****	4,0± 0,3****	4,0± 0,3****
P-Q (msek)	45,0± 2,2	46,6± 2,1	55,0± 4,3	58,3± 3,1*	63,3± 2,1***	68,3± 3,1****	70,0± 3,6****	73,3± 4,9****	78,3± 3,1****	85,0± 3,4****	93,3± 6,1****	101,0± 7,9****
QRS (msek)	30,0± 2,6	31,6± 1,6	32,6± 1,7	33,3± 2,1	36,6± 3,3	36,6± 2,1	43,3± 2,1***	48,3± 3,1****	50,0± 2,6****	51,6± 1,6****	60,0± 4,5****	61,6± 4,0****
Q-T (msek)	160± 8,5	168,3± 3,1	178,3± 4,0	180± 2,6*	188,3± 5,4***	193,3± 4,2***	210± 6,8****	211,6± 5,4****	225± 8,1****	233,3± 11****	235± 8,1****	240± 8,9****

Wyniki przedstawiają średnie $\pm$ SEM z 5-6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie znaczenna w porównaniu z wartościami przed podaniem związku (test ANOVA); *p < 0,05 ; **p < 0,02 ; ***p < 0,01 ; ****p < 0,001

Tabela 11. Wpływ dichlorowodorku 1-(β -hydroksy- γ -[4-(o-metoksyfenylo)-1-piperazyno]propylo}-pirolidynonu-2 (**12**) na elektrokardiogram wyosobnionego serca szczura

Obserwowany parametr	Dawka (mol/l)											
	0	10 ⁻⁹	3x10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	3x10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	3x10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	3x10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	3x10 ⁻⁵	10 ⁻⁴
Częstotliwość /min	175,7± 11,1	174± 12,4	158± 8,9	153± 8,6	145,7± 12,3	132± 15,1*	131,2± 15,8*	126± 16,9**	124,7± 16,2**	119,5± 16,6***	117,2± 17,2***	114,2± 15,8***
Wpływ wieńcowy ml/min	5,8± 0,6	5,6± 0,5	5,5± 0,4	5,2± 0,4	5,2± 0,4	5,1± 0,4	5,0± 0,4	4,9± 0,4	4,7± 0,4	4,5± 0,4*	4,4± 0,5*	4,4± 0,5*
P-Q (msek)	47,5± 2,5	47,5± 2,5	52,5± 2,5	57,5± 2,5	62,5± 4,8***	63,7± 3,7***	67,5± 2,5***	72,5± 4,8***	72,5± 4,8***	80,0± 4,1***	90,0± 4,0***	92,5± 4,8***
QRS (msek)	26,2± 2,4	28,2± 2,8	30,0± 2,8	30,0± 2,8	33,0± 4,3	32,5± 4,8	38,0± 5,8*	40,0± 4,1**	40,0± 4,1**	47,5± 4,5***	51,2± 3,1***	55,0± 2,9***
Q-T (msek)	170± 4,1	171± 4,3	182,5± 2,5	182,5± 2,5	195,0± 5,0**	205,0± 9,6***	212,5± 7,5***	225,0± 9,6***	225,0± 9,6***	240,0± 8,2***	250,0± 5,8***	252,0± 4,8***

Wyniki przedstawiają średnie ± SEM z 5-6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie znaczenna w porównaniu z wartościami przed podaniem związku (test ANOVA) ; *p < 0,05 ; **p < 0,02 ; ***p < 0,01 ; ****p < 0,001

Tabela 12. Wpływ dichlorowodorku 1-{ β -hydroksy- γ -[4-(p-chlorofenylo)-1-piperazyno]propylo}-pirolidynonu-2 (13) na elektrokardiogram wyobnionego serca szczura

Obserwowany parametr	Dawka (mol/l)											
	0	10 ⁻⁹	3x10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	3x10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	3x10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	3x10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	3x10 ⁻⁵	10 ⁻⁴
Częstotliwość /min	173,7 $\pm$ 11,8	172,0 $\pm$ 13,0	156,0 $\pm$ 11,3	152,2 $\pm$ 11,7	145,2 $\pm$ 15,1	135,2 $\pm$ 16,5	135,7 $\pm$ 17,2	131,0 $\pm$ 15,6*	127,0 $\pm$ 15,9**	122,7 $\pm$ 15,6**	120,2 $\pm$ 15,5**	114,0 $\pm$ 12,1***
Wpływ wiencowy ml/min	5,3 $\pm$ 0,2	5,2 $\pm$ 0,2	5,0 $\pm$ 0,2	4,9 $\pm$ 0,3	4,8 $\pm$ 0,3	4,7 $\pm$ 0,3	4,6 $\pm$ 0,3	4,5 $\pm$ 0,4	4,3 $\pm$ 0,4*	4,2 $\pm$ 0,3**	4,2 $\pm$ 0,3**	4,0 $\pm$ 0,3***
P-Q (msek)	53,7 $\pm$ 2,4	53,7 $\pm$ 2,4	57,5 $\pm$ 2,5	61,2 $\pm$ 1,2	62,5 $\pm$ 2,5	65,0 $\pm$ 2,9	71,2 $\pm$ 1,2**	76,2 $\pm$ 2,4***	76,2 $\pm$ 2,4***	83,7 $\pm$ 5,5***	92,5 $\pm$ 9,5***	92,5 $\pm$ 9,5***
QRS (msek)	27,5 $\pm$ 2,5	30,0 $\pm$ 4,1	30,0 $\pm$ 4,1	30,0 $\pm$ 4,1	32,5 $\pm$ 4,1	33,5 $\pm$ 3,9	36,0 $\pm$ 4,0	40,0 $\pm$ 4,1*	40,0 $\pm$ 4,1*	45,0 $\pm$ 2,9***	45,0 $\pm$ 2,9***	45,0 $\pm$ 2,9***
Q-T (msek)	157,5 $\pm$ 6,3	162,5 $\pm$ 8,5	167,5 $\pm$ 4,8	177,5 $\pm$ 8,5	182,5 $\pm$ 6,3	185,0 $\pm$ 5,0	190,0 $\pm$ 5,8*	197,5 $\pm$ 10,3**	205,0 $\pm$ 9,6***	220,0 $\pm$ 11***	230,0 $\pm$ 19***	232,0 $\pm$ 19***

Wyniki przedstawiają średnie $\pm$ SEM z 5-6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie znaczenna w porównaniu z wartościami przed podaniem związku (test ANOVA); *p < 0,05 ; **p < 0,02 ; ***p < 0,01 ; ****p < 0,001

Tabela 13. Wpływ dichlorowodoroku 1-{ β -hydroksy- γ -[4-(o-chlorofenyl)-1-piperazyno]propyl}-pirolidynonu-2 (15) na elektrokardiogram wyobnionego serca szczura

Obserwowany parametr	Dawka (mol/l)											
	0	10 ⁻⁹	3x10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	3x10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	3x10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	3x10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	3x10 ⁻⁵	10 ⁻⁴
Częstotliwość /min	160,0± 11,2	156,4± 11,7	155,8± 8,6	146,7± 9,9	140,0± 8,8	132,5± 9,1	127,0± 10,2*	119,7± 8,9**	115,0± 14,1***	107,0± 12,6***	100,0± 11****	90,6± 6,6****
Wpływ wieńcowy ml/min	4,9± 0,1	4,9± 0,2	4,8± 0,1	4,6± 0,1	4,6± 0,1	4,3± 0,2	4,3± 0,2	4,2± 0,3*	4,1± 0,1**	3,9± 0,2***	3,7± 0,2****	3,4± 0,2****
P-Q (msek)	55,0± 2,8	55,0± 2,8	56,3± 3,1	60,8± 2,9	64,2± 3,1	64,8± 2,1	70,2± 4,1*	74,8± 4,2**	76,4± 2,8**	85,0± 4,2***	94,8± 4,5****	94,9± 4,8****
QRS (msek)	29,2± 2,4	31,0± 4,2	33,1± 3,2	33,1± 3,2	34,0± 2,1	35,0± 4,8	38,2± 2,4	40,5± 4,1*	41,0± 4,1*	41,0± 4,2*	44,8± 5,1**	44,8± 5,1**
Q-T (msek)	156,7± 10,2	162,0± 11,6	168,4± 12,8	170,0± 11,0	184,0± 11,1	186,6± 10,3	196,3± 12,4*	196,3± 12,4*	214,0± 17,0***	220,3± 16,8***	236,7± 18****	240,0± 18****

Wyniki przedstawiają średnie ± SEM z 5-6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie znamienna w porównaniu z wartościami przed podaniem związku (test ANOVA) ; *p < 0,05 ; **p < 0,02 ; ***p < 0,01 ; ****p < 0,001

Tabela 14. Wpływ dichlorowodorku 1-{ β -acetylo- γ -[4-(o-chlorofenylo)-1-piperazyno]propylo}-pirolidynonu-2 (16) na elektrokardiogram wyosobnionego serca szczura

Obserwowany parametr	Dawka (mol/l)											
	0	10 ⁻⁹	3x10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	3x10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	3x10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	3x10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	3x10 ⁻⁵	10 ⁻⁴
Częstotliwość /min	180,2± 10,9	178,0± 12,5	168,0± 8,9	145,6± 13,6	140,0± 15,2	140,0± 14,3	132,0± 14,6*	131,0± 14,7*	125,0± 15,6**	124,0± 17,2**	118,4± 17***	117,0± 16***
Wpływ wieńcowy ml/min	4,9± 0,2	4,9± 0,2	4,9± 0,2	4,8± 0,2	4,6± 0,1	4,4± 0,2	4,4± 0,2	4,2± 0,3*	4,1± 0,1**	4,1± 0,2**	3,9± 0,3***	3,4± 0,2****
P-Q (msek)	57,0± 3,0	57,0± 3,0	57,3± 3,2	61,2± 2,7	65,4± 3,8	65,8± 4,0	72,4± 5,2*	76,8± 3,8**	77,4± 2,6**	86,0± 4,4***	95,0± 5,2***	96,3± 2,4****
QRS (msek)	27,8± 2,5	27,9± 2,4	31,2± 2,9	31,2± 2,9	33,0± 4,5	34,0± 4,2	36,0± 5,6	38,1± 4,3*	41,0± 2,4**	42,0± 3,6***	42,2± 5,1****	49,3± 3,2****
Q-T (msek)	172,0± 4,5	172,0± 4,5	184,0± 2,8	185,0± 3,0	190,0± 5,2*	192,0± 4,2*	207,0± 10,2**	225,0± 9,7***	225,0± 9,7***	250,0± 7,4***	252,0± 5,9***	256,0± 4,6****

Wyniki przedstawiają średnie $\pm$ SEM z 5-6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie znaczenna w porównaniu z wartościami przed podaniem związku (test ANOVA) ; *p < 0,05 ; **p < 0,02 ; ***p < 0,01 ; ****p < 0,001

Tabela 15. Wpływ dichlorowodorku 1-{ β -acetylo- γ -[4-(o-metoksyfenylo)-1-piperazyno]propylo}-pirolidynonu-2 (17) na elektrokardiogram wyosobnionego serca szczura

Obserwowany parametr	Dawka (mol/l)											
	0	10 ⁻⁹	3x10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	3x10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	3x10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	3x10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	3x10 ⁻⁵	10 ⁻⁴
Częstotliwość /min	198,4 $\pm$ 13,6	197,3 $\pm$ 12,1	187,0 $\pm$ 8,4	178,0 $\pm$ 9,2	170,0 $\pm$ 8,4*	162,0 $\pm$ 4,2**	161,0 $\pm$ 2,4**	155,0 $\pm$ 8,5***	150,1 $\pm$ 8,6***	148,2 $\pm$ 4,2***	136,5 $\pm$ 5,8***	131,0 $\pm$ 4,4***
Wpływ wieńcowy ml/min	5,9 $\pm$ 0,5	5,7 $\pm$ 0,4	5,5 $\pm$ 0,4	5,3 $\pm$ 0,4	5,2 $\pm$ 0,3	5,1 $\pm$ 0,3	5,0 $\pm$ 0,4	4,9 $\pm$ 0,4	4,7 $\pm$ 0,3*	4,6 $\pm$ 0,4*	4,5 $\pm$ 0,4*	4,4 $\pm$ 0,4*
P-Q (msek)	46,2 $\pm$ 2,8	47,0 $\pm$ 3,4	51,4 $\pm$ 2,4	56,2 $\pm$ 4,6	63,2 $\pm$ 4,9**	64,2 $\pm$ 5,1***	64,2 $\pm$ 5,1***	73,0 $\pm$ 2,4***	74,2 $\pm$ 4,1***	81,0 $\pm$ 2,8***	92,0 $\pm$ 4,1***	95,0 $\pm$ 4,2***
QRS (msek)	30,0 $\pm$ 2,8	31,4 $\pm$ 1,8	32,7 $\pm$ 1,7	33,6 $\pm$ 2,2	36,7 $\pm$ 3,4	36,8 $\pm$ 3,2	42,4 $\pm$ 2,1***	48,1 $\pm$ 3,4***	51,4 $\pm$ 2,8***	52,0 $\pm$ 1,8***	55,1 $\pm$ 2,4***	55,1 $\pm$ 2,4***
Q-T (msek)	161,0 $\pm$ 8,4	170,0 $\pm$ 3,2	177,0 $\pm$ 4,0	182,0 $\pm$ 2,4*	189,0 $\pm$ 5,5**	190,1 $\pm$ 4,1**	210,0 $\pm$ 5,2***	212,0 $\pm$ 5,4***	220,0 $\pm$ 4,9***	233,0 $\pm$ 5,4***	235,0 $\pm$ 8,2***	242,0 $\pm$ 9,1***

Wyniki przedstawiają średnie $\pm$ SEM z 5-6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie znaczenna w porównaniu z wartościami przed podaniem związku (test ANOVA) ; *p < 0,05 ; **p < 0,02 ; ***p < 0,01 ; ****p < 0,001

Tabela 16. Wpływ dichlorowodoru 1-{ β -hydroksy- γ -[4-(o-metoksyfenylo)-1-piperazyno]propylo]-pirolidyny (18) na elektrokardiogram wyosbnionego serca szczura

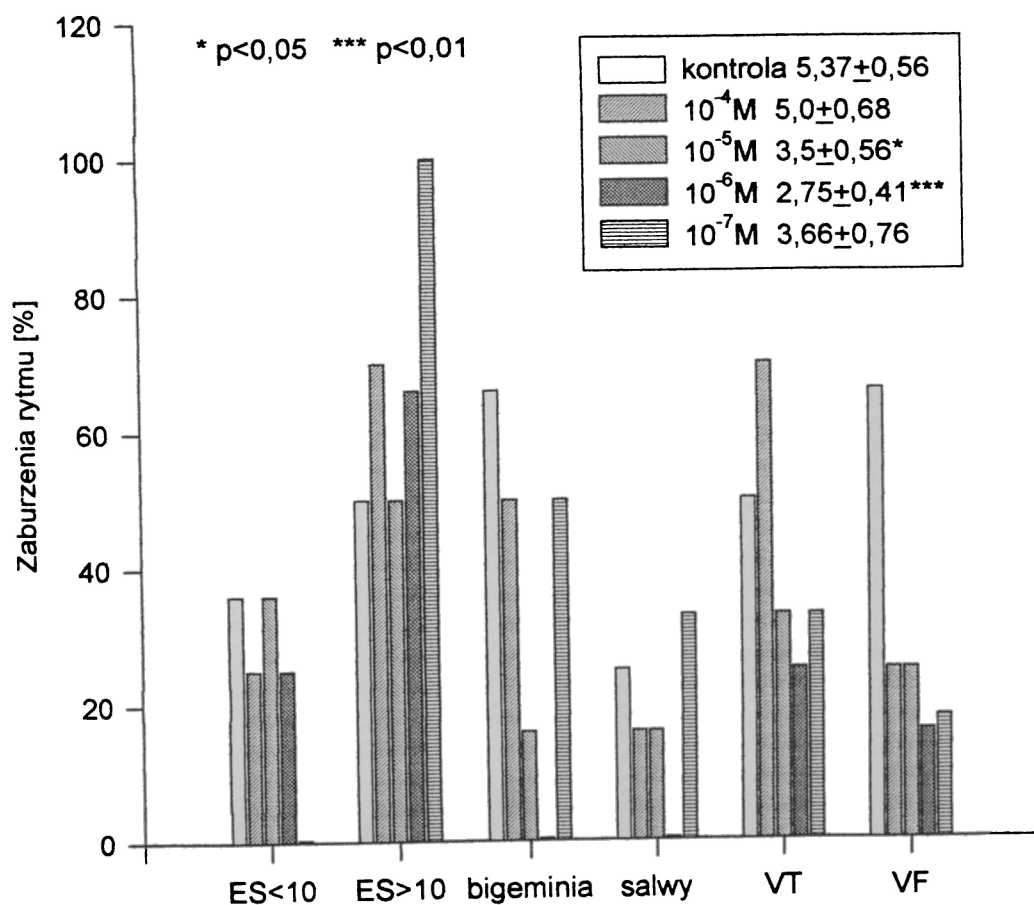
Obserwowany parametr	Dawka (mol/l)											
	0	10 ⁻⁹	3x10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	3x10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	3x10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	3x10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	3x10 ⁻⁵	10 ⁻⁴
Częstotliwość /min	180,4± 9,1	176,0± 11,2	169,0± 9,0	150,0± 7,0	140,0± 14,2	140,0± 14,3	130,0± 15,1*	130,0± 15,1*	125,1± 15,4**	123,0± 18,0**	117,0± 16,0***	116,0± 14,0***
Wyptyw wieńcowy ml/min	5,0± 0,1	4,9± 0,2	4,9± 0,2	4,8± 0,2	4,7± 0,2	4,6± 0,1	4,5± 0,2	4,6± 0,2	4,2± 0,1*	4,0± 0,2**	3,7± 0,3***	4,5± 0,3***
P-Q (msek)	56,0± 3,0	56,0± 3,0	56,8± 3,2	61,7± 3,0	65,2± 3,2	65,8± 2,2	72,1± 4,2*	75,9± 4,1**	77,5± 2,9**	86,0± 4,3***	95,2± 4,6***	95,6± 4,3***
QRS (msek)	30,1± 2,5	31,0± 4,4	32,1± 3,6	32,1± 3,6	35,0± 2,2	35,0± 2,2	39,2± 2,5	41,2± 4,5*	41,2± 4,5*	42,2± 4,4*	45,0± 5,2**	45,0± 5,2**
Q-T (msek)	160,7± 10,2	162,0± 11,7	169,4± 10,2	172,0± 10,1	185,0± 12,2	187,0± 10,1	195,0± 11,4*	196,3± 16,0**	215,0± 16,2***	221,3± 15,1***	237,2± 13***	241,0± 19***

Wyniki przedstawiają średnie $\pm$ SEM z 5-6 zwierząt w grupie. Różnica statystycznie znaczenna w porównaniu z wartościami przed podaniem związku (test ANOVA); *p < 0,05 ; **p < 0,02 ; ***p < 0,01 ; ****p < 0,001

Ad.3.6. Aktywność przeciwartymiczna w arytmii wywołanej okluzją i reperfuzją naczyń wieńcowego szczura *in vitro*

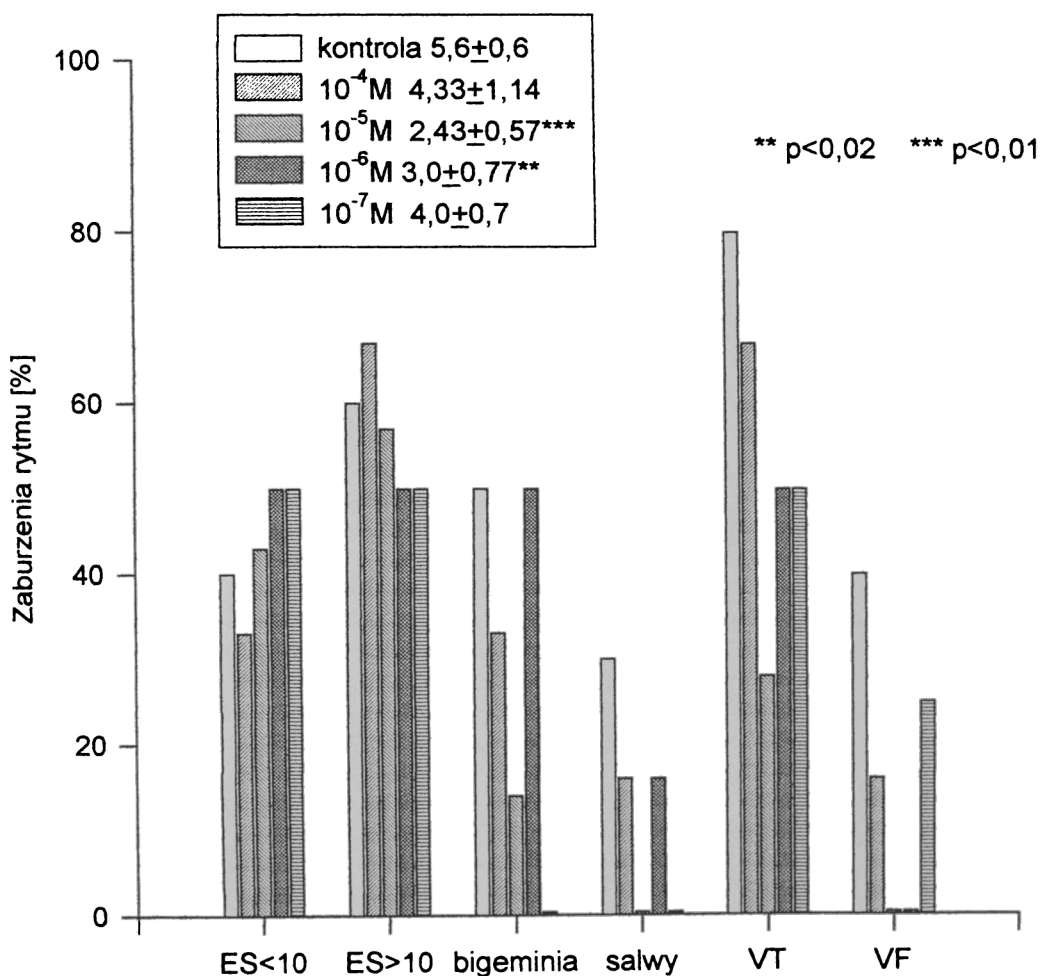
Podwiązanie lewej tętnicy wieńcowej wyizolowanego serca szczura w grupie kontrolnej prowadziło do zmniejszenia wypływu wieńcowego o około 21%. Usunięcie po 15 minutach zacisku powodowało powrót wypływu wieńcowego, a nawet obserwowano nieznaczny, statystycznie nieznamienisty jego wzrost. W grupach badanych po zamknięciu naczyń wieńcowego obserwowano podobne, znamienne zmniejszenie wypływu wieńcowego, średnio o 20% oraz w okresie reperfuzji jego powrót do wartości wyjściowych lub nieznaczny wzrost (Tab.17).

Przywrócenie przepływu wieńcowego w okresie reperfuzji prowadziło do wystąpienia pojedynczych przedwczesnych pobudzeń nadkomorowych i komorowych (ES) u 100%, bigemini u 50-66%, salw u 25-30%, częstoskurczu komorowego (VT) u 50-80% oraz migotania komór (VF) u 40-66% serc kontrolnych (Ryc.18-24).



Ryc.18. Wpływ dichlorowodoru 1-[β-hydroksy-γ-(N-fenylpiperazyno)-propylo]-pirolidyny (5) na niemiarnowosć wyosobnionego serca szczura (ES-ekstrasystole, VT-tachykardia komorowa, VF-fibrylacja)

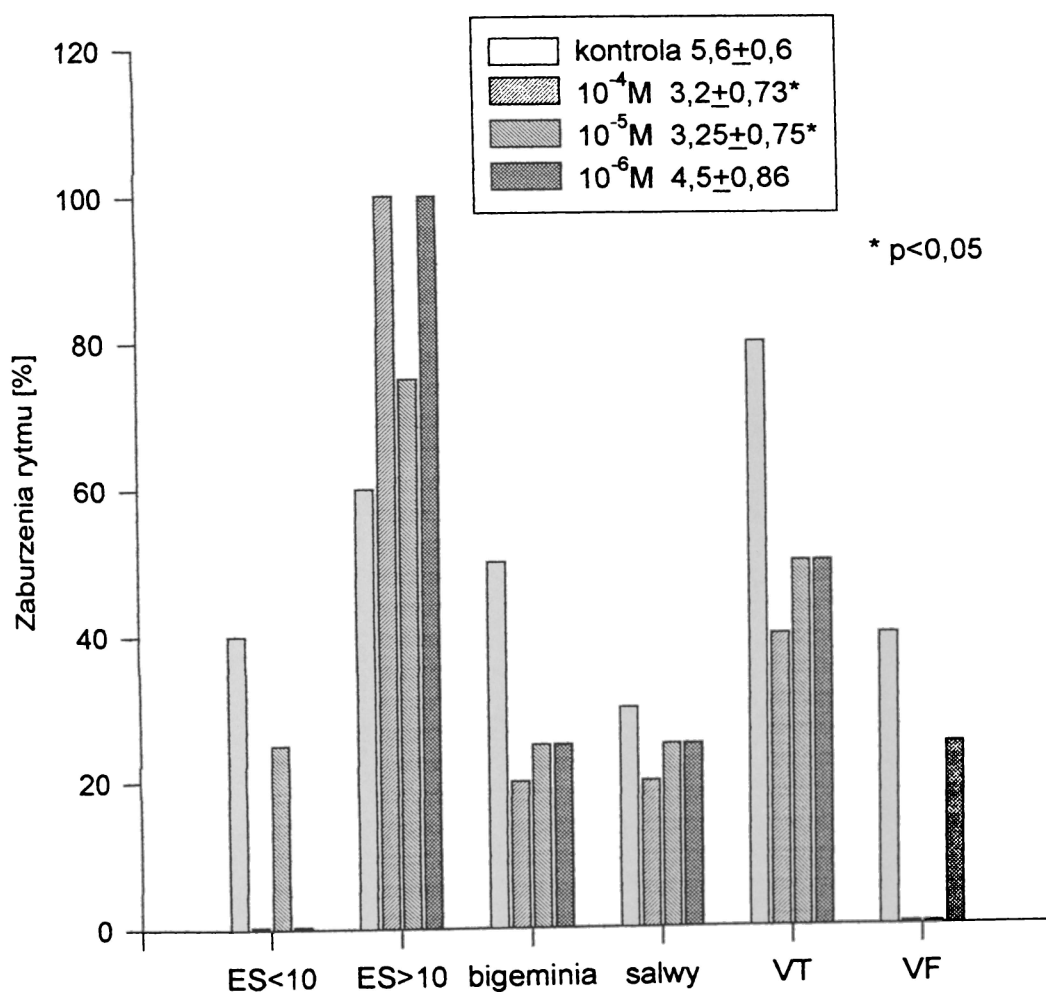
Związek 5, dodany do płynu perfundującego serce na 15 minut przed okluzją, w stężeniu 10^{-7}M , częściowo zmniejszał wystąpienie częstoskurczu komorowego w czasie reperfuzji o 17% oraz migotanie komór o 48%. W stężeniu 10^{-6}M zapobiegał bigeminii (o 66%), salwom (o 25%) oraz częściowo chronił przed wystąpieniem częstoskurczu komorowego o 25% i migotania komór o 50%. Natomiast w stężeniu 10^{-5}M częściowo zapobiegał bigeminii (zmniejszenie o 50%), częstoskurczowi komorowemu (zmniejszenie o 17%) i fibrylacji o 41%. Podanie stężenia 10^{-4}M prowadziło do zaniku aktywności przeciwaritmicznej w tym teście (Ryc.18).



Ryc.19. Wpływ chlorowodoru 1- $\{\beta$ -hydroksy- γ -[4-(o-metoksyfenylo)-1-piperazyno]-propylo}-pirolidynonu-2 (**12**) na niemiaryowość wyosobnionego serca szczura (ES-ekstrasystole, VT-tachykardia komorowa, VF-fibrylacja)

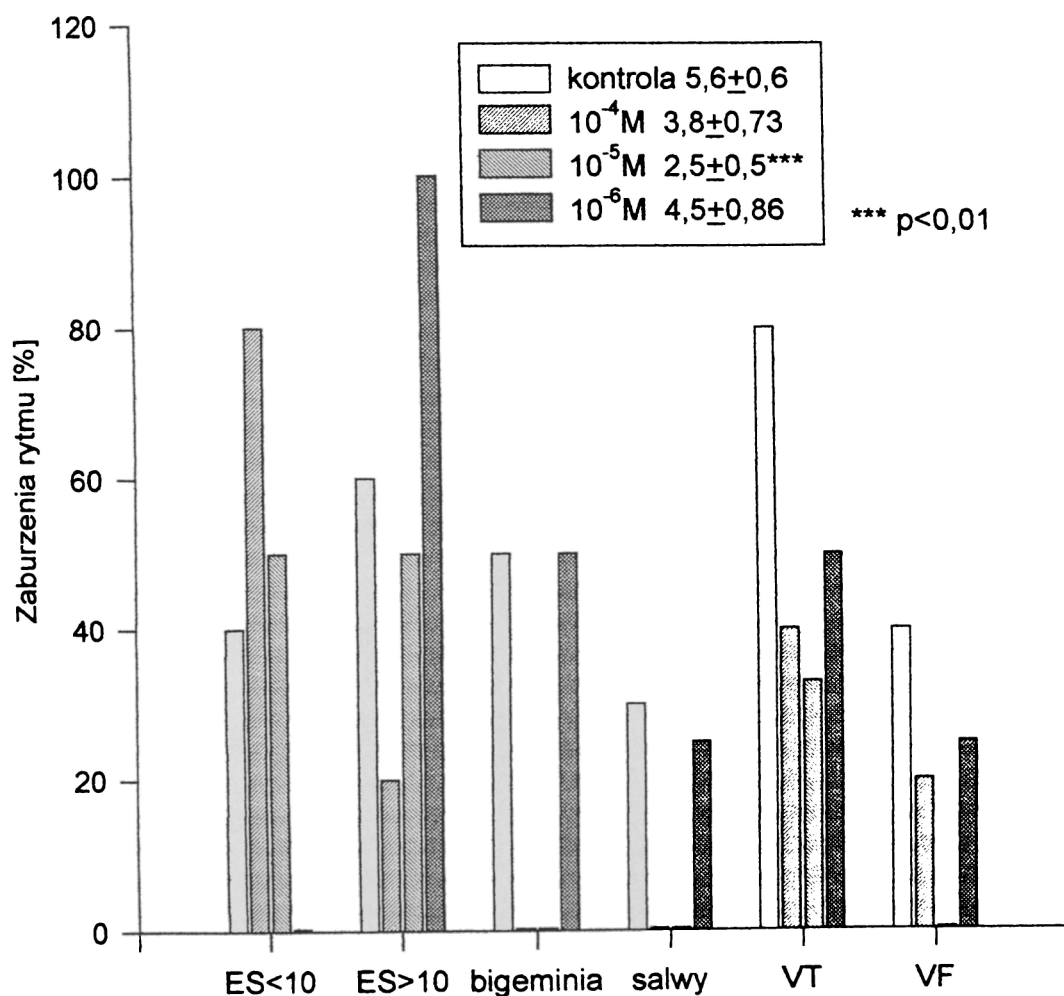
Związek 12, w dawce 10^{-7} M zapobiegał wystąpieniu bigeminii i salw oraz częściowo zmniejszał objawy częstoskurczu komorowego (o ok. 40%), fibrylacji (o 25%), a w dawkach 10^{-6} i 10^{-5} M, hamował fibrylacje o 40%, zaś w stęż. 10^{-4} M o 24%. Najsilniejszą redukcję częstoskurczu komorowego (o 52%), salw (o 30%) oraz bigeminii (o 36%) obserwowano w stęż. 10^{-5} M (Ryc.19).

Związek 13, podany w zakresie stężeń 10^{-6} - 10^{-4} M, istotne działanie przeciwarytmiczne wykazał w stężeniach 10^{-5} M i 10^{-4} M, zmniejszając fibrylację o 40%, tachykardię komorową o 40% oraz bigeminię w granicach 25-30% (Ryc.20).



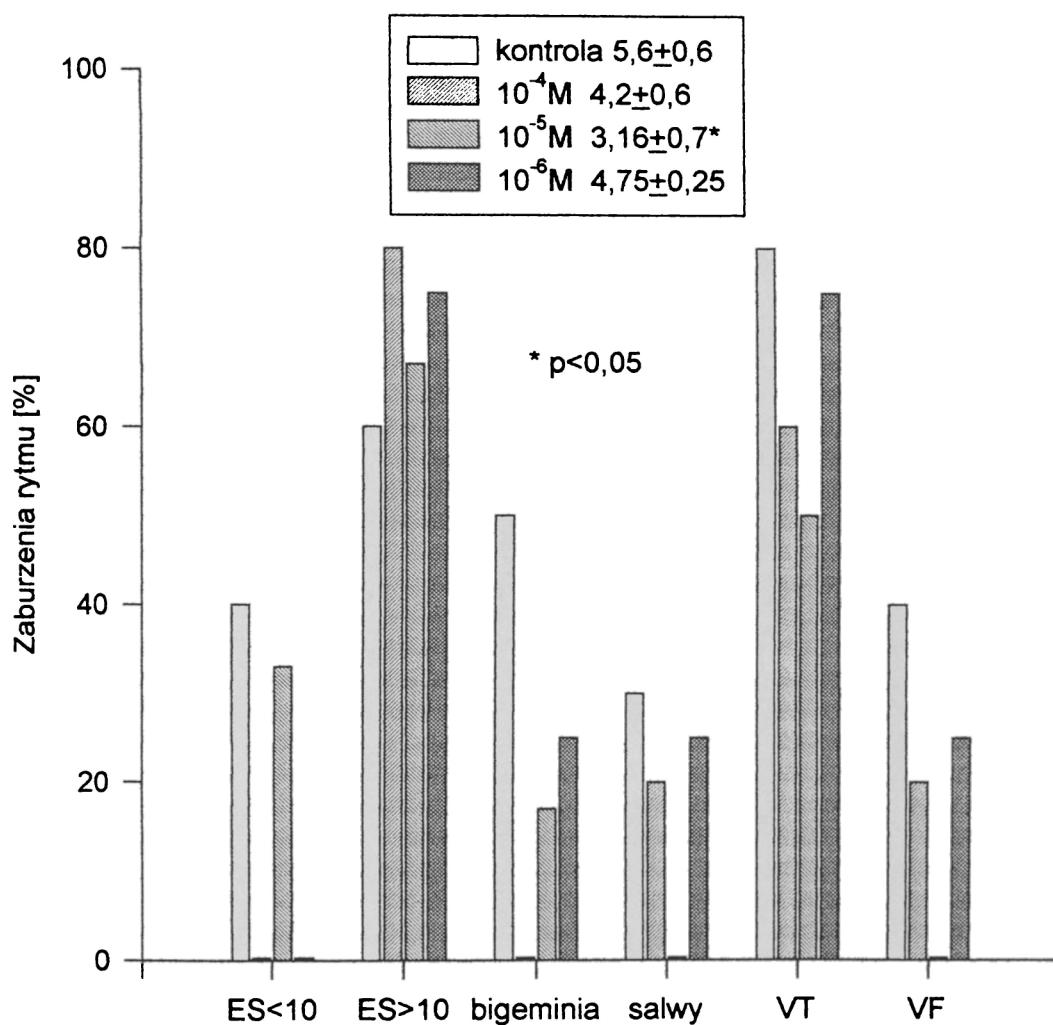
Ryc.20. Wpływ chlorowodorku 1- $\{\beta$ -hydroksy- γ -[4-(p-chlorofenylo)-1-piperazyno]-propylo}-pirolidynonu-2 (**13**) na niemiarywość wyosobnionego serca szczura (ES-ekstrasystole, VT-tachykardia komorowa, VF-fibrylacja)

Związek 15, podany w stężeniu 10^{-6}M , nie wykazał znamiennej aktywności w tym teście. Podany w stężeniu 10^{-5}M zmniejszał fибрилację o 40%, częstoskurcz komorowy o 47% oraz bigemię i salwy odpowiednio o 50 i 30%. Podanie stężenia wyższego (10^{-4}M) prowadziło do osłabienia aktywności przeciwaritmicznej związku (zmniejszenie VF o 20%, a VT o 40%), (Ryc.21).



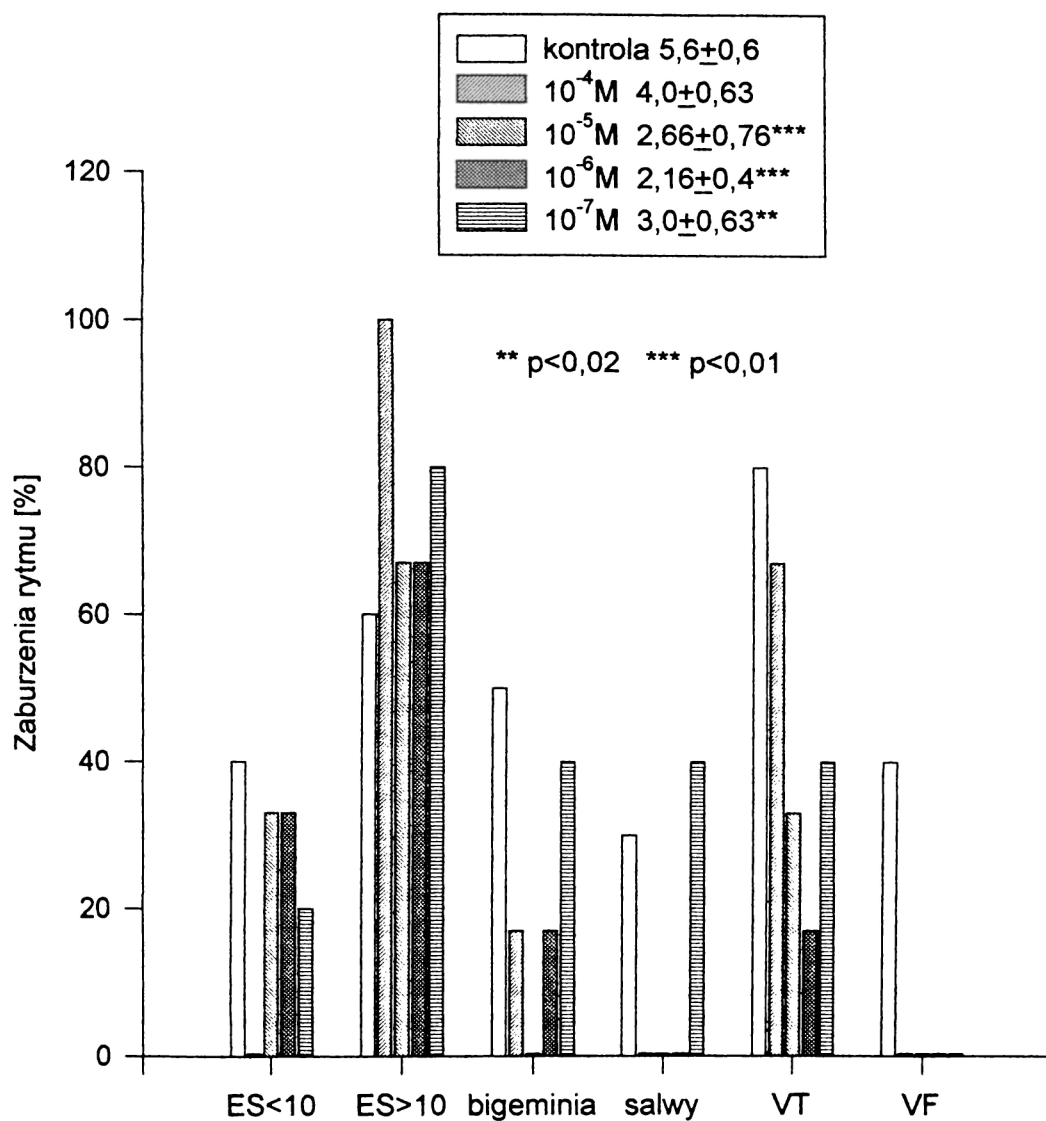
Ryc.21. Wpływ chlorowodoru 1- $\{\beta$ -hydroksy- γ -[4-(-chlorofenylo)-1-piperazyno]-propylo}-pirolidynonu-2 (15) na niemiarnowość wyosobnionego serca szczura (ES-ekstrasystole, VT-tachykardia komorowa, VF-fibrylacja)

Związek 16, podany w stężeniach 10^{-6} - 10^{-4} M, wywierał najsilniejszy efekt przeciwyrytmiczny w stężeniu 10^{-5} M (zmniejszenie fibrylacji o 40%, tachykardii komorowej o 30%, salw o 30% oraz bigeminii o 33%); w stężeniu niższym (10^{-6} M) nie działał, a podanie stężenia wyższego (10^{-4} M) prowadziło do osłabienia aktywności przeciwyrytmicznej związku w tym teście (Ryc.22).



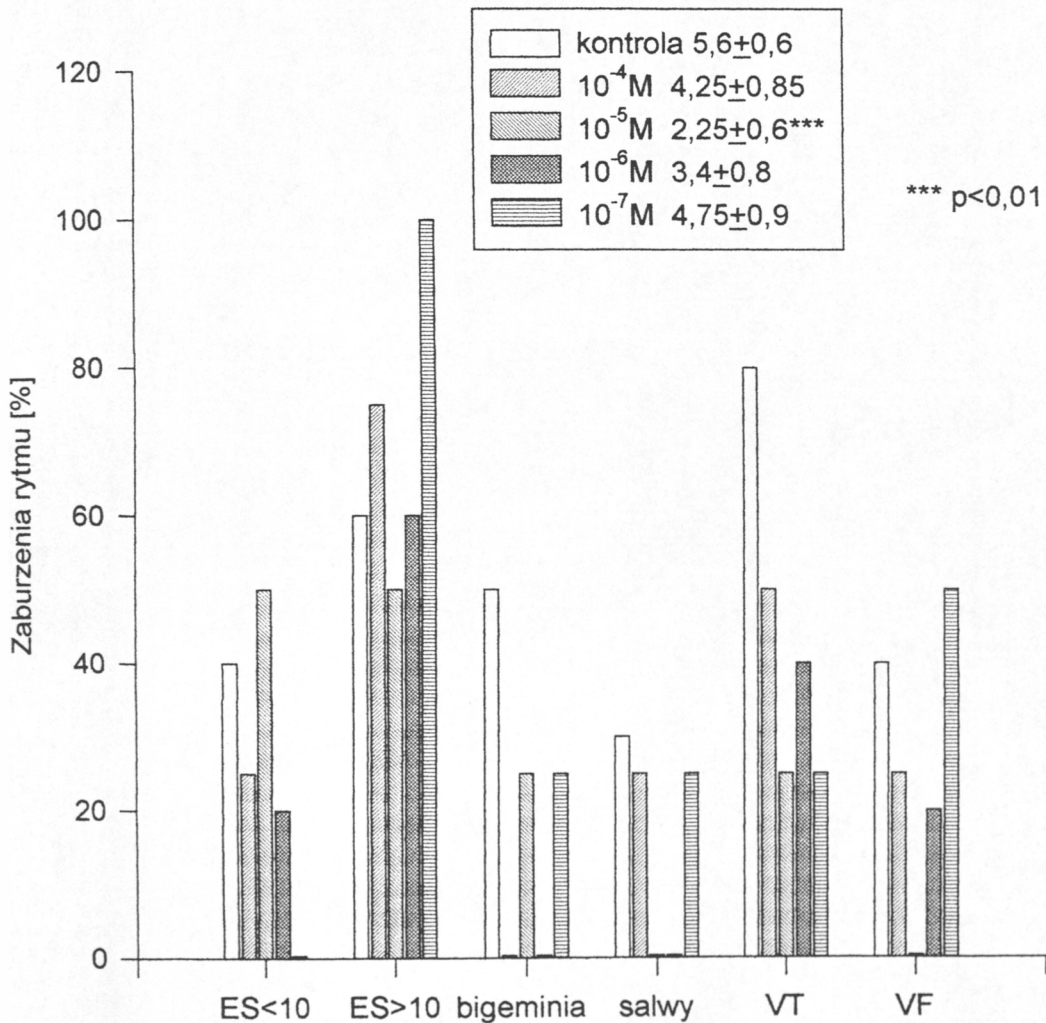
Ryc.22. Wpływ chlorowodorku 1- $\{\beta$ -acetylo- γ -[4-(o-chlorofenylo)-1-piperazyno]-propylo}-pirolidynonu-2 (**16**) na niemiaryłość wyosobnionego serca szczura (ES-ekstrasystole, VT-tachykardia komorowa, VF-fibrylacja)

Związek 17, podany w zakresie stężeń 10^{-7} - 10^{-4} M, zapobiegał występowaniu fibrylacji, zmniejszał objawy częstoskurczu komorowego o 63% (w stęż. 10^{-6} M) oraz salw o 30% (w stęż. 10^{-4} - 10^{-6} M), (Ryc.23).

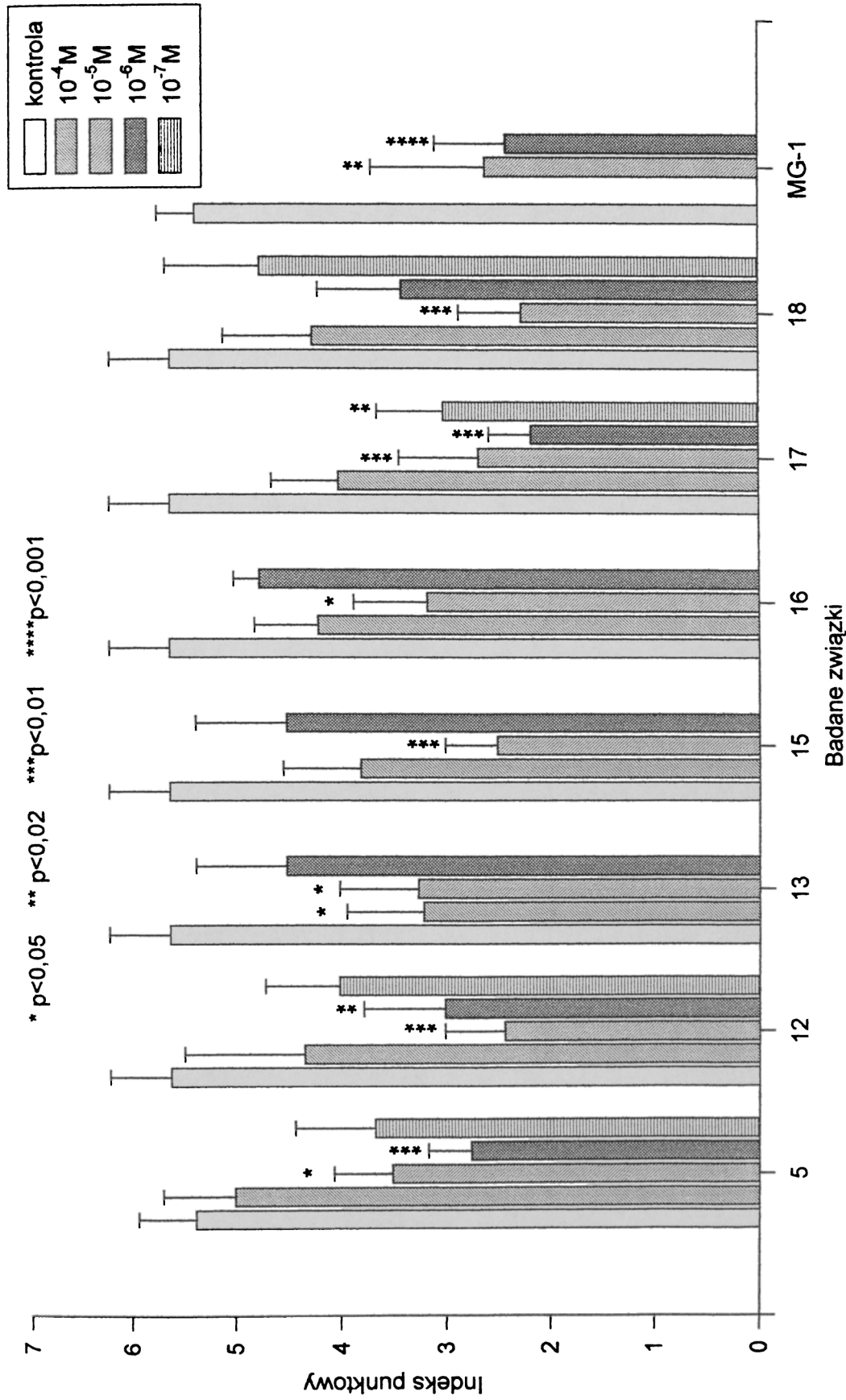


Ryc.23. Wpływ chlorowodorku 1-{ β -acetylo- γ -[4-(o-metoksyfenylo)-1-piperazyno]-propylo}-pirolidynonu-2 (17) na niemiarywość wyosobnionego serca szczura (ES-ekstrasystole, VT-tachykardia komorowa, VF-fibrylacja)

Związek 18 w stężeniu 10^{-7}M nie chronił przed wystąpieniem fibrylacji, natomiast zmniejszał częstoskurcz komorowy o 55%. Podany w stężeniu 10^{-6}M zmniejszał migotanie komór o 20% oraz częstoskurcz komorowy o 40%, salwy o 30% i bigemię o 50%. W stężeniu 10^{-5}M zmniejszał fibrylację o 40%, częstoskurcz komorowy o 55%, salwy o 30% oraz bigemię o 25%. Podanie stężenia 10^{-4}M prowadziło do zaniku aktywności przeciwartmicznej (Ryc.24).



Ryc.24. Wpływ dimaleiniainu 1-[β -hydroksy- γ -[4-(o-metoksyfenylo)-1-piperazyno]-propylo]-pirolidyny (**18**) na niemiarnowość wyosobnionego serca szczura (ES-ekstrasystole, VT-tachykardia komorowa, VF-fibrylacja)



Ryc.25. Porównanie indeksów punktowych badanych związków w modelu arytmii wywołanej okluzją i reperfuzyą naczyń wieńcowego

Tabela 17. Zmiany wypływu wieńcowego w czasie okluzji i reperfuzji lewej tętnicy wieńcowej wyosobnionego serca szczura

Związek	Stężenie (M)	Wypływ wieńcowy (ml/min)		
		Przed okluzją	Okluzja	Reperfuzja
kontrola		$5,48 \pm 0,18$	$4,32 \pm 0,19^{****}$	$5,8 \pm 0,16$
5	10^{-4}	$4,5 \pm 0,34$	$3,7 \pm 0,29$	$4,8 \pm 0,3$
	10^{-5}	$4,3 \pm 0,19$	$3,47 \pm 0,14^{***}$	$4,25 \pm 0,22$
	10^{-6}	$4,55 \pm 0,19$	$3,75 \pm 0,16^{***}$	$4,77 \pm 0,18$
	10^{-7}	$3,65 \pm 0,27$	$2,76 \pm 0,23^*$	$4,06 \pm 0,65$
12	10^{-4}	$5,56 \pm 0,24$	$4,56 \pm 0,19^{***}$	$5,7 \pm 0,14$
	10^{-5}	$5,61 \pm 0,2$	$4,57 \pm 0,21^{***}$	$5,65 \pm 0,3$
	10^{-6}	$5,33 \pm 0,27$	$4,33 \pm 0,31^*$	$5,66 \pm 0,26$
	10^{-7}	$4,92 \pm 0,19$	$4,1 \pm 0,17^{**}$	$5,15 \pm 0,1$
13	10^{-4}	$5,22 \pm 0,32$	$4,14 \pm 0,36^*$	$5,2 \pm 0,2$
	10^{-5}	$5,15 \pm 0,36$	$4,3 \pm 0,37^*$	$5,07 \pm 0,33$
	10^{-6}	$5,4 \pm 0,4$	$4,42 \pm 0,36$	$5,57 \pm 0,24$
15	10^{-4}	$5,46 \pm 0,27$	$4,66 \pm 0,26$	$5,62 \pm 0,25$
	10^{-5}	$5,9 \pm 0,19$	$4,98 \pm 0,1^{***}$	$5,9 \pm 0,12$
	10^{-6}	$5,3 \pm 0,25$	$4,4 \pm 0,24^*$	$5,7 \pm 0,26$
16	10^{-4}	$4,5 \pm 0,25$	$3,6 \pm 0,4^{**}$	$4,8 \pm 0,2$
	10^{-5}	$4,56 \pm 0,5$	$3,65 \pm 0,3^{**}$	$4,9 \pm 0,4$
	10^{-6}	$5,0 \pm 0,3$	$4,1 \pm 0,3^*$	$5,2 \pm 0,32$
17	10^{-4}	$5,58 \pm 0,25$	$4,73 \pm 0,32^*$	$5,66 \pm 0,23$
	10^{-5}	$5,21 \pm 0,34$	$4,06 \pm 0,28^*$	$5,33 \pm 0,26$
	10^{-6}	$5,16 \pm 0,2$	$4,1 \pm 0,23^{***}$	$5,25 \pm 0,27$
	10^{-7}	$5,6 \pm 0,3$	$4,6 \pm 0,2^*$	$5,72 \pm 0,2$
18	10^{-4}	$5,6 \pm 0,21$	$4,6 \pm 0,3^{**}$	$5,4 \pm 0,3$
	10^{-5}	$5,3 \pm 0,2$	$4,1 \pm 0,4^{***}$	$5,6 \pm 0,25$
	10^{-6}	$5,0 \pm 0,33$	$4,2 \pm 0,4^*$	$5,1 \pm 0,2$
	10^{-7}	$5,3 \pm 0,4$	$4,2 \pm 0,2^*$	$5,4 \pm 0,2$

Wyniki przedstawiają średnie z 6-8 eksperymentów $\pm$ SEM

Różnice statystycznie istotne w stosunku do kontroli przed okluzją (test ANOVA)

* $p < 0,05$; ** $p < 0,02$; *** $p < 0,01$; **** $p < 0,001$

Ad.3.7. Powinowactwo do receptorów adrenergicznych

Badania przeprowadzone w Instytucie Farmakologii PAN w Krakowie wykazały, że badane związki wypierają [^3H] Prazosynę i/lub [^3H] Klonidynę ze specyficznych miejsc wiążących w korze mózgowej szczura. Z porównania obliczonych wartości K_i wynika, że wszystkie badane związki wykazały powinowactwo do receptora α_1 -adrenergicznego, przy czym najsilniejsze powinowactwo posiadają związki 5, 14, 15 i 16, nieco słabsze związki 12 i 17, a następnie związki 13 i 18. Wszystkie badane związki, z wyjątkiem związku 13 wykazały także powinowactwo do receptora α_2 -adrenergicznego, przy czym powinowactwo do receptora α_2 -adrenergicznego jest około 6 - 70-krotnie słabsze niż do receptora α_1 -adrenergicznego (Tab.18). Jedynie związek 15 wykazał słabe powinowactwo do receptora β -adrenergicznego.

Tabela 18. Powinowactwo badanych związków do receptorów adrenergicznych

Związek	[^3H] Prazosyna α_1 K_i (μM)	[^3H] Klonidyna α_2 K_i (μM)	[^3H] CGP β K_i (μM)
5	0,58	10	> 100
12	1,3	40,5	> 100
13	2,6	> 100	> 100
14	0,269	5,3	> 100
15	0,27	16,2	54
16	0,158	11,2	> 100
17	1,3	80	> 100
18	2,9	16,9	> 100
MG-1	1,9	29	> 100

Ad.3.8. Wpływ na mięśniówkę gładką wyosobnionego jelita cienkiego królika

Większość badanych związków, podawanych w zakresie stężeń 10^{-8}M - 10^{-4}M , nie wywiera znamiennego wpływu na mięśniówkę gładką wyosobnionego jelita cienkiego królika. Jedynie związek 15, począwszy od stężenia 10^{-5}M , statystycznie znamienne, zmniejszał spontaniczne ruchy perystaltyczne wyosobnionego jelita królika w granicach 17,7 - 23% oraz ich amplitudę o 42,5% (w stężeniu 10^{-4}M). Natomiast związek 5, również od stężenia 10^{-5}M , zmniejszał znamienne jedynie amplitudę skurczów o 37 - 62% (Tab.19 i 20).

Tabela 19. Wpływ badanych związków na spontaniczne skurcze wyosobnionego jelita cienkiego królika

Badany związek	Częstość skurczów/min.					
	0	10^{-8}M	10^{-7}M	10^{-6}M	10^{-5}M	10^{-4}M
5	13,3±1,8	13,7±0,7	13,3±0,7	14,0±0,6	14,3±0,9	13,7±0,7
12	12,7 ± 1,2	12,0 ± 1,0	11,7 ± 1,2	10,7 ± 1,2	10,3 ± 0,9	9,7 ± 0,3
13	13,7 ± 1,4	13,3 ± 1,2	13,0 ± 1,5	12,7 ± 1,3	12,0 ± 1,0	11,0 ± 1,1
15	11,3 ± 0,9	10,0 ± 0,6	10,0 ± 0,6	9,7 ± 0,3	9,3 ± 0,3 *	8,7 ± 0,7 ***
16	12,7 ± 1,4	12,3 ± 1,2	12,0 ± 1,1	11,3 ± 1,2	11,0 ± 1,1	10,7 ± 1,4
17	10,7 ± 0,3	10,7 ± 0,3	11,1 ± 0,6	10,7 ± 0,3	10,3 ± 0,3	10,3 ± 0,3
18	15,0± 0,6	15,3 ± 0,3	15,3 ± 0,3	15,3 ± 0,3	15,3 ± 0,3	14,3 ± 0,3

Wyniki przedstawiają średnie z 4 eksperymentów ± SEM . Różnica statystycznie znamienna w porównaniu z kontrolą przed podaniem związku (test ANOVA); * p < 0,05 *** p < 0,01

Tabela 20. Wpływ badanych związków na mięśniówkę gładką wyosobnionego jelita cienkiego królika

Badany związek	Amplituda (cm)					
	0	10^{-8}M	10^{-7}M	10^{-6}M	10^{-5}M	10^{-4}M
5	$10,8 \pm 0,6$	$8,3 \pm 1,6$	$10,0 \pm 0,8$	$10,2 \pm 0,7$	$6,8 \pm 2,2$ *	$4,1 \pm 1,3$ ***
12	$12,8 \pm 1,5$	$12,7 \pm 1,6$	$12,4 \pm 1,4$	$11,1 \pm 1,5$	$11,0 \pm 1,5$	$10,4 \pm 1,5$
13	$9,9 \pm 1,0$	$9,7 \pm 1,1$	$9,2 \pm 0,7$	$8,9 \pm 0,6$	$8,7 \pm 0,9$	$7,7 \pm 0,7$
15	$7,3 \pm 1,3$	$6,8 \pm 1,1$	$6,7 \pm 1,2$	$6,2 \pm 1,1$	$6,1 \pm 1,0$	$4,2 \pm 0,2$ *
16	$8,7 \pm 1,3$	$8,6 \pm 1,3$	$8,1 \pm 1,1$	$7,8 \pm 1,2$	$7,7 \pm 1,3$	$7,1 \pm 1,1$
17	$4,8 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,6$	$5,0 \pm 0,4$	$4,9 \pm 0,6$	$4,8 \pm 0,4$	$4,9 \pm 0,2$
18	$10,8 \pm 0,2$	$10,1 \pm 0,3$	$10,4 \pm 0,2$	$11,6 \pm 0,5$	$11,7 \pm 0,5$	$10,2 \pm 0,9$

Wyniki przedstawiają średnie z 4 eksperymentów $\pm$ SEM. Różnica statystycznie znamiennej w porównaniu z kontrolą przed podaniem związku (test ANOVA); * $p < 0,05$ *** $p < 0,01$

Ad.3.9. Wpływ na ośrodkowy układ nerwowy

Ad.3.9.1. Wpływ na ruchliwość spontaniczną

Związek 5, podany dożołądkowo w dawce 120 mg/kg ($1/5 LD_{50}$) na 30 minut przed badaniem, zmniejszał znamienne ruchliwość spontaniczną myszy o 77,5%. Podanie dawki 60 mg/kg nie zmieniało istotnie ruchliwości zwierząt, a nawet nieznacznie ją zwiększało (Tab.21).

Związek 12, podany w dawkach odpowiadających $1/5$ i $1/10 LD_{50\text{ p.o.}}$ (160 i 80 mg/kg), w dawce wyższej zmniejszał ruchliwość o 56,4% ($p<0,01$), a w dawce niższej o 39,9% ($p<0,05$), (Tab.21). Natomiast podany w $1/20 LD_{50}$ (40 mg/kg) hamował ruchliwość zwierząt o 28,8% (Tab.21).

Związek 13, w zakresie dawek $1/5 - 1/10 LD_{50}$, zmniejszał znamienne ruchliwość zwierząt o około 83 - 81%, a w dawce odpowiadającej $1/20 LD_{50}$ o 46,2% (Tab.21).

Związek 15, podany w dawkach $1/5, 1/7, 1/10 LD_{50}$, jedynie w dawkach wyższych znamienne zmniejszał ruchliwość zwierząt o ok. 58 - 44%, natomiast związek 16 w dawce $1/5 LD_{50}$ zmniejszał ruchliwość spontaniczną myszy o 63% ($p<0,02$), a w dawce niższej ($1/10 LD_{50}$) o 49% ($p<0,05$), (Tab.21).

Związek 17, podany w dawkach odpowiadających $1/5, 1/10$ i $1/20 LD_{50\text{ p.o.}}$, w porównaniu do grupy kontrolnej hamował ruchliwość zwierząt odpowiednio o ok. 66, 51 i 27% (Tab.21).

Związek 18 w zakresie dawek $1/5 - 1/10 LD_{50\text{ p.o.}}$ zmniejszał ruchliwość zwierząt w granicach 67 - 43% (Tab.21).

Związek odniesienia MG-1, podany w dawce odpowiadającej $1/20, 1/10$ i $1/5 LD_{50}$, zmniejszał statystycznie istotnie ruchliwość myszy odpowiednio o 21, 33 i 79% [30].

Tabela 21. Wpływ badanych związków na ruchliwość spontaniczną myszy

Związek	Dawka mg/kg (p.o.)	Ilość ruchów $\pm$ SEM	Zmniejszenie ruchliwości (%)	ED ₅₀ (mg/kg)
kontrola	0,9% NaCl	276,1 $\pm$ 32,2		
5	120 (1/5 LD ₅₀)	62,2 $\pm$ 9,0****	77,5	-
	60 (1/10 LD ₅₀)	314,7 $\pm$ 24,8	-	
12	160 (1/5 LD ₅₀)	120,2 $\pm$ 23,5***	56,4	121,7 (96-142)
	80 (1/10 LD ₅₀)	166,0 $\pm$ 33,7*	39,9	
	40 (1/20 LD ₅₀)	196,4 $\pm$ 23,1	28,8	
13	119 (1/5 LD ₅₀)	47,0 $\pm$ 12,1****	83	27,6 (22,1-34,2)
	59,5 (1/10 LD ₅₀)	52,2 $\pm$ 17****	81,1	
	29,7 (1/20 LD ₅₀)	148,6 $\pm$ 12,6*	46,2	
15	69,6 (1/5 LD ₅₀)	116,6 $\pm$ 28,1***	57,7	60,6 (48,2-80,1)
	50,0 (1/7LD ₅₀)	154,3 $\pm$ 12,0*	44,1	
	34,8 (1/10 LD ₅₀)	269,1 $\pm$ 43,5	2,5	
16	80,0 (1/5 LD ₅₀)	102,0 $\pm$ 3,7**	63	39,1 (36,2-42,1)
	40,0 (1/10 LD ₅₀)	140,0 $\pm$ 8,2*	49,3	
	20,0 (1/20 LD ₅₀)	168,7 $\pm$ 21,0	38,8	
17	146,6 (1/5 LD ₅₀)	93,0 $\pm$ 12***	66,3	79,2 (68,2-84,2)
	73,3 (1/10 LD ₅₀)	135,4 $\pm$ 27,8****	50,9	
	36,6 (1/20 LD ₅₀)	202,0 $\pm$ 11,7	26,8	
18	140,0 (1/5LD ₅₀)	91,2 $\pm$ 8,3****	66,9	80,5 (70-92,2)
	70,0 (1/10 LD ₅₀)	157,5 $\pm$ 12,7	42,9	
	35,0 (1/20 LD ₅₀)	196,5 $\pm$ 20,7	28,8	

Wyniki przedstawiają średnie z 6 zwierząt $\pm$ SEM. Różnica statystycznie znamienne w porównaniu z kontrolą (test t-Studenta) * p < 0,05; ** p < 0,02; *** p < 0,01; **** p < 0,001

Ad.3.9.2. Wpływ na czas trwania snu tiopentalowego

Z badanych związków trzy, a mianowicie związki 5, 13 i 17, podane dożołądkowo na 30 minut przed dootrzewnowym podaniem tiopentalu istotnie przedłużały czas trwania snu.

I tak, związki 5, 13 i 17, podane w $1/5 LD_{50p.o.}$ przedłużały czas trwania snu tiopentalowego odpowiednio o ok. 89, 102 i 89% (Tab.22), natomiast podane w $1/10 LD_{50p.o.}$, podobnie jak pozostałe związki, nie wpływały znamienne na czas trwania snu tiopentalowego (Tab.22).

Związek MG-1 podany w dawce 25 i 50 mg/kg ($1/10$ i $1/5 LD_{50}$) istotnie przedłużał czas trwania snu narkotycznego odpowiednio o 59 i 138% [30].

Tabela 22. Wpływ badanych związków na czas trwania snu tiopentalowego

Związek	Dawka mg/kg (p.o.)	Średni czas trwania snu (min)	Przedłużenie czasu trwania snu (%)
kontrola	0,9% NaCl	$57,25 \pm 8,3$	
5	120 ($1/5 LD_{50}$)	$108,4 \pm 17,2^{**}$	89,3
	60 ($1/10 LD_{50}$)	$48,16 \pm 12,8$	-
12	160 ($1/5 LD_{50}$)	$89,4 \pm 14$	56,1
	80 ($1/10 LD_{50}$)	$72,4 \pm 20$	26,4
13	119 ($1/5 LD_{50}$)	$115,8 \pm 22^{**}$	102,2
	59,5 ($1/10 LD_{50}$)	$90,6 \pm 14,3$	58,2
15	69,6 ($1/5 LD_{50}$)	$70,2 \pm 12,1$	22,6
	34,8 ($1/10 LD_{50}$)	$43,6 \pm 9,1$	-
16	80,0 ($1/5 LD_{50}$)	$74,4 \pm 19,1$	29,9
	40,0 ($1/10 LD_{50}$)	$73,5 \pm 9,7$	28,4
17	146,6 ($1/5 LD_{50}$)	$108 \pm 14,5^{***}$	88,6
	73,3 ($1/10 LD_{50}$)	$75,4 \pm 11,9$	31,7
18	140,0 ($1/5 LD_{50}$)	$93,8 \pm 16,8$	63,8
	70,0 ($1/10 LD_{50}$)	$68,6 \pm 14$	19,8

Wyniki przedstawiają średnie z 6 zwierząt $\pm$ SEM. Różnica statystycznie znamienna w porównaniu z kontrolą (test t-Studenta) ** $p < 0,02$; *** $p < 0,01$

DYSKUSJA

Praca ta jest kontynuacją badań chemiczno-farmakologicznych prowadzonych w Katedrze Chemii Farmaceutycznej i Pracowni Wstępnych Badań Farmakologicznych w grupie pochodnych pirolidynonu-2 działających na układ krążenia.

Na podstawie wcześniej wykonanych badań w grupie N-(β -hydroksy- γ -amino)propylowych pochodnych pirolidynonu-2 stwierdzono, że związki zawierające we fragmencie aminowym ugrupowanie N-arylopiperazynowe działają przeciwartmicznie i hipotensyjnie [30,32,33,72,75,77]. Z grupy badanych związków wyselekcjonowano związek MG-1, czyli 1-[2-hydroksy-3(4-fenylpiperazyno)propylo]pirolidynon-2, o działaniu przeciwartmicznym, hipotensyjnym i α -adrenolitycznym. W badaniach wykazano, że przeciwartmiczne i hipotensyjne działanie tego związku koreluje z jego właściwościami α_1 - i α_2 -adrenolitycznymi, a właściwości te prawdopodobnie zależą od obecności w cząsteczce ugrupowania fenylopiperazynowego [30,32]. W związku z czym podjęto dalszą syntezę nowych analogów związku MG-1. Modyfikacje struktury macierzystej objęły:

1. fragment arylopiperazynowy i grupę hydroksylową
2. fragment aminowy
3. pierścień pirolidynonu-2.

Modyfikacja grupy arylopiperazynowej polegała na wprowadzeniu do pierścienia fenyłowego w położenie *orto*- lub *para*- atomu chloru (zw. 15 i 13), lub grupy metoksyłowej (zw. 12 i 18). Wprowadzenie grupy metoksyłowej do fragmentu fenylopiperazyny wynikało z wcześniejszych doniesień świadczących o tym, że obecność podstawnika metoksyfenylopiperazynowego wpływa na zwiększenie aktywności przeciwartmicznej i hipotensyjnej [32,50]. Dalsze modyfikacje fragmentu fenylopiperazyny polegały na wymianie samego pierścienia fenyłowego na pirymidynowy (zw. 11) lub wymianie tego ugrupowania na ugrupowanie difenylometylopiperazynowe (zw. 14). Wcześniejsze badania wykazały również, że O-acyłowa pochodna związku MG-1, mimo zablokowania grupy hydroksylowej, działa ochronnie w arytmii adrenalinowej [78], stąd otrzymano dalsze O-acyłowe pochodne wyżej wymienionych analogów związku MG-1 (zw. 12 i 15) ze zmodyfikowanym fragmentem arylopiperazynowym (zw. 16 i 17).

Modyfikacja fragmentu aminowego związku MG-1 polegała na zastąpieniu ugrupowania arylopiperazynowego podstawnikami: *orto*-, *para*- chlorobenzyl-, benzyl-,

para-fluorobenzyl-, *iso*-propyl-, *tert*-butyl-, *difenylometylo*-, *metoksybenzyl*- i *3,4-dimetoksybenzyl*oaminowym (zw. 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10). Zastąpienie grupy fenylopiperazynowej w strukturze MG-1 I-rzędowymi alkiloaryloaminami pozwoliło uzyskać związki, w których pozostało jedno centrum zasadowe oraz fragment lipofilowy pierścienia aromatycznego lub grup alkilowych.

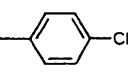
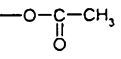
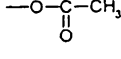
Wreszcie aby odpowiedzieć na pytanie, który fragment struktury odpowiada za działanie biologiczne, pierścień pirolidynonu-2 zastąpiono układem pirolidyny (zw. 5 i 18), co wpłynęło na charakter chemiczny związku poprzez obecność drugiego centrum zasadowego.

Zgodnie z przedstawionym celem pracy przebadano aktywność przeciwartmiczną, hipotensyjną i adrenolityczną 18 nowych pochodnych pirolidynonu-2.

Spośród nowych N-podstawionych pochodnych pirolidynonu-2 na szczególną uwagę zasługuje siedem związków, których struktury zebrano w tabeli 23.

Tabela 23. Schematyczna struktura aktywnych N-(β -hydroksy- γ -amino-propylowych) pochodnych pirolidynonu-2

$$\begin{array}{c} R_1 \\ | \\ CH_2-CH-CH_2-N \quad \text{---} \quad N-R_3 \\ | \\ R_2 \end{array}$$

Związek	R ₁	R ₂	R ₃
5		—OH	
12		—OH	
13		—OH	
15		—OH	
16			
17			
18		—OH	

Związki te, podane dożylnie, znamienne wydłużały odcinek P-Q i/lub Q-T, zespół QRS. Podobne zmiany w elektrokardiogramie obserwowano po podaniu MG-1 oraz leków przeciwaritmicznych zaliczanych do klasy Ia wg podziału Vaughan - Williams'a [30,32,59,75,114].

Podane dożylnie na 15 minut przed arytmogেনem, zmniejszały lub zapobiegały przedwczesnym pobudzeniom nadkomorowym i komorowym, indukowanym adrenaliną. Jak wynika z porównania wartości ED_{50} oraz indeksów terapeutycznych, najkorzystniejsze działanie przeciwaritmiczne wykazał związek 17. Wartość ED_{50} dla tego związku wynosi 4,2 (2,5 - 6,9) mg/kg, a indeks terapeutyczny 83,3 i jest on 3-krotnie korzystniejszy od indeksu związku odniesienia MG-1 ($IT = 21$; $ED_{50} = 7,6$ (6,9 - 8,4) mg/kg) oraz ok. 2-krotnie korzystniejszy od propranololu ($IT = 37$; $ED_{50} = 1,05$ (0,64 - 1,73) mg/kg), (Ryc.1). Nieco silniejszy od MG-1 efekt obserwowano także po podaniu związku 5 i 15. Wartość ED_{50} dla zw. 5 wynosi 2,5 (2,25 - 2,8) mg/kg, $IT = 23,6$, a dla zw. 15 $ED_{50} = 2,7$ (1,95 - 3,7) mg/kg, a indeks terapeutyczny 29,6. Efekt przeciwaritmiczny związków 12, 13, 16 i 18 jest słabszy od związku odniesienia (Ryc.1). Cztery związki, a mianowicie zw. 5, 12, 15 i 17, podane dożołądkowo na 1 godzinę przed adrenaliną, chroniły znamienne przed wystąpieniem zaburzeń poadrenalinowych, ale obserwowany efekt jest słabszy od związku MG-1, czy propranololu i chinidyny (Ryc.4).

W modelu arytmii barowej u znieczulonego szczura znamienne aktywność wykazały związki 5, 12, 13, 15, 16, 17 i 18, przy czym najkorzystniejszy efekt przeciwaritmiczny wywierał związek 5 i 17 (ED_{50} dla zw. 5 = 2,9 (2,4 - 3,5) mg/kg, $IT = 20,3$; ED_{50} dla zw. 17 = 17,5 (10,3 - 29,7) mg/kg, $IT = 20$). Związek 12 wykazał aktywność zbliżoną do związku odniesienia (ED_{50} dla zw. 12 = 11,0 (7,9 - 15,3) mg/kg, $IT = 13,2$, a dla MG-1 $ED_{50} = 11,3$ (6,45 - 19,2) mg/kg, $IT = 14$), a związek 15 ($ED_{50} = 7,1$ (4,7 - 10,6) mg/kg, $IT = 11,3$) nieco słabszą (Ryc.2). Najśłabszą aktywność przeciwaritmiczną w tym teście wykazały związki 13, 16 i 18, których wartości ED_{50} są niemożliwe do policzenia ze względu na aktywność poniżej 50% w zakresie dawek 1/10 - 1/5 LD_{50} .

Z przeprowadzonych badań wynika, że związki 5, 12, 15 i 18, podane na szczycie arytmii, znosiły niemiarowości poadrenalinowe, przy czym najsilniejsze działanie lecznicze wykazał związek 5 ($ED_{50} = 2,35$ (1,66 - 3,75) mg/kg, $IT = 25$). Obserwowany efekt przeciwaritmiczny jest tylko nieznacznie słabszy od związku odniesienia MG-1 ($ED_{50} = 5,2$ (3,1 - 8,0) mg/kg, $IT = 31$), (Ryc.5). Nieco słabsze, porównywalne z chinidyną, działanie

lecznicze wykazał związek 12 ($ED_{50} = 9,5$ (6,3 - 14,2) mg/kg, IT = 15,3; ED_{50} dla chinidyny = 3,2 (1,7 - 6,0) mg/kg, IT = 15,3). Natomiast związek 15 ($ED_{50} = 10,5$ (8,27 - 13,3) mg/kg, IT = 7,6) i 18 ($ED_{50} = 21$ (15,7 - 28,1) mg/kg, IT = 6,9) działał ok. 3 - 4-krotnie słabiej od MG-1 (Ryc.5). Związki 13, 16 i 17, podane na szczycie arytmii, jedynie częściowo zmniejszały zaburzenia poadrenalinowe; wartości ED_{50} niemożliwe do policzenia ze względu na aktywność poniżej 50%. Wszystkie badane związki podane na szczycie arytmii indukowanej chlorkiem baru, podobnie jak związek odniesienia, nie wykazały aktywności przeciwaritmicznej.

Curtis i współ. [27] wykazali, że komorowe zaburzenia rytmu pracy serca szczura, towarzyszące okluzji i reperfuzji naczyń wieńcowego, w badaniach *in vivo* jak i *in vitro*, mogą być przydatne w badaniu skринingowym nowych związków o spodziewanym działaniu przeciwaritmicznym. Przeprowadzone badania farmakologiczne wykazały, że związki 5, 12, 13, 15, 16, 17 i 18, podane w zakresie stężeń 10^{-7} - 10^{-4} M, zapobiegają reperfuzyjnym zaburzeniom rytmu wyosobnionego serca szczura. Najsilniejszy efekt przeciwaritmiczny wykazał związek 17, który znamienne zmniejszał zaburzenia rytmu w zakresie stężeń 10^{-7} - 10^{-5} M oraz związki 12 i 5, które znamienne zmniejszały przedwczesne pobudzenia komorowe i fstrylacje w stężeniach 10^{-6} - 10^{-5} M. Obserwowany efekt jest silniejszy lub porównywalny z MG-1 (Ryc.25). Związek 13 znamienne zmniejszał reperfuzyjne zaburzenia rytmu w stęż. 10^{-5} - 10^{-4} M, a związki 15, 16 i 18 były aktywne jedynie w stęż. 10^{-5} M.

Wpływ badanych związków na ciśnienie skurczowe i rozkurczowe krwi normotensyjnych szczurów mierzono metodą krwawą. Z badań wynika, że jedynie związki 12, 13, 15, 16 i 17 podane dożylnie wywierają istotne działanie hipotensyjne. Najsilniejszy, znamieny efekt hipotensyjny, utrzymujący się ponad 60 min., obserwowano po podaniu związku 12 i 17. Obserwowana aktywność hipotensyjna zw. 12 i 17 jest silniejsza lub porównywalna z MG-1, natomiast aktywność hipotensyjna związków 13, 15 i 16 jest słabsza od aktywności związku odniesienia. Co więcej związki 12, 13, 15 i 17 wykazały znamieny efekt hipotensyjny również po podaniu dożołądkowym.

W celu wyjaśnienia mechanizmu hipotensyjnego działania związków 5, 12, 13, 15, 16, 17 i 18 oznaczono ich wpływ na presyjne działanie amin katecholowych tj. adrenaliny, noradrenaliny, metoksaminy, tyraminy oraz DMPP (dimetylofenylopiperyliny). W badaniach wykazano, że związki 12, 13, 14, 15, 16, 17 i 18 hamują znamienne, a związek 5 nieznamienne, presyjne działanie adrenaliny, nie wpływając na drugą, hipotensyjną fazę

działania adrenaliny, co może sugerować działanie α -adrenolityczne ($12 > 17 > 15 > 16 > 14 > 13 > 18$). Znoszenie presyjnego działania adrenaliny na ciśnienie tętnicze krwi przyjmowane jest przez wielu autorów jako wynik antagonizmu do receptora α_1 -adrenergicznego [49,67,86,101]. Wszystkie stosowane w terapii leki blokujące receptory α_1 - oraz α_1 - i α_2 -adrenergiczne znoszą presyjne działanie adrenaliny [19,23,41,67,85]. Z kolejnej obserwacji wynika, że związki 12, 16 i 17 antagonizują również presyjne działanie noradrenaliny, natomiast związki 13 i 15 nieznacznie, statystycznie nieznamiennie, osłabiają tę odpowiedź. Z kolei podanie związku 5, 14 i 18 nieznacznie potęgowało presyjne działanie noradrenaliny - nieselektywnego agonisty receptora α_1 - i α_2 -adrenergicznego. Obserwowany efekt sugeruje, że związki 5, 14 i 18 mogą blokować receptory α_2 -adrenergiczne i zwiększać uwalnianie noradrenaliny. Związki 12, 13, 15, 16 i 17 częściowo hamowały wzrost ciśnienia wywołany podaniem metoksaminy, selektywnego agonisty receptora α_1 , co wskazuje na antagonistyczne działanie w/w związków w stosunku do metoksaminy, podczas gdy związki 5, 14 i 18 nasilały odpowiedź po metoksaminie. Wcześniejsze podanie związków 12, 13, 15, 16 i 17 prowadziło do osłabienia presyjnej odpowiedzi po podaniu tyraminy i DMPP, podczas gdy wcześniejsze podanie związków 5, 14 i 18 praktycznie nie zmieniało presyjnej odpowiedzi po tyraminie, nieznamiennie zmniejszało (zw. 14) lub zwiększało presyjną odpowiedź po podaniu DMPP. Dane te wskazywałyby, że badane związki posiadają właściwości α_1 - i α_2 -adrenolityczne, przy czym związki 5, 14 i 18 mogą wykazywać silne powinowactwo zarówno do receptorów α_1 - jak i α_2 -adrenergicznych. Obserwowany efekt hipotensyjny jak i przeciwartrytmiczny może być wynikiem działania α -adrenolitycznego.

Z piśmiennictwa wiadomo bowiem, że α_1 - i α_2 -adrenolityki (prazosyna, fentolamina, yohimbina) zmniejszają objawy arytmii towarzyszące okluzji i reperfuzji naczyń wieńcowego *in vivo* i *in vitro* [7,12,61]. Dodatkowo antagoniści receptorów α -adrenergicznych w wyższych stężeniach blokują kanał sodowy i wywierają działanie błonowe "miejscowo znieczulające", co objawia się zmianami elektrofizjologicznymi we włóknach Purkiniego podobnymi do tych, jakie obserwuje się po podaniu leków przeciwartrytmicznych klasy I.

Wysunięte na podstawie badań farmakologicznych wnioski zostały potwierdzone badaniami biochemicznymi wykonanymi w Instytucie Farmakologii PAN. Badania te wykazały, że związki posiadające aktywność przeciwartrytmiczną i/lub hipotensyjną wypierają [H^3] prazosynę (K_i dla związku: $16 < 14 < 15 < 5 < 12 = 17 < 13 < 18$) i/lub [H^3] klonidynę

(K_i dla związku: $14 < 5 < 16 < 15 < 18 < 12 < 17$) ze specyficznych miejsc wiążących w korze mózgowej szczura, co świadczy o ich powinowactwie do receptorów α_1 - i/lub α_2 -adrenergicznych. Właściwości farmakologiczne tj. silne działanie przeciwartmiczne w modelu arytmii adrenalinowej, działanie hipotensyjne oraz hamowanie presyjnego działania adrenaliny czy noradrenaliny lub metoksaminy wskazują, że badane związki nie posiadają aktywności wewnętrznej, a więc - z wyjątkiem selektywnego do α_1 związku 13 - są antagonistami receptorów α_1 - i α_2 -adrenergicznych. Z analizy wyników badań biochemicznych wynika, że związki te mają około 6 - 70-krotnie większe powinowactwo do receptorów α_1 -adrenergicznych. Za większym powinowactwem w/w związków do receptorów α_1 -adrenergicznych przemawiają nie tylko wartości stałych inhibicji (im mniejsze K_i tym większe powinowactwo do receptora), ale również długotrwałe spadki ciśnienia tętniczego krwi obserwowane po ich podaniu. Jak wynika z piśmiennictwa [48] leki o selektywnym działaniu α_1 -adrenolitycznym (prazosyna, doksazosyna, terazosyna) wywierają znamienny, długotrwały efekt hipotensyjny, podczas gdy spadki ciśnienia obserwowane po podaniu nieselektywnych antagonistów α_1 - i α_2 - (fenoksybenzamina, fentolamina, tolazolina) są krótkotrwałe; do 10 - 20 minut [26,118].

Jak się powszechnie przyjmuje receptory α_1 -adrenergiczne występują postsynaptycznie w dużych ilościach w większości rejonów mózgu oraz w mięśniówce gładkiej [82,101,118]. Najważniejszym efektem ich pobudzenia jest skurcz naczyń krwionośnych i zwiększenie oporu naczyniowego. Ostatnio w rodzinie α_1 -adrenergicznych receptorów scharakteryzowano trzy podtypy: α_{1A} , α_{1B} i α_{1D} , które są różnie rozmieszczone w tkankach. Wiele danych eksperymentalnych wskazuje na to, że podtyp α_{1A} jest dominujący pod względem ilościowym i funkcjonalnym w obrębie ludzkiego gruczołu krokowego [4,36,38,39,43,53,64,65,83,110,115,118], natomiast podtyp α_{1B} pośredniczy w skurczu śledziony u szczura i dużych tętnic u ludzi, a podtyp α_{1D} pośredniczy w skurczu aorty szczura [51,104,120]. Rozwój technik biologii molekularnej pozwolił na sklonowanie 3 podtypów receptorów α_{1A} , α_{1B} i α_{1D} dla pewnych gatunków, włączając ludzki [29,35,45,115] i umożliwił poszukiwanie selektywnych antagonistów poszczególnych podtypów receptorów adrenergicznych. Badania te doprowadziły do opracowania pierwszego, wybiórczego antagonisty receptora α_{1A} -adrenergicznego - tamsulozyny [4,22,42,90,119]. Lek ten 12-krotnie silniej wiąże się z receptorami w ludzkim gruczole krokowym niż w aorcie [21,119]. Tak czystego efektu nie udało się uzyskać dla żadnego z innych badanych α_1 -blokerów. Dostępni

obecnie antagoniści receptora α_1 (prazosyna, doksazosyna, terazosyna, alfuzosyna) nie są selektywni dla poszczególnych podtypów receptora α_1 . Poznanie struktury, funkcji i podtypów receptora α_1 spowodowało ożywienie w poszukiwaniu nowych, selektywnych związków dla podtypu α_{1A} -adrenergicznego receptora, o spodziewanej skuteczności w terapii łagodnego rozrostu stercza, a mniejszym działaniu niepożądanym (ortostatyczne spadki ciśnienia, epizody utraty przytomności [44,88,89].

W tym świetle bardzo interesujące byłoby oznaczenie dla wyselekcjonowanych związków powinowactwa do poszczególnych podtypów receptorów α_1 -adrenergicznych. Za kontynuacją takich badań przemawia fakt, że fenoksybenzamina - nieselektywny antagonist receptorów α_1 - i α_2 -adrenergicznych - była dawniej stosowana w leczeniu łagodnego rozrostu gruczołu krokowego [1,20].

Receptory α_2 -adrenergiczne umiejscowione są presynaptycznie, jak i postsynaptycznie. Pobudzenie receptorów α_2 - presynaptycznych na zakończeniach adrenergicznych hamuje uwalnianie noradrenaliny, a pobudzenie postsynaptycznych receptorów α_2 -adrenergicznych w mięśniach gładkich prowadzi do ich skurczu [6,54,101,111], natomiast blokowanie receptorów α_2 -adrenergicznych presynaptycznych prowadzi do zwiększenia uwalniania noradrenaliny, a blokowanie receptorów α_2 -postsynaptycznych prowadzi do rozszerzenia mięśni gładkich [6,54,111,115]. Stąd w badaniach coraz częściej zwraca się uwagę na selektywność badanych związków w stosunku do pre- lub postsynaptycznych α_2 -receptorów adrenergicznych [111,115]. Lepsze poznanie rozmieszczenia, funkcji i podtypów receptora α_2 (α_{2A} , α_{2B} , α_{2C}) sprawia, że obecnie także poszukuje się selektywnych antagonistów receptorów α_2 -postsynaptycznych o działaniu wazodilatacyjnym, pozbawionych szeregu działań niepożądanych związanych przede wszystkim z zablokowaniem receptora α_2 -presynaptycznego [100]. W jakim stopniu wyselekcjonowane analogi związku MG-1 blokują receptory α_2 -postsynaptyczne mogą dać odpowiedź tylko dalsze planowane badania radioizotopowe.

Badane analogi związku MG-1 nie posiadają działania spazmolitycznego, a ich wpływ na ośrodkowy układ nerwowy (zmniejszenie ruchliwości, przedłużenie czasu trwania snu tiopentalowego) jest słabszy lub porównywalny ze związkiem MG-1.

Analiza uzyskanych wyników badań farmakologiczno-biochemicznych pozwoliła w drugim etapie pracy ustalić zależność pomiędzy strukturą a aktywnością przeciwarytmiczną, hipotensyjną i α -adrenolityczną. Z przeprowadzonej analizy wynika, że modyfikacja

fragmentu aminowego w strukturze MG-1 praktycznie zniósł aktywność przeciwartmiczną, hipotensyjną oraz powinowactwo do receptorów α -adrenergicznych. Jedynie związek 14 tj. z ugrupowaniem difenylometylopiperazynowym, w badaniach biochemicznych *in vitro* wypierał [3H] prazosynę i [3H] klonidynę ze specyficznych miejsc wiążących w korze mózgowej szczura, ale w testach *in vivo* nie wykazał aktywności przeciwartmicznej ani hipotensyjnej. Wykonane oznaczenia jego działania w stosunku do presyjnego działania noradrenaliny i metoksaminy w badaniach *in vivo* wykazały, że związek 14 nie wywiera działania antagonistycznego, ale potęguje presyjne działanie obu amin. Badania właściwości fizykochemicznych związków wykonane w Katedrze Chemii Farmaceutycznej wykazały, że związek ten jest najbardziej lipofilny [79]. Stąd jako najbardziej lipofilny może penetrować do OUN, gdzie blokuje głównie receptory α_2 -presynaptyczne i zwiększa uwalnianie noradrenaliny, co nie jest korzystne dla aktywności związku.

Zastąpienie pirolidynonu-2 układem pirolidyny nie zmieniło istotnie, w porównaniu do MG-1, aktywności przeciwartmicznej (zw. 5 i 18), ale ok. 2 - 3-krotnie zwiększyło powinowactwo do receptorów α_2 -adrenergicznych, a tym samym zniósł aktywność hipotensyjną.

Modyfikacje obejmujące fragment arylopiperazyny i grupy hydroksylowej doprowadziły do wyselekcjonowania 5 analogów związku MG-1 o porównywalnej lub silniejszej aktywności przeciwartmicznej i hipotensyjnej.

Z przeprowadzonej w tej grupie analizy zależności struktura a aktywność biologiczna jednoznacznie wynika, że jedynie związki posiadające w cząsteczce, podobnie jak MG-1, ugrupowanie fenylopiperazynopropylowe wypierają [3H] prazosynę (zw. 5, 12, 13, 15, 16, 17, 18) i [3H] klonidynę (zw. 5, 12, 15, 16, 17, 18) ze specyficznych miejsc wiążących w korze mózgowej szczura oraz posiadają działanie przeciwartmiczne i hipotensyjne. Wprowadzenie do pierścienia fenylogo atomu chloru w położenie *para*- lub *orto*- nie zmieniło profilu aktywności farmakologicznej związków 13 i 15, ale wydaje się, że położenie *orto*- jest korzystniejsze dla aktywności przeciwartmicznej w modelu arytmii adrenalinowej (zw. 15), a położenie *para*- dla aktywności hipotensyjnej i selektywności do receptora α_1 -adrenergicznego (zw. 13). Wprowadzenie grupy metoksylowej w położenie *orto*- oraz zacetylowanie grupy hydroksylowej spowodowało nasilenie efektu przeciwartmicznego i hipotensyjnego (zw. 17). Najprawdopodobniej wyższa aktywność związku 17 spowodowana jest działaniem samego związku jak i jego aktywnego metabolitu. Jest bowiem wysoce

prawdopodobne, że związek ten w ustroju ulega hydrolizie do związku 12. Potwierdzenie tej sugestii wymaga przeprowadzenia badań farmakokinetycznych.

Uzyskane wyniki pozostają w zgodzie z wcześniejszymi doniesieniami mówiącymi, że pochodne zawierające w swojej strukturze podstawnik *ortho*-metoksyfenylopiperazynowy wykazują powinowactwo do receptorów α -adrenergicznych oraz wywierają działanie hipotensyjne (urapidil, naftopidil, 5-metylourapidil, ARC-239, SL 89,0591, itd.), [9,38,50,84,86,87,93,94,103].

Reasumując - modyfikacje w grupie N-(β -hydroksy-) i N-(β -acetoksy)- γ -arylo piperazyno-propylowych pochodnych pirolidynonu-2 i pirolidyny doprowadziły do wyselekcjonowania pięciu aktywnych przeciwartmicznie i hipotensyjnie związków o działaniu α -adrenolitycznym. Działanie przeciwartmiczne i hipotensyjne badanych związków jest wynikiem blokady receptorów α -adrenergicznych, a te właściwości zależą od obecności w cząsteczce ugrupowania arylopiperazynopropylowego. Związki te ze względu na znamienne aktywność przeciwartmiczną i/lub hipotensyjną zasługują na dalsze badania i zostały zgłoszone do Urzędu Patentowego [31].

Analiza uzyskanych wyników badań farmakologicznych pozwoliła wskazać fragmenty struktury badanych cząsteczek decydujące o ich aktywności, określić bliżej rodzaj możliwych oddziaływań na poziomie molekularnym oraz poznać mechanizm działania tych związków.

Określenie zależności pomiędzy strukturą a działaniem w tej grupie połączeń, może być punktem wyjścia do dalszych prac obejmujących m.in. modelowanie cząsteczkowe.

WNIOSKI

1. Przeprowadzone badania farmakologiczno-biochemiczne pozwoliły wyselekcjonować pięć nowych N-(β -hydroksy- γ -amino)propylowych pochodnych pirolidynonu-2 o porównywalnej lub silniejszej od MG-1 aktywności przeciwartymicznej, hipotensyjnej i α_1 - i α_2 -adrenolitycznej.

2. Działanie przeciwartymiczne i hipotensyjne wyselekcjonowanych struktur jest wynikiem blokady receptorów α_1 - i α_2 -adrenergicznych.

3. Analiza zależności pomiędzy strukturą a aktywnością farmakologiczną pozwala stwierdzić, że:

a) jedynie związki posiadające w cząsteczce, podobnie jak MG-1, ugrupowanie fenylopiperazynowe wypierają [3H] prazosynę i [3H] klonidynę ze specyficznych miejsc wiążących w korze mózgowej szczura oraz posiadają działanie przeciwartymiczne i hipotensyjne

b) zastąpienie pierścienia pirolidynonu-2 układem pirolidyny nie zmienia istotnie aktywności przeciwartymicznej, ale zwiększa powinowactwo do receptorów α_2 -adrenergicznych i znosi aktywność hipotensyjną

c) modyfikacja fragmentu aminowego związku MG-1 polegająca na zastąpieniu ugrupowania arylopiperazynowego podstawnikami: *orto*-, *para*-chlorobenzyl-, *benzyl*-, *para*-fluorobenzyl-, *izo*-propyl-, *tert*-butyl-, *difenylometyl*-, *metoksybenzyl*- i *3,4-dimetoksybenzylaminowym* prowadzi do zaniku aktywności farmakologicznej.

STRESZCZENIE

Przebadano aktywność przeciwartmniczną, hipotensyjną i α -adrenolityczną 18 nowych pochodnych pirolidynonu-2, będących analogami związku MG-1 (1-[β -hydroksy- γ -(4-fenylpiperazyno)propylo]-pirolidynonu-2) o wykazanej uprzednio aktywności biologicznej.

Uzyskane wyniki badań farmakologiczno-biochemicznych pozwoliły na wyselekcjonowanie 5 analogów MG-1 o porównywalnej lub silniejszej aktywności przeciwartmniczej, hipotensyjnej i α_1 - α_2 -adrenolitycznej tj.: chlorowodorku 1-{ β -hydroksy- γ -[4-(o-metoksyfenylo)-1-piperazyno]propylo}-pirolidynonu-2 (zw.12), chlorowodorku 1-{ β -hydroksy- γ -[4-(p-chlorofenylo)-1-piperazyno]propylo}-pirolidynonu-2 (zw.13), chlorowodorku 1-{ β -hydroksy- γ -[4-(o-chlorofenylo)-1-piperazyno]propylo}-pirolidynonu-2 (zw.15), chlorowodorku 1-{ β -acetylo- γ -[4-(o-chlorofenylo)-1-piperazyno]propylo}-pirolidynonu-2 (zw.16), chlorowodorku 1-{ β -acetylo- γ -[4-(o-metoksyfenylo)-1-piperazyno]propylo}-pirolidynonu-2 (zw.17).

Analiza uzyskanych wyników badań farmakologiczno-biochemicznych pozwoliła na ustalenie zależności pomiędzy strukturą a aktywnością przeciwartmniczną, hipotensyjną i α -adrenolityczną. Z przeprowadzonej analizy wynika, że jedynie związki posiadające w cząsteczce, podobnie jak MG-1, ugrupowanie fenylpiperazynowe wypierają [3H] prazosynę i [3H] klonidynę ze specyficznych miejsc wiążących w korze mózgowej szczura oraz posiadają działanie przeciwartmniczne i hipotensyjne. Zastąpienie pierścienia pirolidynonu-2 układem pirolidyny nie zmienia istotnie, w porównaniu do MG-1, aktywności przeciwartmniczej, ale ok. 2 - 3-krotnie zwiększa powinowactwo do receptorów α_2 -adrenergicznych i znosi działanie hipotensyjne. Natomiast modyfikacja fragmentu aminowego związku MG-1 polegająca na zastąpieniu ugrupowania arylopiperazynowego podstawnikami: *orto*-, *para*-chlorobenzyl-, benzyl-, *para*-fluorobenzyl-, *izo*-propyl-, *tert*-butyl-, *difenylometyl*-, *metoksybenzyl*- i 3,4-dimetoksybenzylaminowym doprowadza do zaniku aktywności przeciwartmniczej, hipotensyjnej i α -adrenolitycznej.

PIŚMIENNICTWO

1. Abrams P.H, Shanb P.J.R, Stone R, Choa R.G.: Bladder outflow obstruction treated with phenoxybenzamine. Br. J. Urol. 1982, 54, 527-530.
2. Advani S.V., Bramah N.Singh: Pharmacodynamic, Pharmacokinetic and Antiarrhythmic Properties of d-Sotalol, Dextro-Isomer of Sotalol. Drugs 1995, 49(5): 664-679.
3. Bauman J.L.: Class III Antiarrhythmic Agents: The Next Wave. Pharmacotherapy 1997; 17(2 Pt 2): 76S-83S).
4. Barrow J.C., Nantermet P.G., Selnick H.G., Glass K.L., Rittle K.E., Gilbert K.F., Steele T.G., Homnick C.F., Freidinger R.M., Ransom R.W., Kling P., Reiss D., Broten T.P., Schorn T.W., Chang R.S.L., O'Malley S.S., Olah T.V., Ellis J.D., Barrish A., Kassahun K., Leppert P., Nagarathnam D., Forray C.: In Vitro and in Vivo Evaluation of Dihydropirimidinone C-5 Amides as Potent and Selective α_{1A} Receptor Antagonists for the Treatment of Benign Prostatic Hyperplasia. J. Med. Chem. 2000, 43, 2703-2718.
5. Ben-David J., Zipes D.P.: *Torsades de pointes* and proarrhythmia. Lancet, 1993; 341: 1578-1582.
6. Berlan M., Montastruc J. L., Lafontan M. : Pharmacological prospects for α_2 -adrenoceptor antagonist therapy. Trends Pharmacol. Sci., 1992, 13, 277-282.
7. Bernauer M., Ernenputsch I. : Antagonistic effects of α -adrenoceptor blocking agents on arrhythmias, enzyme release, and myocardial necrosis in isolated rat hearts with coronary occlusion and reperfusion. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 1988, 338, 88-95.
8. Bernier M., Manning A. S., Hearse D. J. : Reperfusion arrhythmias: dose-related protection by anti-free radical interventions. Am. J. Physiol., 1989, 356 (Heart Circ. Physiol.25), H1344-H1352.
9. Botros S., Saad S.F.: Synthesis, anti-hypertensive and β -adrenoreceptor antagonist activities of 3-[4-[3-(4-aryl-1-piperazinyl)-isopropanoloxyl-phenyl]-4(3H)quinazolones. Eur. J. Med. Chem. 1989, 24, 585-590.

10. Boyden P.A.: Cellular Electrophysiologic Basis of Cardiac Arrhythmias. *Am. J. Cardiol.* 1996; 78 (suppl 4A): 4-11.
11. Bolli R. : Oxygen-derived free radicals and myocardial reperfusion injury: An overview. *Cardiovasc. Drug Ther.*, 1991, 5, 249-268.
12. Bralet J., Didier J. P., Moreau D., Opie L. H., Rochette L. : Effect of α -adrenoceptor antagonists (phentolamine, nicergoline and prazosin) on reperfusion arrhythmias and noradrenaline release in perfused rat heart. *Br. J. Pharmac.*, 1985, 84, 9-18.
13. Bramah N. Singh: Controlling Cardiac Arrhythmias: An Overview With a Historical Perspective. *Am. J. Cardiol.* 1997; 80(8A): 4G-15G.
14. Bramah N. Singh: The Coming of Age of the Class III Antiarrhythmic Principle: Retrospective and Future Trends. *Am. J. Cardiol.* 1996; 78(suppl 4A): 17-27.
15. Bramah N. Singh., Lazzara R.: A New Age in the Pharmacologic Therapy of Cardiac Arrhythmias. *Am. J. Cardiol.* 1996; Vol. 78 (4A).
16. Bramah N. Singh.: Acute Management of Ventricular Arrhythmias: Role of Antiarrhythmic Agents. *Pharmacotherapy* 1997; 17(2 Pt 2): 56S-64S).
17. Bramah N. Singh.: Antiarrhythmic Drugs: A Reorientation in Light of Recent Developments in the Control of Disorders of Rhythm. *Am. J. Cardiol.* 1998; 81(6A): 3D-13D.
18. Campbell S.F.: Antidysrhythmic Agents. *Proceedings, XIVth International Symposium on Medicinal Chemistry Maastricht*. Ed.F.Awouters , 1997, 28, 61-70.
19. Caroon J.M., Clark R.D., Repke D.B., Kluge A.F., Strosberg A.M., Whiting R.L., Okada M.D., Hedley L.R., Antwerp D.V., Brown Ch.M.: Antihypertensive 1-Acyl-4-[2-(1,4-benzodioxan-2-yl)-2-hydroxyethyl--amino]piperidines¹. *J. Pharmaceutical Sciences*. 1987 , 76 (1).
20. Chapple C.R.: Selective α_1 -adrenoceptor antagonists in benign prostatic hyperplasia: rationale and clinical experience. *Eur. Urol.* 1996, 29, 129-144.

21. Chapple C.R.: α -adrenergic blocking drugs in bladder outflow obstruction: what potential has α_1 -adrenoceptor selectivity?. *Br. J. Urol.* 1995, 76(Suppl.1), 47-55.
22. Chapple C.R., Burt R.P., Andersson P.O., Greengrass P., Wyllie M., Marshall I.: α_1 -adrenoceptor subtypes in the human prostate. *Br. J. Urol.* 1994, 74, 585-589.
23. Colucci W. S. : Alpha-adrenergic receptor blockade with Prazosin. *Ann. Inter. Med.*, 1982, 97, 67-77.
24. Colin Doig J.: Drug-Induced Cardiac Arrhythmias. Incidence, Prevention and Management. *Drug Safety* 1997; 17 (4); 265-275.
25. Cropp J.S., Antal E.G., Talbert R.L.: Ibutilide: A New Class III Antiarrhythmic Agent. *Pharmacotherapy* 1997; 17(1): 1-9.
26. Cross F. : Pharmacology of classical α -adrenoceptor blocking agents: phentolamine and phenoxybenzamine. In: *Les alpha-bloquants. Pharmacologie expérimentale et clinique.* Masson. Paris New York 1981, 2-6.
27. Curtis M. J., Macleod B. A., Walker M. J. A. : Models for the study of arrhythmias in myocardial ischaemia and infarction: the use of the rat. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1987, 19, 399-419.
28. Dłużniewski M.: Leczenie komorowych zaburzeń rytmu- czy inaczej po cast?. *Pol. Tyg. Lek.* 1993, 48 (31-33), 706-710.
29. Endon M.: Cardiac α_1 -adrenoceptors that regulate contractive function: subtypes and subcellular signal transduction mechanisms, *Neurochem Res.*, 1996, 21; 217-29.
30. Filipek B.: Właściwości elektrofizjologiczne, przeciwaritmiczne i hipotensyjne nowych pochodnych pirolidynonu-2. Praca habilitacyjna, Kraków 1994.
31. Filipek B., Malawska B., Kulig K., Sapa J.: Nowe związki pochodne 1-[3-(arylopiiperazyno)-propylo-]-pirolidonu-2. Zgłoszenie patentowe No. P319983.

32. Filipek B., Sapa J., Malawska B., Kulig K., Antkiewicz-Michaluk L.: Synthesis, Antiarrhythmic, Antihypertensive and α -Adrenoceptor Blocking Activity of Novel 1-[(2-Hydrokxy-3-amino)]-propylpyrrolidin-2-one Derivatives. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.*, 1997, 330, 225-231.
33. Filipek B. : Wpływ N-[β -hydroksy- γ -N(-fenylopiperazynopropylo)]- 2-pirolidynonu (MG-1) na ciśnienie tętnicze u szczurów. XV Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, Warszawa 1992, 135.
34. Fogoros R.N.: Wprowadzenie do leków przeciwarystmicznych. Częstsze objawy niepożądane po lekach przeciwarystmicznych. W: *Leki przeciwarystmiczne*. Ed. Fogoros R.N., α -medica press, 1997, 44-60, 119-130.
35. Ford A.P.D.W., Williams T.J., Blue D.R., Clarke D.E.: α_1 -Adrenoceptor classification: sharpening Occam's razor. *Trends Pharmacol. Sci.(TiPS)*, 1994, 15, 167-170.
36. Forray C., Bard J.A., Wetzel J.M., Chiu G., Shapiro E., Tang R., et al.: The α_1 -adrenergic receptor that mediates smooth muscle contraction in human prostate has the pharmacological properties of the cloned human α_{1c} subtype. *Mol. Pharmacol.* 1994, 45(4), 703-708.
37. Foster R.H., Wilde M.I., Markham A.: Ibutilide. A Review of Pharmacological and Clinical Potential in the Acute Management of Atrial Flutter and Fibrillation. *Drugs* 1997, 54 (2): 312-330.
38. Fukuta Y., Fukuda Y., Higashino R., Yoshida K., Ogishima M., Tamaki H., Takei M.: Z-350, a novel compound with alpha 1-adrenoceptor antagonistic and steroid 5 alpha-reductase inhibitory actions: pharmacological properties in vivo. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1999 Sep., 290(3): 1013-8.
39. Gee-Hong Kuo, Prouty C., Murray W.V, Pulito V., Jolliffe L., Cheung P., Varga S., Evangelisto M., Wang J.: Design, Synthesis, and Structure-Activity Relationships of Phthalimide-Phenylpiperazines: A Novel Series of Potent and Selective α_{1a} -Adrenergic Receptor Antagonists. *J. Med. Chem.* 2000, 43, 2183-2195.
40. Gomoll A. W., Bartek M.J. : Comparative β -blocking activities and electrophysiologic actions of racemic sotalol and optical isomers in anesthetized dogs. *Eur. J. Pharmacol.*, 132, 123-135.

41. Graham R. M., Oates H.F., Stoker L. M., Stokes G. S. : Alpha blocking action of the antihypertensive agent, prazosin¹. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1977, 201, 747-752.
42. Han C., Hollinger S., Theroux T.L., Esbenshade T.A., Minneman K.P.: ³H-Tamsulosin binding to cloned α_1 -adrenergic receptor subtypes stably expressed in human embryonic kidney 293 cells: antagonist potencies and sensitivity to inactivation by alkylating agents. *Pharmacol. Commun.* 1995, 5(2), 117-126.
43. Hancock A.: α_1 Adrenoceptor Subtypes: A Synopsis of their Pharmacology and Molecular Biology, *Drug Dev. Res.* 1996, 39, 54-107
44. Hashimoto S., Oshita M., Morikawa K., Kato H., Ito Y., Kigoshi S., Muramatsu I.: In vitro pharmacological profile of the novel α_1 -adrenoceptor antagonist HSR-175. *Japan. J. Pharmacol.*, 1992, 59, 379-385.
45. Hieble J.P., Bylund D.B., Clarke D.E., Eikenburg D.C., Langer S.Z., Lefkowitz R.J., et al. International Union of Pharmacology. X. Recommendation for nomenclature of α_1 -adrenoceptors: consensus update *Pharmacol. Rev.* 1995, 47(2), 267-270.
46. Hoffmeister H.M., Beyer M.E., Seipel L.: Hemodynamic Effects of Antiarrhythmic Compounds: Intrinsic Effects and Autonomic Modulation. *Am. J. Cardiol.* 1997; 80(8A): 24G-30G.
47. Hohnloser S.H.: Proarrhythmia With Class III Antiarrhythmic Drugs: Types, Risks and Management. *Am. J. Cardiol.* 1997; 80(8A): 82G-89G.
48. Ireland L.M., Cain J.C., Rotert.G., Thomas S., Shoghi S., Hancock A.A, Kerwin Jr.J.F.: [³H]R-Terazosin binds selectively to α_1 - adrenoceptors over α_2 - adrenoceptors- comparison with racemic [³H]terazosin and [³H]prazosin. *Eur. J. Pharmacol.* 1997, 327, 79-86.
49. Jirkovsky I., Santroch G., Baudy R., Oshiro G. : Octahydropyrazino [2',3':3,4]pyrido [1,2-a]indoles. A new class of potent antihypertensive agents., *J. Med. Chem.*, 1987, 30, 388-394.
50. Ji-Wang Chern, Pao-Luh Tao, Kuang-Chao Wang, Gutcait A., Shiou-Wen Liu, Mao-Hsiung Yen, Shu-Lan Chien, Jiann-Kuo Rong: Studies on Quinazolines and 1,2,4-Benzothiadiazine 1,1-Dioxides. 8.^{1,2} Synthesis and Pharmacological Evaluation of Tricyclic Fused Quinazolines and 1,2,4-Benzothiadiazine 1,1-

Dioxides as Potential α_1 -Adrenoceptor Antagonists. *J. Med. Chem.* 1998, 41, 3128-3141.

51. Kaiming X., Zhizhen L., Hong W., Youyi Z., Chide H.: Alteration of α_1 -adrenoceptor subtypes in aortas of 12-month-old spontaneously hypertensive rats. *Eur. J. Pharmacol.* 1998, 344, 31-36.
52. Karam R., Marcello S., Brooks R., Corey A.E., Moore A.: Azimilide Dihydrochloride, a Novel Antiarrhythmic Agent. *Am. J. Cardiol.* 1998; 81(6A): 40D-46D.
53. Kirby R.S.: Clinical pharmacology of alpha 1- adrenoceptor antagonists. *Eur. Urol.* 1999, 36 (Suppl.1), 48-53.
54. Kobinger W. : New concepts on α -adrenoceptors in pharmacology. *J. Pharmacol.* 1984, 15 (suppl. I), 5-22.
55. Kolowca J. : Rola wolnych rodników tlenowych w niedokrwienno-reperfuzyjnym uszkodzeniu mięśnia sercowego. *Pol. Tyg. Lek.*, 1993, 48, 299-302.
56. Kowey P.R., Marinchak R.A, Rials S.J, Bharucha D.: Pharmacologic and Pharmacokinetic Profile of Class III Antiarrhythmic Drugs. *Am. J. Cardiol.* 1997; 80(8A): 16G-23G.
57. Kowey P.R., Marinchak R.A, Rials S.J, Bharucha D.: Classification and pharmacology of antiarrhythmic drugs. *Am. Heart J.* 2000, 140, 1, 12-20.
58. Krupińska J., Czarnecki R., Sobański H., Michna M., Żmudka K., Troczyński K.: Działanie przeciwyrytmiczne piracetamu. W: *Metody klinicznej oceny leków krążeniowych*. Red. Mrozkiewicz A., Poznań 1982, 47-56.
59. Kühl G. U., Buschmann G., Budden R. : Development of ECG and blood pressure changes in anesthetized rats during the infusion of antiarrhythmic compounds. In: *The rat electrocardiogram in pharmacology and toxicology*. Eds. Budden R., Detweiler D. K., Zbinden G., Pergamon Press, 1981, 197-207.
60. Langendorff O. : Untersuchungen am Überlebenden Säugetierherzen. *Pflügers Arch. ges. Physiol.*, 1895, 61, 291-332.

61. Lamontagne D., Yamaguchi N., Nadeau R., De Champlain J., Godin D., Campeau N. : Effects of sotalol, (-)-propranolol and prazosin on reperfusion-induced arrhythmias and increased cardiac norepinephrine release. *Eur. J. Pharmacol.*, 1986, 123, 1-10.
62. Lazzara R.: From First Class to Third Class: Recent Upheaval in Antiarrhythmic Therapy- Lessons from Clinical Trials. *Am. J. Cardiol.* 1996; 78 (suppl 4A): 28-33.
63. Leatham E.W., Holt D.W., McKenna W.J.: Class III Antiarrhythmic in Overdose; Presenting Features and Management Principles. *Drug Safety* 9 (6) 1993, 450-462.
64. Lepor H., Tang R., Meretyk S., Shapiro E.: Alpha 1 adrenoceptor subtypes in the human prostate. *J. Urol.* 1993, 149, 640-642.
65. Lepor H., Tang R., Shapiro E.: The alpha-adrenoceptor subtype mediating the tension of human prostatic smooth muscle. *The Prostate* 1993, 22, 301-307.
66. Litchfield J. T., Wilcoxon F. : A simplifield method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1949, 96, 99-113.
67. Liutkus M.: Travaux pratiques de pharmacologie, Ed. Universite de Montpellier, 1988/89, 24-56
68. Lubbe W. F., Daries P. S., Opie L. H. : Ventricular arrhythmias associated with coronary artery occlusion and reperfusion in the isolated perfused rat heart: a model for assessment of antifibrillatory action of antiarrhythmic agents. *Cardiovasc. Res.*, 1978, 12, 212-220.
69. MacNeil D.J.: The Side Effect Profile of Class III Antiarrhythmic Drugs: Focus on d, l-Sotalol. *Am. J. Cardiol.* 1997; 80(8A): 90G-98G
70. Magnus R. : Versuche am überlebenden Dünndarm von Säugetieren. *Pflügers Arch.*, 1904, 102, 123.
71. Malawska B., Gorczyca M., Cebo B., Krupińska J. : Synthesis and pharmacological properties of 2-pyrrolidinone derivatives. 47th International Congress of Pharmaceutical Sciences of FIP, Amsterdam, 1987, 278, 230.

72. Malawska B., Gorczyca M., Filipek B., Cros G., Liutkus M., Serrano J. J. : Synthesis, physicochemical and cardiovascular properties of N-[β -hydroxy- γ -(N-phenyl)piperazinepropyl]-2-pyrrolidinone. 26 Recontres Internationales de Chimie Therapeutique, Montpellier, 1990.
73. Malawska B., Gorczyca M., Cebo B., Krupińska J. : Synthesis and pharmacological properties of new N-aminoalkyl-2-pyrrolidinone derivatives. Pol. J. Pharmacol. Pharm., 1988, 40, 173-181.
74. Malawska B., Gorczyca M., Filipek B., Krupińska J. : Synthesis and pharmacological properties of new 2-oxo-1-pyrrolidine-acetylguanidines. Acta Pharm. Jugosl., 1989, 39, 201-208.
75. Malawska B., Gorczyca M., Filipek B. : Synthesis, physicochemical and preliminary pharmacological properties of N[β -hydroxy- γ -(N-phenyl- piperazinepropyl)]-2-pyrrolidinone. Pol. J. Pharmacol. Pharm., 1992, 44, 561-574.
76. Malawska B., Gorczyca M., Filipek B., Stadnicka K., Ciechanowicz-Rutkowska M. : The structure-activity relationship of cardiovascular agent of 1-[hydroxy-3-(4-phenyl-1-piperazine)propyl]-pyrrolidin- 2-one. XIIth International Symposium on Medicinal Chemistry, Basel, 1992, 379.
77. Malawska B., Gorczyca M., Filipek B., Stadnicka K., Ciechanowicz-Rutkowska M. : Zależność pomiędzy strukturą i aktywnością środków z grupy 1-[2-hydroksy-3(4-fenyl-1-piperazyno)propyl]pirolidynonu-2 na układ krążenia. Sesja naukowa "Krystalochemia Leków", Lublin, 1993, 1-2.
78. Malawska B., Filipek B., Stadnicka K., Ciechanowicz-Rutkowska M.:The structure-activity relationship of a new anti-arrhythmic agent of 1-[2-acetoxy-3-(4-phenyl-1-piperazine)propyl]-pyrrolidin-2-one. Arch. Pharm. (Weinheim), 1995, 328, 541-546.
79. Malawska B., Kulig K., Wiśniewska M.: Determination of the Lipophilicity of Antiarrhythmic and Antihypertensive 1-[2-Hydroxy- or 1-[2-Acetoxy-3-(4- aryl- -1-piperazinyl)propyl]-pyrrolidin-2-one Derivatives. Journal of Planar Chromatography 2000, 13, 187-190.
80. Matyus P., Rettegi T., Varro A., Papp J.G.: New Antiarrhythmic Agents: A Conceptually Novel Approach. Inc. Med. Res. Rev, 2000, 20 (4), 294-303.

81. McAlister F.A., Teo K.K.: Antiarrhythmic Therapies for the Prevention of Sudden Cardiac Death. *Drugs* 1997, 54 (2): 235-252.
82. Milligan G.: Why are there so many adrenoceptor subtypes? *Bioch. Pharmacol.*, 1994, 48, 1059-1071.
83. Miranda H.F., Ramirez H., Castillo O., Minneman K.P., Pinardi G.: α_{1A} -adrenergic receptors in the isolated human prostate. *Pharmacol. Commun.* 1994, 4(3), 181-188.
84. Mokrosz M., Bień A.: Effect of Structural Modifications in 1- Arylpiperazine Derivatives on α_1 - Adrenoreceptor Affinity. *Arch. Pharm. Med. Chem.*, 1997, 177.
85. Mouillé P., Dabiré H., Joly G., Schmitt H. : Interactions between α_1 , α_2 and β -adrenoceptors on tensional effects of adrenaline and noradrenaline in the dog. *J. Pharmacol. (Paris)*, 1983, 14, 325-332.
86. Mouillé P., Huchet A. M., Chelly J., Schmitt H. : AR-C239 a new and potent α -adrenoceptor blocking drug. In: *Les alpha-bloquants. Pharmacologie expérimentale et clinique.* Masson. Paris-New York 1981, 14-20.
87. Muramatsu I., Yamanaka K., Kigoshi S. : Pharmacological profile of the novel α -adrenoceptor antagonist KT-611 (Naftopidil). *Japan. J. Pharmacol.*, 1991, 55, 391-398.
88. Murata S., Taniguchi T., Muramatsu I.: Pharmacological analysis of the novel, selective alpha 1- adrenoceptor antagonist, KMD-3213, and its suitability as a tritiated radioligand. *Br. J. Pharmacol.* 1999, 127(1): 19-26.
89. Nagarathnam D., Miao S.W., Lagu B., Chiu G., Frang J., Murali Dhar T.G., Zhang J., Tyagarajan S., Marzabadi M.R., Zhang F., Wong W.C., Sun W., Tian D., Wetzel J.M., Forray C., Chang R.S, Broten T.P., Ransom R.W., Schorn T.W., Chen T.B., O'Malley S., Kling P., Schenck K., Bendesky R., Harrell C.M.: Design and synthesis of novel alpha-1 adrenoceptor- selective antagonists. *J. Med. Chem.* 1999, 18, 42 (23): 4764-77.
90. Noble A.J., Rosario D.J., Korstanje C., Chapple C.R., Chess-Williams R.: The affinity of tamsulosin (YM617) for functional α_1 -adrenoceptor subtypes. *Br. J. Pharmacol.* 1995, 114(Suppl.), 26P.

91. Nyżnyk M., Walczak F., Jodkowska-Skarżyńska M., Kulicka D. : Sotalol - farmakologia, wpływ na hemodynamikę oraz interakcje. *Pol. Tyg. Lek.*, 1993, 48, 321-323.
92. O'Callaghan P.A., McGovern B.A.: Evolving Role of Sotalol in the Management of Ventricular Tachyarrhythmias. *Am. J. Cardiol.* 1996; 78(suppl 4A): 54-60.
93. Pascal J.C., Pinhas H., Laure F., Dumez D., Poizot A.: New antiarrhythmic agents. Piperazine guanidine derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* (1990) 25, 81-85.
94. Pascal J.C., Jullien I., Pinhas H., Dumez D., Darre L., Poizot A.: Evidence of an effective antiarrhythmic compound by study of *in vivo* metabolism. *Eur. J. Med. Chem.* 1990, 25, 291-293.
95. Polańska D., Waniek A. : Mechanizmy uszkodzenia mięśnia sercowego w warunkach niedokrwienia i reperfuzji. *Przeg. Lek.* 1989, 46, 771-773.
96. Pratt C.M., Camm A. J., Cooper W., Friedman P. L., MacNeil D. J., Moulton K. M., Pitt B., Schwartz P. J., Veltri E. P., Waldo A. L.: Mortality in the Survival With Oral D-Sotalol (SWORD) Trial: Why Did Patients Die ?. *Am. J. Cardiol.* 1998; 81: 869-876.
97. Pratt C.M., Waldo A.L., Camm A.J.: Can Antiarrhythmic Drugs Survive Survival Trials?. *Am. J. Cardiol.* 1998; 81(6A): 24D-34D.
98. Reiffel J.A.: Prolonging Survival by Reducing Arrhythmic Death: Pharmacologic Therapy of Ventricular Tachycardia and Fibrillation. *Am. J. Cardiol.* 1997, 80(8A), 45G-55G.
99. Reiffel J.A., Hahn E., Hartz V., Reiter M.J.: Sotalol for Ventricular Tachyarrhythmias: Beta-Blocking and Class III Contributions, and Relative Efficacy Versus Class I Drugs After Prior Drug Failure. *Am. J. Cardiol.* 1997; 79: 1048-1053.
100. Roberts S. P., Kelly J., Cawthorne M. A., Sennitt M. V. : EK & F 104078, a post-junctionally selective α_2 -adrenoceptor antagonist in the human saphenous vein *in vitro*. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1992, 327-332.
101. Ruffolo R.R., Nicholas A. J., Stadel J. M., Hieble J. P. : Structure and function of α -adrenoceptors. *Pharmacol. Rev.*, 1991, 43, 475-505.

102. Samvelian V., Makalian M., Badzhinian S. A.: The antiarrhythmic action of piracetam. *Farmakol. Toksikol.*, 1990, 53, 22-23.
103. Schoetensack W., Bruckschen E.G, Zech K.: Urapidil. W: *New Drugs Annual : Cardiovascular Drugs*, Ed. Scriabine. Raven Press, New York 1983, Vol.1, 19-48.
104. Shi-Nan Wang, H. Jerrel Fontenot: α_{1D} - Adrenoceptors play little role in the positive inotropic action of phenylephrine. *Eur. J. Pharmacol.* 1997, 321, 39-43
105. Singh B. N., Vaughan Williams E. M. : The effect of amiodarone, a new anti-anginal drug, on cardiac muscle. *Br. J. Pharmacol.*, 1970, 39, 657-668.
106. Stadnicka K., Ciechanowicz-Rutkowska M., Malawska B. :Structure of an anti-arrhythmic and hypotensive agent: 1-[2-hydroxy-3-(4-phenyl-1-piperazinyl) propyl]pyrrolidin-2-one. *Acta Cryst.*, 1991, B47, 267-272.
107. Strosberg A. D. : Molecular and Functional Properties of Beta- Adrenergic Receptors. *Am. J. Cardiol.*, 1987, 59, 3F-9F.
108. Strubbe J. : 2-Pyrrolidinone derivatives for the treatment of vascular diseases in humans. *Pat. Ger. Offen.* 2, 746, 761, CA 1978, 89, 1000360y.
109. Szekeres L., Papp J. Gy. : Experimental Cardiac Arrhythmias, In :*Handbook of Experimental Pharmacology*. Eds. Schmier J., Eichler O. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. New York 1975, 131-182.
110. Takahashi M., Taniguchi T., Murata S., Okada K., Moriyama N., Yamazaki S., Muramatsu I.: New alpha 1-adrenoceptor antagonist, JTH-601, shows more than 10 times higher affinity for human prostates than arteries. *J. Urol.* 1999, 161(4): 1350-4.
111. Timmermans P. B. M. W. M., Van Zwieten P. A. : α_2 -Adrenoceptors: Classification, Localization, Mechanisms, and Targets for Drugs. *J. Med. Chem.*, 1982, 25, 1389-1401.
112. Tyurenkov I. N., Perekalin V. V., Kovalev G. V., Morozov I. S., Grineva V. S., Kiseleva I. N. : Relation between the chemical structure and hypotensive activity of the α -pyrrolidone derivatives. *Tr. Volgogr. Gos.Med. Inst.*, 1979, 31, 35-39; CA 1981, 95, 143835y.

113. Van Gelder I.C., Brugemann J., Crijns H.J.G.M.: Current Treatment Recommendations in Antiarrhythmic Therapy. *Drugs* 1998, 55 (3); 331-346.
114. Vaughan Williams E. M. : Classification of antidysrhythmic drugs. In: *Pharmacology of Anti-Arrhythmic Agents*. Ed. Szekeres L., Pergamon, Oxford, 1981, 125-150.
115. Vetulani J.: Receptory adrenergiczne. W: *Receptory struktura charakterystyka funkcja*. Red. Nowak J., Zawilska J.B. PWN Warszawa 1997, 42-63
116. Waldo A.L., Wit A.L.: Mechanisms of cardiac arrhythmias. *Lancet*, 1993; 341: 1189-1193.
117. Walker M. J. A., Curtis M. J., Hearse D. J., Campbell R. W. F., Janse M. J., Yellon D. M., Cobbe S. M., Coker S. J., Harness J. B., Harron D. W. G., Higgins A. J., Julian D. G., Lab M. J., Manning A. S., Northover B. J., Parratt J. R., Riemersma R. A., Riva E., Russell D. C., Sheridan D. J., Winslow E., Woodward B. : The Lambeth Conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia, infarction, and reperfusion. *Cardiovasc. Res.*, 1988, 22, 447-455.
118. Witkowska A. : Receptory układu adrenergicznego - klasyfikacja, identyfikacja i właściwości biochemiczne. *Post. Hig. Med. Dośw.* 1987, 41, 453-469.
119. Yamada S., Suzuki M., Tanaka C., Mori R., Kimura R., Inagaki O., et al. Comparative study on α_1 -adrenoceptor antagonist binding in human prostate and aorta. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 1994, 21(5), 405-411.
120. Yi He, Tabrizchi R.: Effects of niflumic acid α_1 -adrenoceptor-induced vasoconstriction in mesenteric artery in vitro and in vivo in two-kidney one-clip hypertensive rats. *Eur. J. Pharmacol.* 1998, 344, 31-36.
121. Zipes D.P.: *Genesis of Cardiac Arrhythmias: Electrophysiological Considerations*. W: *Heart Disease. A Textbook of Cardiovascular Medicine 5th Edition* Red. Braunwald E. W.B. Saunders Company Philadelphia / London / Toronto / Montreal / Sydney / Tokyo 1997, 548-592.

