

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НОВОГО ПОДХОДА КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ ИЗВЕСТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ С РАСТИТЕЛЬНЫМИ ГЛИКОЗИДАМИ В ПРОФИЛАКТИКЕ И КУПИРОВАНИИ ОСТРЫХ ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ СОСТОЯНИЙ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Т.Г. Толстикова<sup>1</sup>, И.В. Сорокина<sup>1</sup>, А.О. Брызгалов<sup>1</sup>, М.П. Долгих<sup>1</sup>, Г.И. Лифшиц<sup>2</sup>, М.В. Хвостов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория фармакологических исследований Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН

<sup>2</sup>Лаборатория этиопатогенеза и клиники внутренних заболеваний Научно-исследовательского института терапии СО РАМН, Новосибирск

**Использование нового подхода комплексобразования известных лекарственных препаратов с растительными гликозидами в профилактике и купировании острых гипертензивных состояний (экспериментальное исследование)**

Т.Г. Толстикова<sup>1</sup>, И.В. Сорокина<sup>1</sup>, А.О. Брызгалов<sup>1</sup>, М.П. Долгих<sup>1</sup>, Г.И. Лифшиц<sup>2</sup>, М.В. Хвостов<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Лаборатория фармакологических исследований Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН

<sup>2</sup> Лаборатория этиопатогенеза и клиники внутренних заболеваний Научно-исследовательского института терапии СО РАМН, Новосибирск

**Цель.** Оценить гипотензивную эффективность нифедипина (Н) и комплекса нифедипина (КН) с глицирризиновой кислотой в остром фармакологическом тесте у крыс с адреналиновой моделью артериальной гипертонии.

**Материал и методы.** В одинаковых дозах КН, новая лекарственная форма нифедипина в комплексе с глицирризиновой кислотой, содержит активного вещества в 10 раз меньше чем Н, обычная короткодействующая форма нифедипина. Нормотензивным наркотизированным тиопенталом натрия (в дозе 30 мг/кг внутривенно) половозрелым крысам самцам массой 190-220 г вводили однократно внутривенно адреналин (0,03 мг/кг), который вызывает двукратное повышение артериального давления (АД) в течение 4 мин. КН и Н вводили в одинаковой дозе 3,5 мг/кг до или после введения адреналина. Оценивали время восстановления АД, которое измеряли прямым методом в сонной артерии.

**Результаты.** КН и Н снижают систолическое АД у нормотензивных крыс на 26 и 30% соответственно. КН и Н, введенные до адреналина, приводили к сокращению времени восстановления систолического АД до 94,4 и 79,7 с соответственно, что меньше ( $p < 0,001$ ) времени восстановления АД в контроле (204,8 с). Различия времени между КН и Н недостоверно ( $p < 0,1$ ). КН и Н, введенные после адреналина, приводили к сокращению времени восстановления систолического АД до 104,7 и 139 с соответственно, что также меньше ( $p < 0,001$ ) времени восстановления АД в контроле. Различия времени восстановления АД между КН и Н в этой модели АД также недостоверно ( $p < 0,1$ ).

**Заключение.** Новая лекарственная форма, при уменьшении в ней дозы нифедипина в 10 раз, сопоставима по гипотензивной эффективности с нифедипином и может быть применена как в целях профилактики, так и для купирования острых гипертензивных состояний.

**Ключевые слова:** нифедипин, артериальное давление, глицирризиновая кислота, комплекс.

**РФК 2006; 1:55-58**

**The use of a new approach to prevention and therapy of acute arterial hypertension with complex of well-known drugs with vegetable glycosides (experimental study)**

T. G. Tolstikova<sup>1</sup>, I. V. Sorokina<sup>1</sup>, A. O. Brisgalov<sup>1</sup>, M. P. Dolgich<sup>1</sup>, G. I. Lifshitz<sup>2</sup>, M. V. Chvostov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of pharmaceutical research, Novosibirsk institute of organic chemistry named after N.N. Vorozhtcov, Siberia branch of Russian Academy of Medical Sciences

<sup>2</sup>Laboratory of etiopathogenesis and internal medicine clinics, Research institute of therapy, Siberia branch of Russian Academy of Medical Sciences

**Aim.** To evaluate antihypertensive efficacy of nifedipine (N) and nifedipine complex (NC) in acute test in rats with adrenaline model of arterial hypertension.

**Material and methods.** N is a conventional short acting formulation while NC is a new formulation of nifedipine in complex with glycyrrhizic acid. NC has an active substance 10 times less than N does in the same dose. Adrenaline which results in two times increase in blood pressure (BP) during 4 min was administered as a single i.v. dose (0,03 mg/kg) to normotensive unconscious male rats (body weight 190-220 g). NC and N were administered in the same dose (3,5 mg/kg) before and after adrenaline administration. Systolic BP recovering time was assessed. BP level was measured with direct method in carotid artery.

**Results.** NC and N decreased in systolic BP in normotensive rats by 26 and 30% respectively. NC and N administered before adrenaline administration resulted in systolic BP recovering time reduction to 94,4 and 79,7 s respectively, which are less than this in control (204,8 s,  $p < 0,001$ ). Difference in time between NC and N is not significant ( $p < 0,1$ ). NC and N administered after adrenaline administration resulted in systolic BP recovering time reduction to 104,7 and 139 s respectively, which are also less than this in control (204,8 s,  $p < 0,001$ ). Difference in time between NC and N in this model is also not significant ( $p < 0,1$ ).

**Conclusion.** NC with contents of active substance 10 times less than in N showed antihypertensive efficacy similar with this in N. NC can be used for prevention and therapy of acute arterial hypertension.

**Key words:** nifedipine, nifedipine complex with glycyrrhizic acid, acute arterial hypertension, blood pressure

**Rational Pharmacother. Card. 2006; 1:55-58**

Во всех индустриально развитых странах, в том числе и в России, смертность от сердечно-сосудистых заболеваний продолжает занимать лидирующую позицию среди заболеваний у лиц работоспособного возраста. Артериальная гипертония (АГ) является

наиболее распространенным фактором риска для этой группы заболеваний. Прогнозируется, что число больных с гипертонией к 2020г., увеличится во всем мире до 1,5 млрд человек\*. В России на сегодняшний день повышенное артериальное давление (АД)

\* По данным American College of Cardiology Scientific Sessions; Orlando, Florida: 6-9 March 2005

выявлено у 40 млн. человек (23-30% населения).

В настоящее время группа гипотензивных средств представлена широким спектром лекарственных препаратов. Однако в лечении больных АГ выбор препарата определяется часто эмпирическим путем. Это в ряде случаев приводит к увеличению сроков госпитализации или числа посещений пациентом врача [1]. Поэтому появление новых безопасных и эффективных сердечно-сосудистых препаратов чрезвычайно актуально. В этой связи создание новых антигипертензивных средств является одной из центральных проблем современной клинической кардиологии.

Успехи в разработке новых лекарственных средств связаны не только с синтезом новых химических соединений, но и в значительной степени с улучшением свойств существующих препаратов, в том числе путем создания новых лекарственных форм с направленной доставкой к органу-мишени и контролируемым высвобождением действующего вещества. Одним из перспективных подходов в разработке подобных лекарственных форм является связывание действующего вещества в молекулярный комплекс, который обеспечивает защиту базового препарата от быстрого метаболизма в организме, улучшает его транспорт через биологические мембраны и способствует пролонгированному действию за счет повышения аффинности к рецепторам органа-мишени.

Предлагаемый подход, разработанный авторами настоящего сообщения, заключается в том, что в качестве комплексообразователей используются растительные гликозиды, обладающие биологической активностью и низкой токсичностью. Наше внимание в качестве потенциального комплексообразователя привлекла глицирризиновая кислота (ГК), которая является компонентом экстракта корня солодки. Этот гликозид проявляет разнонаправленную фармакологическую активность [2].

Особенностью молекулы ГК является способность создавать пространственные ассоциаты, обеспечивающие прочное связывание с молекулами лекарственных средств за счёт образования водородных связей. В результате образования таких ассоциатов молекула действующего вещества, помещенного вовнутрь, становится менее уязвимой, и скорость ее метаболизма снижается. Также данное комплексное взаимодействие может способствовать увеличению времени удержания действующего вещества на рецепторе, тем самым пролонгируя его действие.

Ранее было показано, что использование комплексообразования позволяет существенно снизить терапевтические дозы используемых лекарственных средств (в 5-100 раз) с сохранением высокой специфической активности и усилить их вторичные плейотропные фармакологические свойства [3]. Данный

эффект установлен авторами настоящего сообщения на комплексах ГК с нестероидными противовоспалительными средствами, простагландинами, антиаритмическими препаратами и неврологическими препаратами [4-8].

Полученные результаты дали основание предположить, что фармакологический потенциал ГК при распространении на её комплексы с химическими соединениями различного действия приведет к появлению новых фармакологических эффектов, расширяющих терапевтические возможности известных лекарственных средств.

Настоящая работа посвящена изучению комплекса глицирризиновой кислоты с нифедипином – блокаторм кальциевых каналов. Достоинством этого эффективного антигипертензивного средства в клинической кардиологической практике является его метаболическая нейтральность. Он не влияет на обмен липидов, на углеводный обмен и чувствительность к инсулину, не изменяет электролитный баланс [9]. В настоящее время в связи с опубликованием новых данных, подтверждающих эффективность антагонистов кальция, с более четкой разработкой принципов дифференцированной терапии и появлением разнообразных лекарственных форм (короткой, средней и значительной продолжительности действия) этот класс препаратов вновь выходит на первый план в лечении сердечно-сосудистых заболеваний. Это вызвало наш интерес к нифедипину, в первую очередь, как к препарату для купирования острых экспериментальных гипертензивных состояний [10]. Однако общеизвестны и побочные действия данного соединения, связанные с активизацией ренин-ангиотензин-альдостероновой и симпатико-адреналовой систем (тахикардия, периферические отеки, усиление приступов стенокардии) [11]. Поэтому использование подхода комплексообразования позволит существенно снизить терапевтическую дозу, что приведет, вероятно, к снижению побочных эффектов нифедипина при сохранении его высокой активности.

**Цель исследования.** В остром фармакологическом эксперименте провести сравнительную оценку гипотензивной активности нифедипина и его новой лекарственной формы – комплекса нифедипина с глицирризиновой кислотой.

## Материалы и методы

Опыты проводили на нормотензивных наркотизированных тиопенталом натрия (в дозе 30 мг/кг внутривенно) половозрелых крысах-самцах массой 190-220 г (животные были получены из вивария Института цитологии и генетики СО РАН). Опыты проводили в одно и то же время - с 9<sup>00</sup> до 12<sup>00</sup>. Модель по-

вышенного АД воспроизводили путем однократного внутривенного введения 0,03 мг/кг раствора адреналина, который вызывает стабильное повышение АД в течение 4 мин в среднем на 100%. Это стандартная экспериментальная модель, используемая в фармакологии. Схемы эксперимента: 1-я введение агента до введения адреналина, 2-я – введение агента после введения адреналина.

Контрольной группе вводили адреналин в дозе 0,03 мг/кг. В качестве контрольного времени считали время восстановления АД до первоначального значения.

Исследуемый агент является комплексным соединением растительного гликозида (глицирризиновой кислоты) и нифедипина в соотношении 4:1. Эталонным сравнения был взят нифедипин, вводимый в общепринятой экспериментальной дозе 3,5 мг/кг массы тела животного.

Измерение АД проводили в остром эксперименте путем введения канюли в сонную артерию. Показатели регистрировали с помощью прибора фирмы «Coulbourn instruments» (США). Обработку данных осуществляли с помощью программы “Statistica 6.0” посредством усреднения основных показателей систолического АД (САД). В качестве отклонения от среднего значения использовалась средняя статистическая ошибка, в качестве критерия достоверности взят t-критерий Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

В ходе исследований установлено, что комплекс нифедипина с ГК и нифедипин, введенные в одинаковой дозе (3,5 мг/кг), снижают САД у нормотензивных крыс на 26 и 30 % соответственно (табл. 1). Отметим, что нормальным САД у крыс считается давление в пределах 120-145 мм рт. ст. [12,13]. При анализе комплекса установлено, что молекула глицирризиновой кислоты намного крупнее молекулы нифедипина, и молекулярная масса 1 молекулы глицирризиновой кислоты в 2,5 раза больше, чем 1 молекулы нифедипина [8]. При используемом в данной работе соотношении 1:4, на 1 молекулу нифедипина приходится 4 крупные молекулы глицирризиновой кислоты, поэтому по молекулярной массе глицирризиновой кислоты в комплексе в 10 раз больше, чем нифедипина. В количественном соотношении нифедипина в комплексе 0,33 мг/кг, что в 10 раз меньше его содержания в чистом препарате.

В исследовании изучали гипотензивную активность агентов при искусственно вызванной адреналиновой АГ. Данная модель позволила установить влияние препаратов на клиническое состояние при уже развившейся АГ (введение нифедипина и комплекса после индуцированного повышения АД), а также их

Таблица 1. Снижение САД под воздействием нифедипина и комплекса глицирризиновой кислоты с нифедипином (4:1) у нормотензивных крыс

Агент	Доза, мг/кг	Исходное САД, мм рт.ст.	САД при введении агентов, мм рт.ст.	Изменение САД, %
Нифедипин	3,5	121±6,6	85±4,3 (p<0,002)	30
Комплекс 4:1	3,5	141±5,0	104±4,3 (p<0,001)	26

Таблица 2. Восстановление САД по схеме агент + адреналин

Агент	Доза, мг/кг	Исходное САД, мм рт.ст.	Изменение САД при введении агентов + адреналин, мм рт.ст.	Время восстановления, с
Нифедипин	3,5	149,1±7,4	262,6±6,9	79,7±5,2 (p<0,001)
Комплекс 4:1	3,5	146,2±4,7	274,4±1,6	94,4±6,4 (p<0,001)
Адреналин	0,3	144,1±5,4	274,1±5,5	204,8±15,0

профилактическое действие (адреналин вводили на фоне уже введенных агентов). Эти схемы введения позволяют более полно изучить возможности исследуемых агентов.

В результате исследования по первой схеме (введение препаратов до введения адреналина) установлено, что нифедипин восстанавливает САД за 79,7 с, что достоверно меньше (p<0,001) общей продолжительности гипертонии, вызванной адреналином, которая составляет 204,8 с (табл. 2) Нормализация САД при введении адреналина на фоне комплекса происходит за 94,4 с, что также достоверно меньше (p<0,001), чем в контроле. При этом различие в продолжительности АГ между комплексом нифедипина и нифедипином не является достоверной (p<0,1). Данная модель показывает, что комплекс, как и нифедипин, может использоваться в качестве профилактического препарата для нормализации АД (см. табл. 2).

Следующим методом изучения гипотензивного действия и сравнительных характеристик нифедипина и комплекса является введение препаратов на фоне уже вызванной АГ (табл. 3). В данном случае агенты вводятся через 1-2 с после повышения АД адреналином. Это позволяет выяснить способность препарата работать в острых гипертензивных клинических случаях. По полученным данным, время восстановления АД как при введении комплекса (104,7 с), так

Таблица 3. Восстановление САД по схеме адреналин + агент

Агент	Доза, мг/кг	Исходное САД, мм рт.ст.	САД при введении адреналина + агент, мм рт.ст.	Время восстановления САД, с
Нифедипин	3,5	144,2±6,9	268,0±4,9	139,0±12,3 ( $p<0,005$ )
Комплекс 4:1	3,5	136,3±8,8	276,9±3,5	104,7±10,4 ( $p<0,001$ )
Адреналин	0,3	144,1±5,4	274,1±5,5	204,8±15,0

и при введении нифедипина (139 с) достоверно меньше, чем в контрольной группе (204,8 с) ( $p<0,001$ ). При этом время восстановления при введении нифедипина и комплекса достоверно не отличалось ( $p<0,06$ ), хотя время восстановления при введении комплекса было меньшим, что может говорить о его большей эффективности.

Известно, что нифедипин является блокатором  $Ca^{2+}$  - каналов. Именно блокада этих каналов препятствует прохождению  $Ca^{2+}$  через мембрану мышечных клеток, блокируя сокращение актин-миозинового комплекса. В результате наблюдается общее расслабление гладкомышечных волокон сосудов, которое приводит к увеличению диаметра сосуда и, соответственно, к общему снижению АД. Уменьшение дозы действующего вещества за счет комплексообразования свидетельствует о том, что, вероятно, ГК, связывая нифедипин, препятствует его элиминации, что позволяет ему беспрепятственно дойти до органа-мишени, и пролонгирует его действие на рецепторе.

Показано, что эффект полученного комплекса реализуется путём взаимодействия на клеточных рецепторах [14].

В настоящее время предложена и разрабатывается гипотеза о том, что ключевым процессом метаболизма лекарственного препарата на рецепторе может являться химическая реакция как ключевая стадия лигандрецепторных взаимодействий. Первичным актом реакции является перенос электрона между лекарством и аминокислотой, входящей в состав активного центра рецептора. В результате химической реакции изменяется конформация лекарственного препарата и происходит высвобождение рецептора [14]. На этом и основано действие лекарств, т.е. их обратимость связывания с рецептором. Эффект комплексообразования, видимо, позволяет пролонгировать лигандрецепторное взаимодействие. Разработки в этом направлении активно продолжаются. Дальнейшие исследования помогут более детально выяснить физические и биохимические механизмы снижения дозы препарата при сохранении его терапевтического эффекта.

## Выводы

1. Новая лекарственная форма – комплекс нифедипина с глицирризиновой кислотой – сопоставима по гипотензивной эффективности с нифедипином.
2. Эффект комплексообразования позволил снизить дозу нифедипина в 10 раз, при этом сохранив его терапевтический гипотензивный эффект, в некоторых случаях даже усилить его.
3. Исследуемый новый лекарственный агент доказал свою эффективность как в предупреждении, так и в купировании АГ в экспериментальных моделях.

## Литература

1. Мартынов А.И., Гиляревский С.Р., Остроумова О.Д., Нестерова М.В., Мамаев В.И. // Тер. архив: Обзоры. - 2001. - №9. - С. 82
2. Толстиков Г.А., Балтина Л.А., Шульц Э.Э. и др. // Химия в интересах устойчивого развития. 1997. -Т. 5. № 1. - С. 57-73.
3. Толстиков Г.А., Муринов Ю.И., Балтина Л.А. и др. // Хим-фарм. журн. 1990. -№ 8. - С. 26-29.
4. Толстиков Г.А., Муринов Ю.И., Балтина Л.А. и др. // Хим-фарм. журн. 1991. - № 2. - С. 29-31.
5. Бондарев А.И., Башкатов С.А., Давыдова В.А. и др. // Фармакол. и токсикол. 1991. - №5. - С. 47-50.
6. Толстиков Г.А., Муринов Ю.И., Балтина Л.А. и др. // Хим-фарм. журн. 1991. - №3. - С. 42-45.
7. Регистр лекарственных средств - энциклопедия лекарств. / Гл. редактор Ю.Ф. Крылов. М.: «РЛС-2001», 2001. - С. 53.
8. Патент РФ № 2180583 // Бюллетень изобретения и полезные модели. 2002. - №8. - С. 148.
9. Марцевич С.Ю. // Кардиология. 1999. -№9. - С. 91-96.
10. Современная концепция применения антагонистов кальция в кардиологии. Решение Ученого совета НИИ кардиологии им. А.Л.Мясникова КНЦ РАМН. // Кардиология. 1996.-№ 4. – С. 78
11. Furberg C.D., Psaty B.M., Meyer J.V. Nifedipine. Dose-related increase in mortality in patients with coronary heart disease. //Circulation 1995. – № 92:- С. 1326-1331
12. Трахтенберг И.М. и др. Проблема нормы в токсикологии.// М. «Медицина». 1991. - С. 76-77
13. Духовная А.И., Курдянский Б.А., Кушнир Ю.К.//Гиг. и сан. – 1976.- №1.- С. 75-78.
14. N. E. Polyakov, M.B. Taraban, T. V. Leshina, Probing of the Structure and Properties of the Binding Site of Calcium Receptors by PhotocIDNP Spectroscopy. Nifedipine – Receptor Interaction.// Photochem. Photobiol. 2004, submitted