

УДК 615.22

## Фармакологические свойства комплексов растительных углеводсодержащих метаболитов со средствами, влияющими на сердечно-сосудистую систему

М. В. ХВОСТОВ, А. О. БРЫЗГАЛОВ, Т. Г. ТОЛСТИКОВА

Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова Сибирского отделения РАН, проспект Академика Лаврентьева, 9, Новосибирск 630090 (Россия)

E-mail: [mihail.hvostov@gmail.com](mailto:mihail.hvostov@gmail.com)

### Аннотация

Изучены антигипертензивные и антиаритмические свойства комплексов глицирризиновой кислоты (гликозид корня солодки), гликозидов *Stevia rebaudiana* Bertoni (стевиозид, ферментативно-обработанный стевиозид SWETA и ребаудиозид), арабиногалактана (полисахарид лиственницы сибирской) с пропранололом, амиодароном и нифедипином. Установлено, что для дальнейшего фармакологического изучения перспективны все исследованные комплексы нифедипина, за исключением комплекса нифедипина с ребаудиозидом в молекулярном соотношении 1 : 4. Также выделяется комплекс пропранолола с глицирризиновой кислотой в молекулярном соотношении 1 : 4 в дозе 0.0025 мг/кг, который показал хорошую антиаритмическую активность. В случае комплексов с амиодароном можно заключить, что комплексообразование этого фармакона углеводсодержащими растительными метаболитами, использованными в наших экспериментах, не приводит к желаемому снижению эффективной дозы, а, наоборот, ухудшает его антиаритмический эффект.

**Ключевые слова:** комплексы, растительные метаболиты, антигипертензивные и антиаритмические свойства

### ВВЕДЕНИЕ

Артериальная гипертензия (АГ) является общей проблемой как индустриально развитых, так и развивающихся стран [1]. Для ее лечения рекомендованы пять основных классов антигипертензивных препаратов: ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, блокаторы рецепторов АТ<sub>1</sub>, антагонисты кальция, β-адреноблокаторы, диуретики [2, 3]. Все представленные классы соединений обладают теми или иными нежелательными побочными действиями [4–7]. В связи с этим проблема разработки эффективных препаратов для терапии артериальной гипертензии, обладающих минимальными побочными действиями, остается актуальной для фармакологов и специалистов медицинской химии. Один из эффективных подходов для решения этой задачи – связывание действующего вещества в молекулярный комплекс с растительными углеводсодержащими метаболитами, что обеспечивает защиту базового препарата от быстрого метаболизма в организме и

улучшает его транспорт через биологические мембраны [8].

В данной работе представлены результаты скрининга антигипертензивной и антиаритмической активности комплексов глицирризиновой кислоты (ГК) (гликозид корня солодки), гликозидов *Stevia rebaudiana* Bertoni (стевиозид (СТ), ферментативно-обработанного стевиозида SWETA (SW) и ребаудиозида (РБ), арабиногалактана (АГ) (полисахарид лиственницы сибирской) с пропранололом (ПП), амиодароном (АМД) и нифедипином (НФ).

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

#### Лабораторные животные

Работа выполнена на крысах линии Вистар массой 180–240 г. Животные были получены из лаборатории экспериментальных животных Института цитологии и генетики СО РАН и содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и стандартному гранулированному корму. Экс-

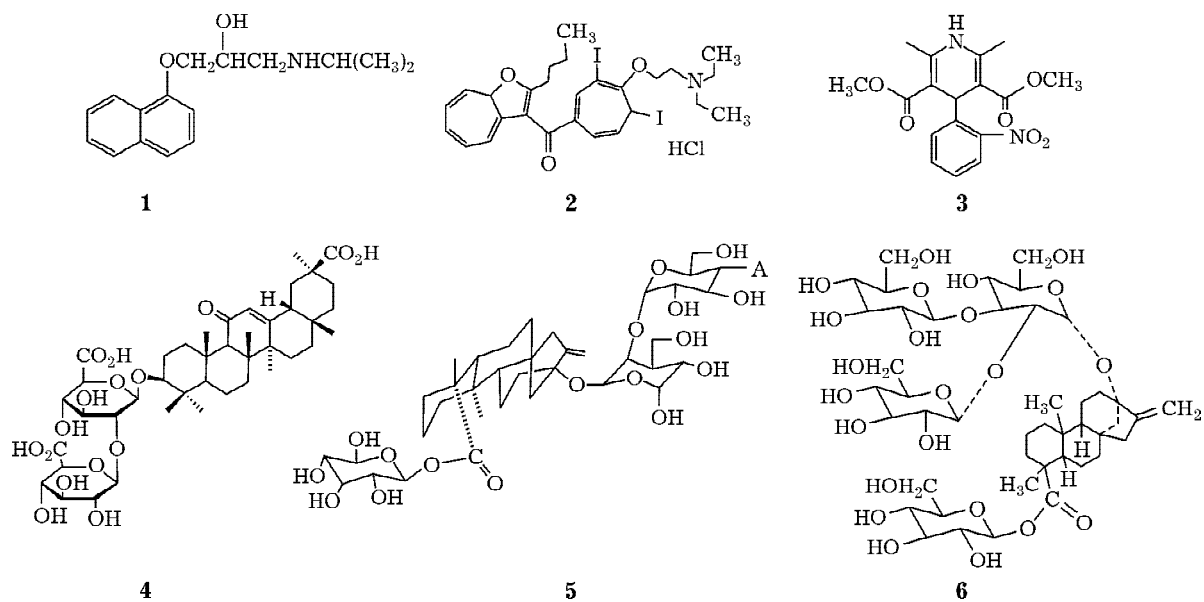


Рис. 1. Структурные формулы пропранолола 1, амиодарона 2, нифедипина 3, глицирризиновой кислоты 4, стевозида 5, ребаудиозида 6.

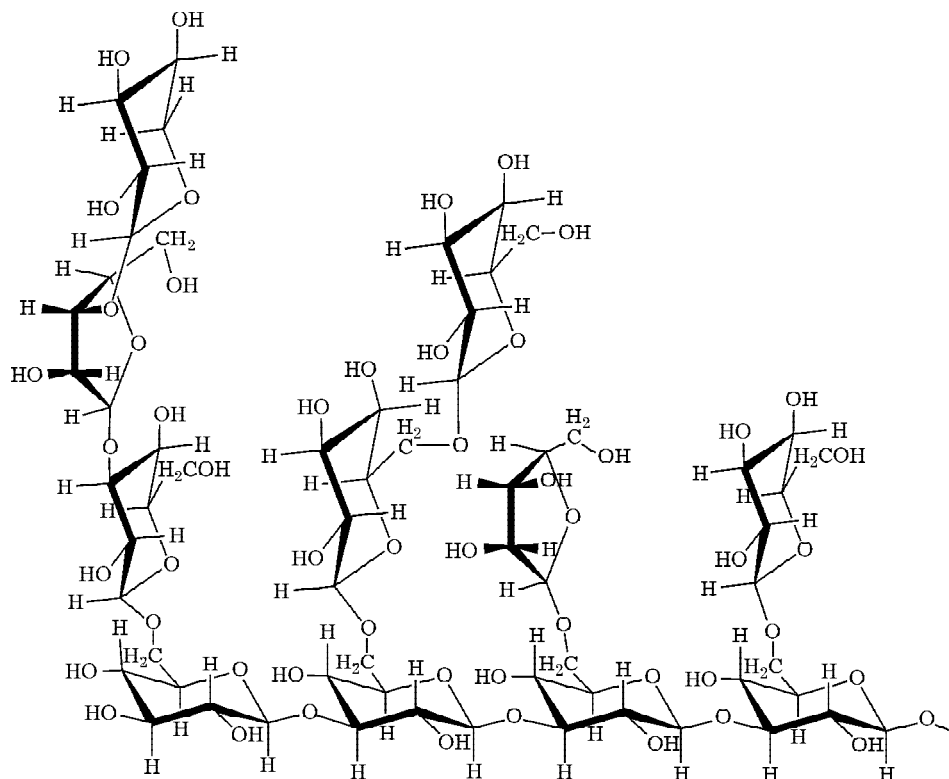


Рис. 2. Структурная формула арабиногалактана.

периментальные группы формировали по 8–10 особей одинаковой массы. Работы с животными проводили в соответствии с положениями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986).

**Исследуемые соединения**

Комплексы были синтезированы механическим способом [9, 10] в группе механохимии органических соединений ИХТИМ СО РАН (рис. 1, 2).

**Модели и тесты**

Животных наркотизировали тиопенталом натрия (30 мг/кг, внутривенно). Референс-агенты и исследуемые соединения вводили в бедренную вену в виде водных растворов или взвеси с добавлением твина-80. Артериальное давление измеряли в сонной артерии через предварительно введенную канюлю. Для записи ЭКГ накладывали подкожные электроды во второе стандартное отведение. Регистрацию параметров вели с по-

мощью электрофизиологического комплекса LabLinc V (Coulbourn Instruments, США).

Модель хлоридкальциевой аритмии воспроизводили путем однократного введения в бедренную вену крысы летальной дозы CaCl<sub>2</sub> (250 мг/кг) до введения изучаемого агента или через 1 мин после его введения. Адреналовую аритмию вызывали путем однократного введения в бедренную вену крысы летальной дозы адреналина – 0.3 мг/кг до введения изучаемого агента или через 1 мин после его введения.

**Статистическая обработка результатов**

Статистическую обработку данных вели с помощью программного пакета Statistica 7.0. Результаты представлены как среднее±стандартная ошибка. О достоверности различий судили, используя *t*-критерий Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

**Комплексы с глицирризиновой кислотой**

Для комплекса ПП/ГК в молекулярном соотношении 1 : 4 и ПП установлена максималь-

ТАБЛИЦА 1

Гипотензивная активность комплексов пропранолола (ПП) с ГК, нифедипина (НФ) с ГК, НФ со стевииозидом SWETA

Агент	Доза, мг/кг	Артериальное давление, мм рт. ст.		Снижение артериального давления, %
		Исходное	После введения агента	
ПП/ГК (1 : 4)	0.2	152.6±8.8	131.9±5.9*	14
	0.0025	139.2±4.9	123.6±8.1*	11
ПП	0.2	133.9±5.7	119.0±3.9*	11
	0.0025	128.0±2.8	113.5±5.4*	11
НФ/ГК (1 : 4)	3.5	141.0±5.0	104.0±4.3*	26
НФ/СТ (1 : 4)	3.5	130.0±6.5	96.0±4.3*	26
НФ/SW (1 : 4)	3.5	142.0±5.0	96.0±4.3*	32
НФ	3.5	121.0±6.6	85.0±4.3*	30
	0.35	116.7±4.4	105.2±2.2*	9
СТ	3.5	149.0±4.7	139.0±3.5*	7
SWETA	3.5	140.0±4.3	129.0±4.0*	8
ГК	0.0025	135.6±2.8	136.4±3.5	0
	0.2	141.4±3.4	140.2±2.8	0
	3.2	126.5±1.3	129.6±2.0	0

\**p* < 0.05 относительно исходного АД.

ная доза (0.2 мг/кг), при которой АД снижается на 27 мм рт. ст., и минимальная доза (0.0025 мг/кг), при которой АД снижается на 15 мм рт. ст. Одинаковое снижение АД после введения комплекса и ПП в дозе 0.0025 мг/кг указывает на стабилизирующий эффект комплексобразования. Примечательно, что в комплексе содержание ПП в 12 раз меньше. При этом сама ГК не оказывает влияния на АД (табл. 1).

Антиаритмическая активность комплекса ПП/ГК (1 : 4) изучена на модели адреналовой аритмии в дозе, при которой достигается максимальный гипотензивный эффект (0.0025 мг/кг). Как видно из данных табл. 2, после введения комплекса в этой дозе на фоне аритмогена выживаемость животных составила 100 %, в то время как при введении ПП в дозе 0.0002 мг/кг, содержащейся в комплексе, выживаемость животных снизилась до 40 %. Сама ГК в этих дозах не обладает антиаритмическим эффектом.

Для комплекса АМД с ГК (1 : 4) изучена антиаритмическая активность на хлоридкальциевой модели аритмии. Установлено, что при внутривенном введении комплекса в дозе 0.005 мг/кг до аритмогена выживаемость животных составляет 100 %, а при введении на фоне аритмии – 80 %. При введении АМД в такой же дозе и в дозе, содержащейся в комплексе (0.0008 мг/кг), наблюдался 100 % антиаритмический эффект при аналогичных схемах введения (табл. 3). При использовании

ТАБЛИЦА 2

Антиаритмическая активность комплексов пропранолола (ПП) с глицирризиновой кислотой (ГК), нифедипина (НФ) с ребаудиозидом (РБ) (адреналовая модель аритмии)

Агенты	Доза, мг/кг	Количество выживших животных, %
ПП/ГК (1 : 4)	0.0025	100
ПП	0.0002	40
ГК	0.0025	0
НФ/РБ (1 : 4)	0.0035	
	(НФ 0.00035)	100
НФ/РБ (1 : 2)	0.0035	
	(НФ 0.0007)	100
НФ	0.00035	0
РБ	0.12	50

ТАБЛИЦА 3

Антиаритмическая активность комплекса амиодарона (АМД) с глицирризиновой кислотой (ГК) и арабиногалактаном (АГ), нифедипина (НФ) с АГ (хлоридкальциевая модель аритмии)

Агент	Доза, мг/кг	Количество выживших крыс, %	
		Агент + CaCl <sub>2</sub>	CaCl <sub>2</sub> + Агент
АМД/ГК (1 : 4)	0.005	80	100
НФ/ГК (1 : 4)	0.12	80	90
НФ	0.12	0	0
ГК	0.005	0	0
НФ/АГ (1 : 4)	0.175	100	65
АМД/АГ (1 : 4)	0.005	100	30
НФ	0.017	0	0
АМД	0.005	100	100
	0.0008	100	100
АГ	0.175	0	0

меньших доз эффекта не наблюдалось, как при введении комплекса, так и одного АМД.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в случае комплекса АМД/ГК (1 : 4) не удалось достичь свойств, характерных для гликозидного комплексобразования (снижение дозы при сохранении базовой активности). При этом нужно отметить, что при введении животным комплекса в дозе 0.005 мг/кг наступление летального исхода наблюдается на 1.5–2 мин позже по сравнению с таковым для АМД, введенным в той же дозе.

Для комплекса НФ с ГК (1 : 4) изучено гипотензивное и плейотропное антиаритмическое действие. Установлено, что при внутривенном введении комплекса и чистого НФ в одинаковых дозах (3.5 мг/кг) наблюдается аналогичное снижение АД – 26 % (37 мм рт. ст.) и 30 % (36 мм рт. ст.). Примечательно, что в составе комплекса доза НФ в 10 раз меньше и составляет 0.35 мг/кг. В такой же дозе НФ снижает АД только на 9 % (11.5 мм рт. ст.) (см. табл. 1). Известно, что антиаритмическое действие для НФ несущественно [11]. В этой связи был изучен антиаритмический эффект комплекса в сравнении с НФ. На модели хлоридкальциевой аритмии установлена доза комплекса (0.12 мг/кг), при которой достигается максимальный антиаритмический эффект при двух схемах введения агентов. Выживаемость

мость животных составляет 80 % при введении комплекса до аритмогена и 90 % при введении комплекса после аритмогена. Для НФ в дозе 0.12 мг/кг антиаритмического действия не обнаружено (см. табл. 3). На модели адреналовой аритмии антиаритмического эффекта НФ не обнаружено.

Таким образом, комплекс НФ/ГК (1 : 4) является новым потенциальным лекарственным агентом, не имеющим аналогов по характеру фармакологического действия, поскольку позволяет путем изменения дозы переходить от гипотензивного действия к антиаритмическому.

**Комплексы с метаболитами  
*Stevia rebaudiana Bertoni***

При изучении гипотензивного действия комплексов НФ со СТ и стевиозидом SWETA при внутривенном введении показана их высокая базовая активность в той же дозе (3.5 мг/кг), что и комплекс НФ/ГК (1 : 4). Комплексы НФ/СТ (1 : 4) и НФ/SW (1 : 4) снижают АД на 26 (34 мм рт. ст.) и 32 % (46 мм рт. ст.) соответственно. Сами СТ и SW в дозе 3.5 мг/кг снижают АД только на 7 (10 мм рт. ст.) и 8 % (11 мм рт. ст.) соответственно (см. табл. 1). При сравнении гипотензивного действия двух комплексов следует отметить различие в снижении АД (на 6 %) при введении комплекса НФ/SW (1 : 4). Такое различие, возможно, связано с повышением стабильности комплекса со стевиозидом SWETA.

Антиаритмическое действие комплекса НФ/СТ (1 : 4) изучено на двух моделях аритмий – хлоридкальциевой и адреналовой. Установлена доза 0.15 мг/кг, при которой достигается 100 и 40 % выживаемость живот-

ных при введении агента до аритмогена на хлоридкальциевой и адреналовой модели аритмии соответственно. При введении агента в той же дозе на фоне развившейся аритмии выживаемость животных составила 20 % на хлоридкальциевой аритмии, а на адреналовой эффекта не наблюдалось (табл. 4).

Следует отметить высокую антиаритмическую активность самого стевиозида, который предотвращает развитие аритмии в среднем на 45 % на обеих моделях аритмии. Данное свойство может быть обусловлено известным для стевиозида антагонизмом кальция [12]. Исходя из этого, можно предположить, что комплексирование стевиозида НФ усиливает плейотропное действие последнего.

При изучении гипотензивного действия комплекса НФ/РБ (1 : 4) в дозе 3.5 мг/кг установлено снижение АД на 9 %, тогда как аналогичные комплексы НФ с ГК, СТ и SW снижают АД в среднем на 26 %. Данное различие в эффективности, возможно, связано со структурной особенностью и стабильностью комплекса. Одним из путей повышения активности этого комплекса может быть уменьшение количества РБ в его составе до соотношения НФ/РБ, равного 1 : 2. Изучение гипотензивной активности комплекса НФ/РБ (1 : 2) показало резкое (в 2.8 раза) повышение эффекта, что подтверждает предположение о зависимости базовой активности комплекса от количества молекул РБ (табл. 5).

Ввиду малой эффективности комплексов с НФ на адреналовой модели аритмии изучение антиаритмической активности комплекса НФ/РБ (1 : 4, 1 : 2) проведено только на модели хлоридкальциевой аритмии (табл. 6).

Установлено, что в дозе 0.0035 мг/кг оба комплекса при введении до аритмогена обес-

ТАБЛИЦА 4

Антиаритмическая активность комплекса нифедипина (НФ) со стевиозидом (СТ)

Агент	Доза, мг/кг	Количество выживших животных, %			
		Комплекс + аритмоген		Аритмоген + комплекс	
		CaCl <sub>2</sub>	Адреналин	CaCl <sub>2</sub>	Адреналин
НФ/СТ (1 : 4)	0.15	100	40	20	0
НФ	0.12	0	0	0	0
СТ	0.12	40	50	0	0

ТАБЛИЦА 5

Гипотензивная активность комплексов нифедипина (НФ) с ребаудиозидом (РБ)

Агент	Доза, мг/кг	Гипотензивный эффект, %
НФ/РБ (1 : 4)	3.5 (НФ 0.35)	9
НФ/РБ (1 : 2)	3.5 (НФ 0.7)	26
НФ	0.35	9
НФ	3.5	27
РБ	3.5	0

ТАБЛИЦА 6

Антиаритмическая активность комплексов нифедипина (НФ) с ребаудиозидом (РБ) на модели хлоридкальциевой аритмии

Агенты	Доза, мг/кг	Количество выживших крыс, %
НФ/РБ (1 : 4)	0.0035 (НФ 0.00035)	100
НФ/РБ (1 : 4)	0.0035 (НФ 0.0007)	100
НФ	0.00035	0
РБ	0.12	50

печивают 100 % выживаемость животных. При введении после аритмогена эффекта не обнаружено. Нифедипин в той дозе, в которой он содержится в комплексе (0.00035 мг/кг), антиаритмической активности не проявляет.

Таким образом, комплексы с ребаудиозидом отличаются от других изученных комплексов высокой базовой активностью фармакона в соотношении 1 : 2, а не 1 : 4. При этом уси-

ление плеiotропной активности сохраняется для обоих комплексов (НФ/РБ = 1 : 2 и 1 : 4).

### Комплексы с арабиногалактаном

Для изучения гипотензивной и антиаритмической активности получены комплексы НФ/АГ с различным содержанием АГ (1 : 4, 1 : 8, 1 : 16). В результате проведенного скрининга установлен дозозависимый эффект комплексов НФ/АГ при внутривенном введении. Показано, что при введении комплексов НФ/АГ (1 : 4, 1 : 8, 1 : 16) в максимальных дозах 35, 70 и 140 мг/кг (что соответствует дозе НФ 3.5 мг/кг) соответственно происходит увеличение гипотензивной активности от 41 до 54.6 %. При введении комплекса НФ/АГ (1 : 4) в более низких дозах (14, 7 и 3.5 мг/кг) АД снижается в среднем на 26 %. Аналогичное снижение АД отмечено и при введении комплекса НФ/АГ (1 : 8) в дозах 14 и 7 мг/кг и комплекса НФ/АГ (1 : 16) в дозах 28 и 14 мг/кг. Нифедипин в максимальной дозе (3.5 мг/кг) снижает АД на 31.4 %, а в минимальной дозе (0.35 мг/кг) – на 9 % (рис. 3).

Таким образом, установлено, что все исследованные комплексы НФ/АГ при внутривенном введении в диапазоне доз от 1.4 до 0.35 мг/кг (в пересчете на НФ) превосходят НФ по силе и по стабильности гипотензивного действия. Сам АГ не вызывает статистически значимого снижения АД.

На основании полученных результатов по изучению гипотензивной активности для изучения антиаритмического свойства выбран

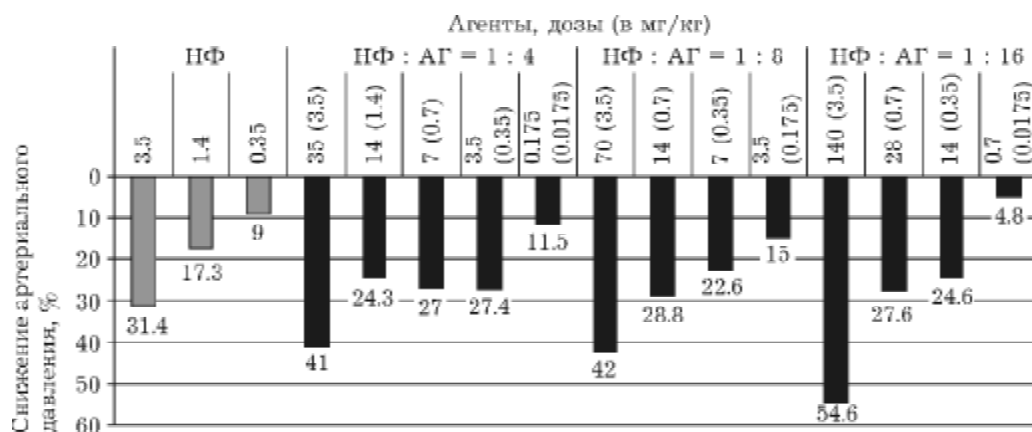


Рис. 3. Гипотензивная активность комплексов нифедипина (НФ) с арабиногалактаном (АГ).

комплекс НФ/АГ (1 : 4), обладающий стабильной гипотензивной активностью в широком диапазоне доз (см. табл. 3).

Установлено, что комплекс в дозе 0.175 мг/кг (доза НФ 0.0175 мг/кг) при введении до аритмогена купирует наступление летального нарушения сердечного ритма в 100 % случаев, а при введении после аритмогена – только в 65 % случаев. Нифедипин, введенный в дозе 0.017 мг/кг, не проявляет антиаритмического действия на модели хлоридкальциевой аритмии.

Таким образом, результаты комплексообразования НФ с полисахаридом АГ сопоставимы с результатами, полученными при комплексообразовании с растительными гликозидами, характеризующимися высокой гипотензивной и антиаритмической активностью при десятикратном снижении дозы НФ.

Как отмечено выше, при изучении фармакологических свойств комплекса АМД/ГК (1 : 4) характерного для комплексообразования эффекта снижения дозы фармакона при сохранении высокой базовой активности не обнаружено. В связи с этим представляло интерес изучить возможность комплексообразования АМД с АГ. Для этой цели нами использован комплекс АМД/АГ в молекулярном соотношении 1 : 4 в дозе 0.005 мг/кг, аналогично применяемой ранее для комплекса АМД/ГК (1 : 4).

При изучении антиаритмической активности комплекса АМД/ГК (1 : 4) показано, что на модели хлоридкальциевой аритмии происходит 100 % предупреждение развития аритмии и незначительная (30 %) ее блокада (см. табл. 3). В результате проведенного исследования установлено, что комплексообразование АМД с полисахаридом АГ не привело к существенным изменениям фармакологической активности комплекса АМД/АГ (1 : 4).

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Обобщая полученные результаты, следует отметить, что наиболее перспективными

для дальнейшего фармакологического изучения являются все исследованные комплексы нифедипина, за исключением комплекса НФ/РБ (1 : 4). Среди остальных выделяется комплекс ПП/ГК (1 : 4) в дозе 0.0025 мг/кг, который показал хорошую антиаритмическую активность. Что касается комплексов с амиодароном, то можно заключить, что комплексообразование этого фармакона углеводсодержащими растительными метаболитами, использованными в наших экспериментах, не приводит к желаемому снижению эффективной дозы, а, наоборот, ухудшает его антиаритмический эффект.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы Президиума РАН “Фундаментальные науки – медицине” № 21.7. “Разработка высокоэффективных лекарственных препаратов путем комплексообразования фармаконов растительными углеводсодержащими метаболитами”.

#### **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

- 1 Kearney P. M., Whelton M., Reynolds K., Muntner P., Whelton P. K., He J. // *Lancet*. 2005. Vol. 365. P. 217.
- 2 Шальнова С. А., Баланова Ю. А., Константинов В. В. // *РКЖ*. 2006. № 4. С. 45.
- 3 ESH-ESC Guidelines Committee. // *J. Hypertension*. 2007. No. 25. P. 1105.
- 4 Johnston G. D. // *Pharm. Ther.* 1992. No. 55. P. 53.
- 5 Zaidenstein R., Eyal S., Efrati S., Akivison L., Michowitz M. K., Nagornov V., Golik A. // *Pharm. Drug Safety*. 2002. No. 11. P. 235.
- 6 Gholami K., Ziaie S., Shalviri G. // *Pharm. Pract.* 2008. No. 6. P. 51.
- 7 Faulx M. D., Francis G. S. // *Curr. Probl. Cardiol.* 2008. No. 33. P. 703.
- 8 Толстикова Т. Г., Толстиков А. Г., Толстиков Г. А. // *Вестн. РАН*. 2007. Т. 77. С. 867.
- 9 Душкин А. В., Метелева Е. С., Толстикова Т. Г., Толстиков Г. А., Поляков Н. Э., Неверов Н. А., Медведева Е. Н., Бабкин В. А. // *Изв. РАН*. 2008. № 6. С. 1274.
- 10 Пат. РФ 2337710, 2008.
- 11 Машковский М. Д. *Лекарственные средства*. изд. 15, М.: Новая волна, 2005.
- 12 Lee Ch. N., Wong K. L., Liu J. Ch., Chen Y. J., Cheng J. T., Chan P. // *Planta Med.* 2001. No. 67. P. 796.