

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 615.451.454

14.04.01 Технология получения лекарств

DOI: 10.37903/vsgma.2021.2.22

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ С ДИПИРИДАМОЛОМ**© Абдурахманов А.М.¹, Степанова Э.Ф.¹, Огай М.А.¹, Нам Н.Л.², Поздняков Д.И.¹, Баркаев Г.С.³, Лосенкова С.О.⁴**¹Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ, 357532, Россия, Пятигорск, пр-т Калинина, 11²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, 117513, Россия, Москва, ул. Островитянова, 1, строение 7³Дагестанский государственный медицинский университет, 367000, Россия, Махачкала, ул. Ленина, 1⁴ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет, 214019, Россия, Смоленск, ул. Крупской, 28*Резюме*

Цель. Фармакологические исследования специфической активности (степени выраженности сосудорасширяющего и антиагрегантного действия) новых лекарственных форм с дипиридамолом (буккального геля и лекарственного сиропа).

Методика. Изучение специфической фармакологической активности разработанных лекарственных форм с дипиридамолом выполнено на кроликах-самцах породы «Калифорния». Оценку выраженности сосудорасширяющего и антиагрегантного действия буккального геля и лекарственного сиропа с дипиридамолом в сравнении с его таблетированной формой (референтный лекарственный препарат) осуществляли у животных без моделирования сопутствующего патологического процесса. Предварительно у кроликов производили забор крови для определения исходных показателей агрегации тромбоцитов, а также оценивали первоначальную скорость кровотока в области центральной ушной вены. Далее у животных через 0,5 ч., 1 ч. и далее в течение 15 ч. с часовым интервалом осуществляли повторный забор крови для оценки агрегационной активности тромбоцитов, параллельно определяя изменение скорости кровотока.

Результаты. В ходе экспериментальных исследований влияния разработанных лекарственных форм на агрегационную активность тромбоцитов и скорость кровотока было установлено, что после однократного введения 0,5% буккального геля и 0,5% сиропа с дипиридамолом в дозе 4 мг/кг веса животного (в пересчете на дипиридамолом) степень агрегации тромбоцитов достоверно снижалась по отношению к исходному показателю и контролю, при этом скорость кровотока по отношению к исходному уровню и контролю достоверно увеличивалась.

Заключение. Результаты фармакологических исследований указывают на то, что буккальный гель, сироп с дипиридамолом, а также таблетки дипиридамола 25 мг (ООО «Озон», Россия), проявляли сопоставимую антиагрегантную и вазодилатирующую активность на пике действия активного компонента (0,5-2 часа). При применении 0,5% буккального геля с дипиридамолом наблюдалось пролонгирование вазодилатирующего и антиагрегантного эффектов на протяжении всего эксперимента.

Ключевые слова: дипиридамолом, антиагрегантная активность, вазодилатирующая активность, буккальный гель, сироп

PHARMACOLOGICAL STUDIES OF NEW DOSAGE FORMS WITH DIPYRIDAMOLE

Abdurakhmanov A.M.¹, Stepanova E.F.¹, Ogai M.A.¹, Nam N.L.², Pozdnyakov D.I.¹, Barkaev G.S.³, Losenkova S.O.⁴¹Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute-Branch of the Volga State Medical University, 11,

Kalinin Avenue, Pyatigorsk, 357532, Russia

²*Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, 1, building 7, Ostrovityanova St., Moscow, 117513, Moscow, Russia*

³*Dagestan State Medical University, 1, Lenin St., Makhachkala, 367000, Russia*

⁴*Smolensk State Medical University, 28, Krupskoj St., Smolensk, 214019, Russia*

Abstract

Objective. Pharmacological studies of the specific activity (severity of vasodilating and antiplatelet effects) of new dosage forms with dipyridamole (buccal gel and medicinal syrup).

Methods. The study of the specific pharmacological activity of the developed dosage forms with dipyridamole was performed on male rabbits of the "California" breed. The severity of the vasodilating and antiplatelet effects of the buccal gel and drug syrup with dipyridamole in comparison with its tablet form (reference drug) was evaluated in animals without modeling the concomitant pathological process [4, 5]. Previously, blood samples were taken from rabbits to determine the initial indicators of platelet aggregation, and the initial blood flow rate in the central ear vein was evaluated. Further, in animals after 0.5 hours, 1 hour, and then for 15 hours with an hour interval, repeated blood sampling was performed to assess the aggregation activity of platelets, simultaneously determining the change in blood flow rate.

Results. In the course of experimental studies of the effect of the developed dosage forms on platelet aggregation activity and blood flow rate, it was found that after a single administration of 0.5 % buccal gel and 0,5 % syrup with dipyridamole at a dose of 4 mg/kg of animal weight (in terms of dipyridamole), the degree of platelet aggregation significantly decreased in relation to the initial indicator and control, while the blood flow rate in relation to the initial level and control significantly increased.

Conclusion. The results of pharmacological studies indicate that the buccal gel, dipyridamole syrup, and dipyridamole tablets 25 mg (Ozon LLC, Russia) showed comparable antiplatelet and vasodilating activity at the peak of the active component (0.5-2 hours). When using 0.5% buccal gel with dipyridamole, the vasodilating and antithrombotic effects were prolonged throughout the entire experiment.

Keywords: dipyridamole, antiplatelet activity, vasodilating activity, buccal gel, syrup

Введение

Лекарственный препарат дипиридамола способен не только подавлять агрегацию и адгезию тромбоцитов, улучшать микроциркуляцию, но и оказывать мягкое сосудорасширяющее действие [1, 2, 5]. Одновременно с этим дипиридамола индуцирует интерферогенез, оказывает модулирующее действие на функциональную активность системы интерферона, повышает сниженную продукцию интерферона альфа- и гамма- лейкоцитами крови *in vitro*. В настоящее время это свойство препарата следует рассматривать как особо значимое, указывающее на перспективность и потенциальную востребованность новых лекарственных форм дипиридамола [6, 7, 8]. В настоящее время зарегистрированы две лекарственные формы дипиридамола – таблетки, покрытые пленочной оболочкой, а также суспензия для приема внутрь. Дипиридамола, как и любой лекарственный препарат, не лишен побочных эффектов, которые могут проявляться в виде повышения или урежения сердцебиения, приливов крови к лицу, гиперемии кожи лица, синдрома коронарного обкрадывания. Авторами предпринята попытка разработки новых лекарственных форм дипиридамола, нивелирующих побочные эффекты уже известных его лекарственных форм.

Цель исследования – фармакологические исследования специфической активности (степени выраженности сосудорасширяющего и антиагрегантного действия) новых лекарственных форм с дипиридамолом (буккального геля и лекарственного сиропа).

Методика

Изучение специфической фармакологической активности разработанных лекарственных форм дипиридамола выполнено на 16 кроликах-самцах породы «Калифорния» массой 2,0-2,5 кг, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово» (Ленинградская обл.). Перед

включением в исследование животные в течение 14 дней находились в карантинных условиях. При проведении эксперимента кролики содержались в контролируемых условиях вивария при температуре воздуха $20 \pm 2^\circ\text{C}$, относительной влажности воздуха $60 \pm 5\%$ и 12-ти часовой смене суточного цикла в сетчатых металлических клетках, снабженных капельной поилкой и резервуаром для подачи корма, по 4 особи в каждой. Корм и воду животные получали *ad libitum*. Все животные содержались с соблюдением требований, изложенных в Хельсинской декларации о гуманном обращении с животными. Экспериментальные процедуры соответствовали Directive 2010/63 / EU of the European Parliament and of the council on the protection of animals used for scientific purposes. Оценку выраженности сосудорасширяющего и антиагрегантного действия новых лекарственных форм (ЛФ) дипиридамола осуществляли у животных без моделирования сопутствующего патологического процесса. При этом выделяли следующие экспериментальные группы животных: контроль – группа животных, получавшая воду бидистиллированную ($n=4$); группа сравнения – группа кроликов ($n=4$), получавших перорально предварительно измельченную таблетированную ЛФ дипиридамола (ООО «Озон», Россия), а также две опытные группы животных, получавших дипиридамолом однократно перорально через гибкий силиконовый зонд в форме 0,5% лекарственного сиропа ($n=4$) и группа животных, получавших трансбуккально дипиридамолом в форме 0,5% гелевой композиции ($n=4$). Процедура трансбуккального (суббуккального) введения геля заключалась в том, что животное помещали в рестейнер, зубы фиксировали специальной накладкой, избегая, при этом, излишнего травматизма. Далее сосудистым зажимом отодвигали щеку животного и пластиковым шпателем наносили исследуемый гель. Через 10 минут снимали фиксатор с зубов. Для осуществления процедуры введения 0,5% лекарственного сиропа животное фиксировали в положении ортостаза, взяв за холку. Сироп отбирали шприцем объемом 10 мл, снабженным мягким силиконовым зондом и вводили в пищевод. Дозы вводимых ЛФ определяли из расчета 4 мг/кг веса животного в пересчете на содержание субстанции дипиридамола [9]. Предварительно у кроликов производили забор крови для определения исходных показателей агрегации тромбоцитов, а также оценивали первоначальную скорость кровотока в области центральной ушной вены. Далее у животных через 0,5 часа, 1 час и далее в течение 15 часов с интервалом в 1 час осуществляли повторный забор крови для оценки агрегационной активности тромбоцитов, параллельно определяя изменение скорости кровотока.

Забор биоматериала. Цельную кровь у кроликов отбирали через внутривенный катетер G12 из краевой ушной вены в пробирки типа «Эппендорф» с цитратным наполнением. Далее кровь центрифугировали при 1 500 об/мин 10 мин. Полученную сыворотку крови брали для определения агрегационной активности тромбоцитов.

Анализ агрегационной активности тромбоцитов. В ходе анализа использовали систему двухканального лазерного анализатора агрегации тромбоцитов АЛАТ-2 «БИОЛА» (НПФ «БИОЛА», Россия). В кювету анализатора вносили 0,3 мл плазмы, инкубировали при температуре 37°C в течение 3-х мин. После указанного времени в анализируемую среду вносили индуктор агрегации – аденозин-5-дифосфатдинатрий (АДФ, НПО «Ренам») в конечной концентрации 5 мкМ. Процесс агрегации тромбоцитов регистрировали на протяжении 300 секунд. С помощью полученных агрегатограмм методом определения среднего размера агрегатов оценивали степень и скорость агрегации кровяных пластинок [4].

Оценка изменения уровня кровотока. Скорость кровотока (среднюю систолическую) в бассейне краевой ушной вены определяли методом ультразвуковой доплерографии датчиком УЗОП-010-01 (25МГц). Обработку полученного сигнала осуществляли в программном пакете ММ-Д-К-Minimax Doppler v.2.1, («Минимакс Допплер» (Санкт-Петербург, Россия)). В качестве среды использовали контактный гель «УНИАгель» [3].

Статистический анализ. Результаты экспериментов обрабатывали методами вариационной статистики с применением возможностей программного комплекса «STATISTICA 6.0». Полученные данные подвергались тесту на нормальность распределения согласно критерию Шапиро-Уилка. Для сравнения групп средних применяли параметрические методы – ANOVA с пост-тестом Ньюмена-Кейлса и непараметрические методы статического анализа – Краскелла-Уоллиса. Отличия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Динамика изменения степени агрегации тромбоцитов на фоне однократного введения кроликам новых лекарственных форм дипиридамола и референтного ЛП представлена на рис. 1. В ходе данного экспериментов было установлено, что после однократного введения таблетированной ЛФ

степень агрегации тромбоцитов через 30 мин., 1 ч. и 2 ч. уменьшилась по отношению к исходным данным (рис. 1).

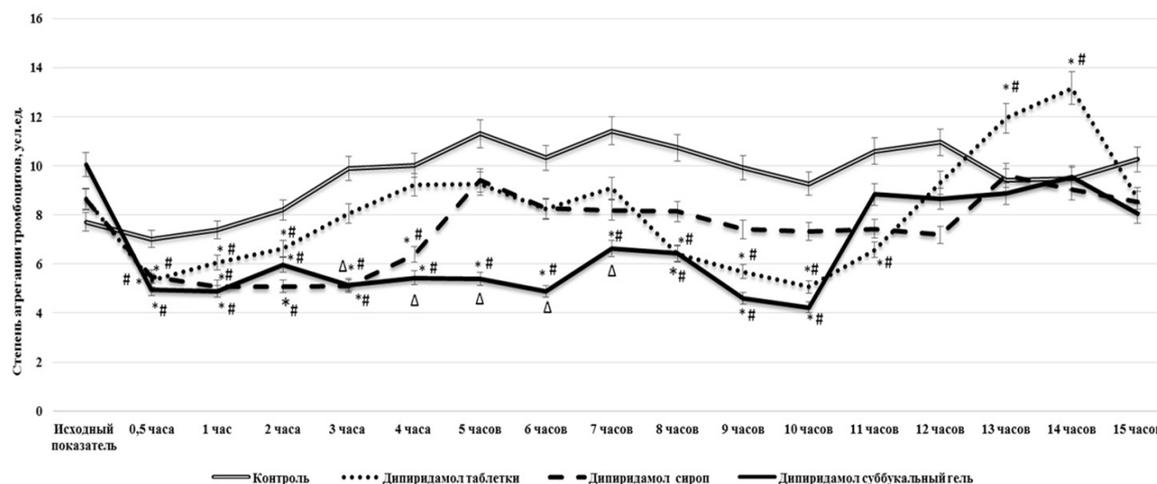


Рис. 1. Динамика изменения степени агрегации тромбоцитов на фоне однократного введения кроликам новых лекарственных форм дипиридамола и референта. * – статистически значимо относительно группы контроля (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$); # – статистически значимо относительно исходного значения группы (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$); Δ – * – статистически значимо относительно группы животных, получавших референтный лекарственный препарат (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$)

В сравнении с группой контроля степень агрегации кровяных пластинок при применении таблеток дипиридамола снизилась в аналогичном временном промежутке. В дальнейшем в диапазоне от 3 до 7 ч. у группы животных, получавших таблетки дипиридамола, отмечено восстановление агрегационной активности тромбоцитов с последующим уменьшением степени агрегации кровяных пластинок через 8, 9, 10 и 11 ч. с момента введения по отношению к исходному показателю и относительно группы контроля. Стоит отметить, что спустя 13 и 14 ч. после введения таблеток дипиридамола отмечено повышение степени агрегации тромбоцитов по отношению к группе контроля и в сравнении с исходным показателем.

На фоне перорального введения животным сиропа дипиридамола через 30 мин. и 1-4 ч. отмечено снижение степени агрегации тромбоцитов по отношению к исходному показателю данной группы животных и в сравнении с показателями группы контроля. Трансбуккальное введение геля с дипиридамолом способствовало уменьшению степени агрегации кровяных пластинок во временном диапазоне 0,5-10 ч. относительно группы контроля, а также по отношению к исходному показателю данной группы кроликов. При этом во временном интервале с 3 до 7 ч. степень агрегации тромбоцитов, получавших трансбуккально гель с дипиридамолом, была ниже аналогичной у кроликов, которым вводили таблетированную форму дипиридамола ($p < 0,05$).

Анализируя изменение скорости агрегации тромбоцитов на фоне введения животным таблеток дипиридамола (группа сравнения), отмечено снижение данного показателя по отношению к исходному показателю и в сравнении с показателем группы контроля через 0,5, 1, 2, 8, 9 и 10 ч. соответственно (рис. 2).

Применение 0,5% сиропа с дипиридамолом способствовало уменьшению скорости агрегации тромбоцитов на временном отрезке эксперимента 0,5-2 ч. по сравнению с группой контроля, а также с исходным показателем данной группы кроликов. У группы животных, получавших трансбуккально гель с дипиридамолом, отмечено снижение агрегации тромбоцитов по отношению к исходному показателю на интервале 0,5-8 ч., а также в сравнении с контрольной группой кроликов на отрезке 0,5-6 ч. При этом скорость агрегации тромбоцитов у кроликов, которым вводили буккальный гель с дипиридамолом, через 2-7 ч. введения была ниже аналогичной у животных, получавших референтный ЛП.

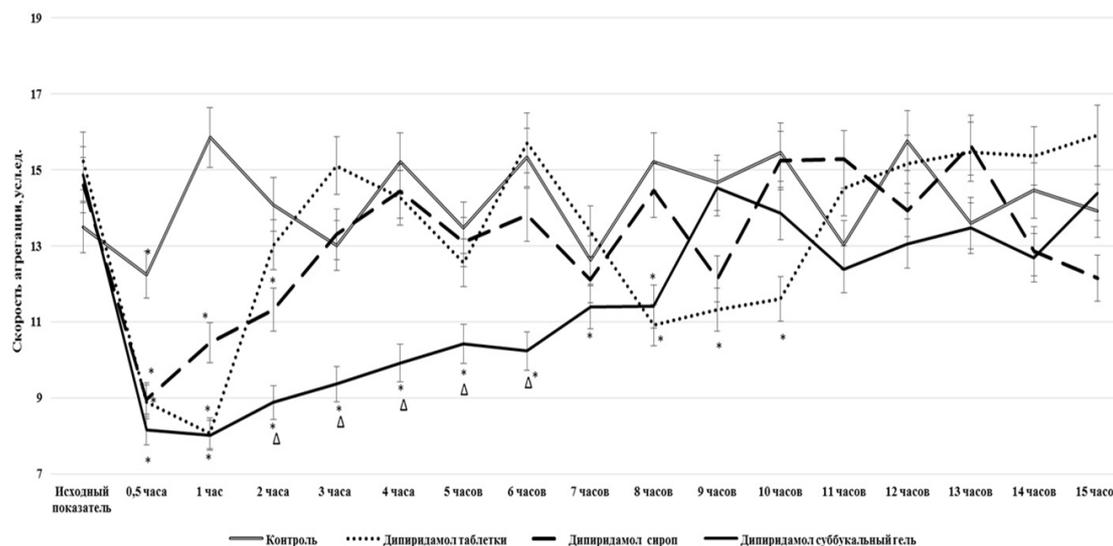


Рис. 2. Динамика изменения скорости агрегации тромбоцитов на фоне однократного введения кроликам новых лекарственных форм дипиридамола и референта. * – статистически значимо относительно группы контроля (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$); # – статистически значимо относительно исходного значения группы (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$); Δ – * – статистически значимо относительно группы животных, получавших референтный ЛП (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$)

Оценивая изменение скорости кровотока у кроликов, было установлено, что у животных, получавших таблетки дипиридамола (рис. 3), наблюдалось увеличение данного показателя по отношению к исходному значению через 0,5-3 ч., а также в сравнении с группой контроля спустя 0,5-2 ч. от момента введения соответственно. Стоит отметить, что на 12-й и 13-й ч. после введения таблеток дипиридамола скорость кровотока была ниже исходной у данной группы кроликов. Применение сиропа с дипиридамолом способствовало повышению скорости кровотока через 0,5-3 ч. от момента введения относительно исходного показателя данной группы животных.

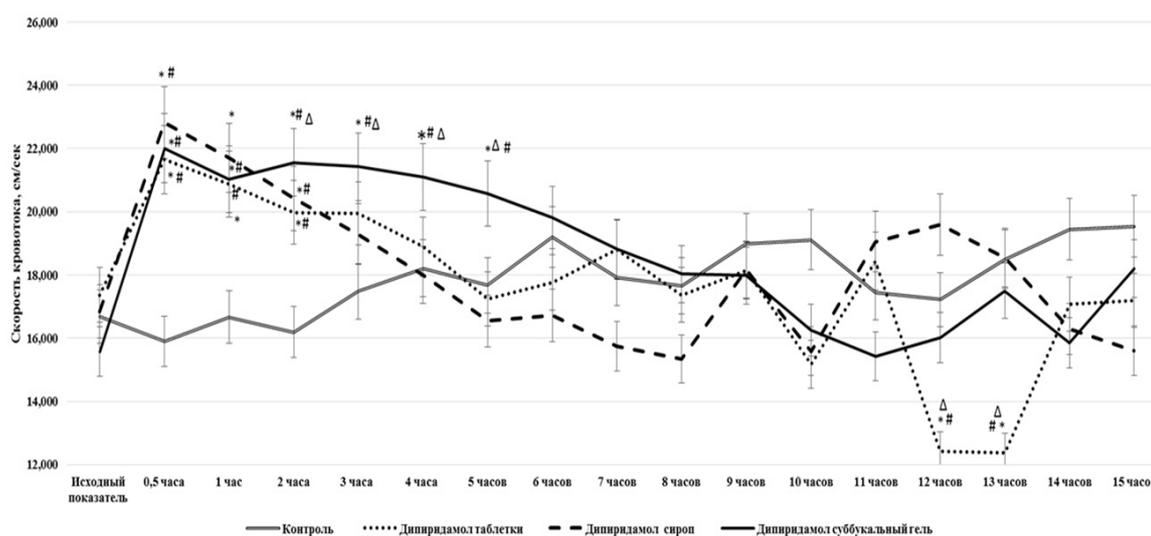


Рис. 3. Динамика изменения скорости кровотока на фоне однократного введения кроликам новых лекарственных форм дипиридамола и референта. * – статистически значимо относительно группы контроля (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$); # – статистически значимо относительно исходного значения группы (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$); Δ – * – статистически значимо относительно группы животных, получавших референтный ЛП (тест Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$)

По сравнению с группой контроля у кроликов, которым вводили 0,5% сироп дипиридамола, скорость кровотока была выше спустя 0,5-3 ч. от начала эксперимента. При применении 0,5% буккального геля с дипиридамолом отмечено повышение скорости кровотока по отношению к группе контроля через 0,5-5 ч. от начала эксперимента и в сравнении с исходным показателем данной группы животных в интервале 0,5-6 ч. При этом у животных, которым вводили буккальный гель с дипиридамолом, скорость кровотока через 2-5 ч. и 12-13 ч. от момента введения была достоверно выше показателей группы сравнения.

Заключение

Результаты исследования указывают на то, что разработанные новые ЛФ дипиридамола 0,5% буккальный гель, 0,5% лекарственный сироп, а также референтный ЛП дипиридамола в форме таблеток (ООО «Озон», Россия) в дозе 4мг/кг веса животного, характеризуются равной антитромбоцитарной и вазодилатирующей активностью на пике действия активного компонента (0,5-2 ч.). Однако, при применении таблеток дипиридамола наблюдалось отсроченное повышение агрегационной активности тромбоцитов через 12-14 ч. от момента введения препарата и понижение скорости кровотока через 12-13 ч. от момента введения («синдром отмены»), чего не было отмечено при введении животным сиропа и буккального геля с дипиридамолом. Кроме того, на фоне трансбуккального введения геля с дипиридамолом достигалось пролонгирование вазодилатирующего и антитромботического эффектов. Таким образом, две разработанные лекарственные формы дипиридамола могут обеспечивать лучший профиль фармакобезопасности по сравнению с референтом – таблетками дипиридамола, в то время буккальный гель с дипиридамолом наряду с оптимальным токсикологическим профилем обеспечивает увеличение продолжительности действия активного компонента до 6-7 ч.

Литература (references)

1. Барышникова Г.А. Дипиридамолом в общетерапевтической практике // Проблемы женского здоровья. – 2007. – Т.2, №1. – С. 88-97. [Baryshnikova G.A. *Problemy zhenskogo zdorov'iy*. Women's health problems. – 2007. – Т.2, N1. – P. 88-97. (in Russian)]
2. Бурашникова И.С., Цветов В.М., Мирзаев К.Б. [и др.] Возможности и перспективы применения препарата дипиридамолом у пациентов с Covid-19 // Качественная клиническая практика. – 2020. – № S4. – С. 92-95. [Burashnikova I.S., Tsvetov V.M., Mirzaev K.B. [i dr.] *Kachestvennaya klinicheskaij practica*. Quality clinical practice. – 2020. – NS4. – P. 92-95. (in Russian)]
3. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Мамлеев А.В. Изучение вазодилатирующей и антитромботической функций эндотелия сосудов головного мозга крыс на различных моделях его ишемического повреждения // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №5. – С. 264. [Voronkov A.V., Pozdnyakov D. I., Mamliev A.V. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. Modern problems of science and education. – 2015. – N5. – P. 264. (in Russian)]
4. Габбасов З.А., Попов Е.Г., Гаврилов И.Ю. и др. Новый высокочувствительный метод анализа агрегации тромбоцитов // Лабораторное дело. – 1989. – №10. – С. 15-18. [Gabbasov Z.A., Popov E.G., Gavrilov I.Y. i dr. *Laboratornoie delo*. Laboratory work. – 1989. – N10. – P. 15-18. (in Russian)]
5. Глижова Т.Н., Степанова Э.Ф. Оптимизация технологии и биофармацевтическое изучение суппозиторий, содержащих АСК и дипиридамолом // Фундаментальные исследования. – 2010. – №11. – С. 141-144. [Glizhova T.N., Stepanova E.F. *Fundamental'nyye issledovaniya*. Fundamental research. – 2010. – N11. – P. 141-144. (in Russian)]
6. Танашян М.М., Домашенко М.А. Дипиридамолом в комплексной терапии хронических цереброваскулярных заболеваний // Нервные болезни. – 2012. – №3. – С. 27-30. [Tanashyan M.M., Domashenko M.A. *Nervnye bolezni*. Nervous diseases. – 2012. – N3. – P. 27-30. (in Russian)]
7. Туаршева С.М., Ключева Е.Г., Голдобин В.В. и др. Коррекция гемореологических нарушений у пациентов с патологической извитостью магистральных артерий головы // Российский нейрохирургический журнал им. профессора А.Л. Поленова. – 2012. – Т.4, №2. – С. 28-32. [Tuarshева S.M., Klocheva E.G., Goldobin V.V. i dr. *Rossiyskiy neyrochirurgicheskiy zhurnal imeni professora A.L. Polenova*. Russian neurosurgical journal named after professor A.L. Polenov. – 2012. – V.4, N2. – P. 28-32. (in Russian)]
8. Щекина И.А., Николаевский В.А. Экспериментальная оценка комбинированного действия аспирина кардио и дипиридамолом на систему регуляции агрегатного состояния крови // Прикладные

информационные аспекты медицины. – 1999. – Т.2, №2. – С. 64-71. [Shchekina I.A., Nikolaevsky V.A. *Prikladnye informacionnye aspekty mediciny*. Applied information aspects of medicine. – 1999. – V.2, N2. – P. 64-71. (in Russian)]

9. Miura T., Ogawa T., Iwamoto T. et al. Dipyridamole potentiates the myocardial infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning // *Circulation*. – 1992. – V.86(3). – P. 979-985.

Информация об авторах

Абдурахманов Арсен Магомедпашаевич – аспирант кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии ПМФИ – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградского государственного медицинского университета». E-mail: abdurahmanov98@yandex.ru

Степанова Элеонора Федоровна – профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии ПМФИ – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградского государственного медицинского университета». E-mail: efstepanova@yandex.ru

Огай Марина Алексеевна – профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии ПМФИ – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградского государственного медицинского университета». E-mail: marinfarm@yandex.ru

Нам Наталия Леонидовна – доцент кафедры химии ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова». E-mail: namnl@rambler.ru

Поздняков Дмитрий Игоревич – доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградского государственного медицинского университета». E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Баркаев Гасбулла Сулейманович – заведующий кафедрой фармации ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет». E-mail: farmacia-gmu@yandex.ru

Лосенкова Светлана Олеговна – заведующая кафедрой фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет». E-mail: losenkova-so@mail.ru

Конфликт интересов: автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.