

УДК 615.218.3: 615.224

О. П. СТРИЛЕЦ

Национальный фармацевтический университет

## ИЗУЧЕНИЕ БЕЗВРЕДНОСТИ НОВОГО КОМБИНИРОВАННОГО ГИПОТЕНЗИВНОГО ПРЕПАРАТА

*Исследовано местнораздражающее и аллергизирующее действие нового комбинированного антигипертензивного препарата в виде таблеток. В качестве объекта исследований использовали насыпную массу для приготовления таблеток под условным названием «Амлид», в состав которой входили амлодипин, лизиноприл, индапамид и вспомогательные вещества. Местнораздражающее действие изучали на кроликах путем закапывания взвеси препарата в конъюнктивальный мешок глаза. Исследования аллергизирующего действия были поставлены на морских свинках светлой масти. Учитывая пероральный путь введения разработанной лекарственной формы, животных опытных групп сенсибилизировали внутрижелудочно и проводили накожную сенсибилизацию, диагностические тесты *in vitro*: реакцию специфической агломерации лейкоцитов и реакцию альтерации нейтрофилов, определяли число эозинофилов в крови. Поставленная в отдельной серии конъюнктивальная проба на морских свинках показала, что исследуемый препарат не вызывает развития аллергических реакций. Доказано, что комбинированный антигипертензивный препарат не выявляет местнораздражающего и аллергического действия.*

**Ключевые слова:** гипертензия; комбинированный гипотензивный препарат; местнораздражающее, аллергизирующее действие

### ВВЕДЕНИЕ

Артериальная гипертензия (АГ) является мощным, но потенциально устранимым фактором риска, оказывающим существенное влияние на показатели сердечно-сосудистых заболеваний и летальность от них. Для достижения эффективной терапии в практической медицине патогенетически обоснованно назначаются несколько лекарственных препаратов из различных фармакологических групп. Основными классами антигипертензивных препаратов считаются тиазидные и тиазидоподобные диуретики,  $\beta$ -адреноблокаторы, антагонисты кальция, ингибиторы АПФ, блокаторы АТ-ангиотензиновых рецепторов и блокаторы альдостероновых рецепторов [1,4]. Результаты многочисленных клинических исследований показывают, что нормализация артериального давления (АД) в обычных условиях и в режиме монотерапии достигается лишь у 9–30% пациентов, однако применение двух и более лекарственных препаратов увеличивает шансы нормализации и адекватного контроля за АД до 70–90%. Следовательно, наиболее оправданным с современной точки зрения является подход в лечении АГ комбинированной терапией [6,9,10].

Поэтому разработка состава и технологии новых комбинированных препаратов с антигипертензивным действием на основе субстанций с разными механизмами действия является актуальным направлением современной фармации и медицины. В состав нового комбинированного препарата под условным названием «Амлид» в форме таблеток входят три синтетических компонента (амлодипин, лизиноприл, индапамид) и вспомогательные вещества.

В общую программу изучения безвредности новых лекарственных препаратов входит выявление у них аллергизирующего действия. Проблема аллергических заболеваний является важнейшей медико-социальной проблемой современности, значение которой будет возрастать в последующие годы.

Целью данной работы было изучение местнораздражающего и аллергизирующего действия нового комбинированного антигипертензивного препарата.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Местнораздражающее действие исследуемого препарата изучали в специальной серии опытов на кроликах массой 1,8–2,0 кг путем закапывания 1 капли 0,1% взвеси препарата в 3% крах-

мальной слизи в конъюнктивальный мешок правого глаза, левый служил в качестве контроля. Наблюдение за состоянием слизистой проводили через 1, 2 и 24, часа, и затем в течение 7 дней и отмечали состояние глаз: гиперемия, отечность конъюнктивы, слезотечение, реакцию зрачка на свет, состояние глазной щели [7].

Возможное алергизирующее действие изучали согласно методическим рекомендациям по оценке алергенных свойств фармакологических средств, используя комбинированный (пероральный и накожный) способ сенсибилизации [5].

Опыты поставлены на морских свинках светлой масти массой 610–700 г. Животные были разделены на 3 группы. Морские свинки первой группы служили контролем и получали 3% крахмальную слизь, животным второй (опытной) группы вводили исследуемый препарат в рекомендованной терапевтической дозе (4 мг/кг), животным 3-й группы — в дозе, в 10 раз превышающей терапевтическую дозу (40 мг/кг).

Учитывая пероральный путь введения, рекомендованный для исследуемого препарата, животных опытной группы сенсибилизировали по следующей схеме: свинкам 1-й опытной группы (4 мг/кг) вводили препарат внутривентриально по 1–2 капли 0,05% взвеси препарата в 3% крахмальной слизи; свинкам 2-й опытной группы (40 мг/кг) — по 1–2 капли 0,5% взвеси препарата в 3% крахмальной слизи 1 раз в день в течение 30 дней и параллельно проводили накожную сенсибилизацию [3]. Для этого на выстриженный на левом боку участок кожи размером 2х2 см наносили накожно и слегка втирали шпателем по 1 капле (сенсибилизирующая доза) разведенного препарата также в течение 30 дней.

Животных контрольной группы сенсибилизировали по аналогичной схеме: вводили внутривентриально и на кожу 3% крахмальную слизь в аналогичных объемах.

На 10-й, 15-й и 30-й день сенсибилизации осуществляли внутривентриальное алерготестирование: свинкам и контрольной, и опытных групп на новом, выстриженном на правом боку участке кожи размером 2х2 см вводили разрешающую дозу (10 капель = 0,1 мл): свинкам 1-й опытной группы — внутривентриально 0,1 мл 0,05% взвеси препарата в 3% крахмальной слизи; свинкам 2-й опытной группы — внутривентриально 0,1 мл 0,5% взвеси препарата в 3% крахмальной слизи; свинкам контрольной группы — внутривентриально 0,1 мл 3% крахмальной слизи.

Критерием сенсибилизации служили кожные проявления, оценка которых проводилась в баллах по шкале: 0 баллов — видимой реакции

нет; 1 балл — очаговая эритема по всему участку и по его периферии; 2 балла — сплошное бледно-розовое пятно или сливающаяся очаговая эритема (красные пятна на розовом фоне); 3 балла — красная эритема по всему участку; 4 балла — инфильтрация и отек кожи; 5 баллов — эритема, выраженная инфильтрация, очаговые изъязвления.

В случае отрицательных результатов дополнительно проводили сенсибилизацию еще 10 дней. По окончании введения осуществляли второе внутривентриальное алерготестирование.

Кроме того, у этих животных на 30-й день сенсибилизации брали кровь и проводили диагностические тесты *in vitro*: реакцию специфической агломерации лейкоцитов (РСАЛ) и реакцию альтерации нейтрофилов (РАН) [8]. Также определяли число эозинофилов в крови на гематологическом анализаторе. В динамике измеряли температуру тела животных в прямой кишке электронным медицинским термометром МТ3001 и на выстриженном участке кожи электротермометром ТПЭМ-1, а также определяли массу тела животных.

Из специфических методов для выявления сенсибилизирующих свойств исследуемого препарата в отдельной серии опытов на сенсибилизированных морских свинках (12 шт.) ставили конъюнктивальную пробу [3]. С этой целью им закапывали 1 каплю 0,05% взвеси препарата на 3% крахмальной слизи в правый глаз, в левый — контрольный — 1 каплю 3% крахмальной слизи. Учет реакции осуществляли через 15 минут (быстрая реакция) и через 24–48 часов (реакция замедленного типа), результаты оценивали в баллах: 1 — легкое покраснение слизистой в области устья слезного протока; 2 — покраснение слизистой в области устья слезного протока и склеры в направлении к роговице; 3 — покраснение всей конъюнктивы и склеры [3].

Данные доклинических исследований статистически обрабатывались методом вариационного ряда по критерию Стьюдента. Для оценки достоверности полученных результатов принят уровень значимости  $P \leq 0,05$  [2].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При наблюдении за опытными животными отмечено, что ни у одного из 6 кроликов во все сроки наблюдения после инстилляций не отмечалось гиперемии, отечности конъюнктивы, слезотечения, изменения состояния глазной щели и реакции зрачков на свет. Следовательно, исследуемый препарат при однократном введении у кроликов не проявляет раздражающего действия.

Проведенные исследования показали, что пероральное введение препарата «Амлид» в исследуемых дозах с одновременной накожной аппликацией не изменяет общего состояния животных — они умеренно подвижны, пищевая активность не нарушена. Гибели животных не отмечалось. Масса животных в течение эксперимента увеличивалась во всех группах. В конце опыта прибавление в весе в контрольной группе составляло 7,22 %, в опытных группах соответственно 1,4 % («Амлид» в дозе 4 мг/кг) и 10,37 % («Амлид» в дозе 40 мг/кг) (табл. 1).

Температура тела в прямой кишке и на поверхности кожи практически не изменялась в течение опыта у животных контрольной группы и соответствовала исходным данным. Отмечалось лишь повышение температуры на поверхности кожи (на 10-й и 15-й день — 37,8°C и 37,3°C против исходных 36,9°C) и температуры тела в прямой кишке (на 15-й день — 39,3°C против исходных 38,0°C) с нормализацией к концу опыта.

Температура тела морских свинок в опытной группе с «Амлидом» (4 мг/кг) повышалась к концу опыта на 1,2°C по сравнению с исходной и на 0,9°C с таковой в контроле. В опыте с «Амлидом» (40 мг/кг) на 30-й день опыта отмечалось повышение температуры тела на 0,9°C по сравнению с таковой в контроле ( $P \leq 0,05$ ).

Температура кожи морских свинок в опытной группе с «Амлидом» (4 мг/кг) сохранялась стабильной; в опыте с «Амлидом» (40 мг/кг) на 30-й день опыта она была выше, чем у контрольной группы, но соответствовала исходной температуре (табл. 1).

При внутрикожном тестировании на 10-й, 15-й и 30-й день опыта взвесью препарата «Амлид» в двух дозах явлений раздражения, эритемы, инфильтрации, очаговых изъязвлений или шелушения кожи во всех группах не отмечалось (табл. 2).

Таким образом, при длительной комбинированной сенсibilизации исследуемым препара-

Таблица 1

**ПОКАЗАТЕЛИ ОБЩЕГО СОСТОЯНИЯ МОРСКИХ СВИНОК ПРИ СЕНСIBILИЗАЦИИ ПРЕПАРАТОМ «АМЛИД»**

Группы животных		Исследуемые показатели		
		масса, г	температура в прямой кишке, °C	температура кожи, °C
Контрольная группа	Исходные данные	508,3±40,2	38,0±0,6	36,9±0,6
	10-й день	530,8±28,5	38,7±0,4	37,8±0,4*
	15-й день	540,8±15,6	39,3±0,3*	37,3±0,4*
	30-й день	545,0±16,7	38,3±0,6	36,7±0,7
Амлид, 4 мг/кг	Исходные данные	533,3±113,5	37,9±0,6	36,9±0,9
	10-й день	550,8±97,3	37,9±0,5**	36,9±0,4**
	15-й день	542,5±100,2	39,1±0,4*	37,7±0,4**
	30-й день	540,8±109,1	39,1±0,3*,**	37,4±0,7
Амлид, 40 мг/кг	Исходные данные	497,5±106,1	38,7±0,5	38,0±0,5**
	10-й день	485,8±100,3	38,8±0,8	38,2±0,2
	15-й день	507,5±95,2	39,0±0,5	38,0±0,2**
	30-й день	549,1±89,6	39,2±0,5**	38,0±0,7**

Примечание: \* —  $P < 0,05$  с исходными данными;  
\*\* —  $P < 0,05$  с контролем.

Таблица 2

**ВЫРАЖЕННОСТЬ ВНУТРИКОЖНЫХ ПРОБ У МОРСКИХ СВИНОК В ПРОЦЕССЕ ИЗУЧЕНИЯ АЛЛЕРГИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА «АМЛИД»**

Сроки тестирования	Метод тестирования	Группы животных					
		контроль		«Амлид», 4 мг/кг		«Амлид», 40 мг/кг	
		А	Б	А	Б	А	Б
10-й день	Внутрикожный	—	0	—	0	—	0
15-й день	Внутрикожный	—	0	—	0	—	0
30-й день	Внутрикожный	—	0	—	0	—	0

Примечание: А — число животных с положительной реакцией;  
Б — интенсивность реакции в баллах.

том «Амлід» в двух дозах (4 мг/кг, 40 мг/кг) в течение 30 дней отсутствовали положительные кожные реакции.

Реакция специфической агломерации лейкоцитов (РСАЛ) показала, что % агломерированных (склеивающихся) лейкоцитов в опытных группах не превышал таковой в контроле (табл. 3).

Приведенные в табл. 3 данные свидетельствуют об отсутствии сенсibiliзирующего действия «Амлида» в исследуемых дозах, определяемого в тесте РСАЛ.

Реакция альтерации нейтрофилов (РАН), отражающая степень аллергической дегенерации нейтрофилов и их внутриклеточных органелл под влиянием сенсibiliзации исследуемым препаратом «Амлід» в исследуемых дозах, также свидетельствовала об отсутствии сенсibiliзирующего действия (табл. 4).

Абсолютное число эозинофилов в опытных группах статистически достоверно снижалось на 64,3 % по сравнению с контролем (P 0,05) (табл. 5).

Проведенные исследования показывают, что препарат «Амлід» в исследуемых дозах при одновременной пероральной и накожной сенсibiliзации морских свинок в течение 30 дней не оказывает алергизирующего действия. Это подтверждается отрицательными данными

внутрикожного алерготестирования на 10-й, 15-й и 30-й дни опыта, изменениями температуры животных в прямой кишке и кожной температуры в пределах нормы, отрицательными результатами таких показателей сенсibiliзации как РСАЛ, РАН, отсутствием эозинофилии в крови.

Результаты эксперимента конъюнктивальной пробы свидетельствуют о том, что через 15 минут после закапывания «Амлида» ни у одной из 12 морских свинок не наблюдается гиперемии, инфильтрации как слезного протока, так и слизистой конъюнктивы и склеры глаза. При осмотре контрольного глаза, в который закапывали 3 % крахмальную слизь, каких-либо изменений не отмечается. При осмотре, проведенном через 24 и 48 часов, также не обнаружено никаких изменений со стороны слизистой глаз. Таким образом, проведенная конъюнктивальная проба показывает, что препарат «Амлід» в исследуемых дозах не вызывает как аллергической реакции немедленного типа, так и развития гиперчувствительности замедленного типа.

Результаты проведенных исследований в целом позволяют сделать заключение, что ни длительная сенсibiliзация препаратом «Амлід», ни однократное закапывание его в глаз в испытанных дозах не вызывают у морских свинок алергических реакций различных типов.

Таблица 3

**ОЦЕНКА СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА «АМЛИД» У МОРСКИХ СВИНОК С ПОМОЩЬЮ ТЕСТА РСАЛ**

Группа животных	Число животных	Показатель агломерации лейкоцитов, %	P
Контроль	6	1,6±0,3	—
«Амлід», 4 мг/кг	6	1,7±0,3	>0,05
«Амлід», 40 мг/кг	6	1,8±0,4	>0,05

Таблица 4

**ОЦЕНКА СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА «АМЛИД» У МОРСКИХ СВИНОК С ПОМОЩЬЮ ТЕСТА РАН**

Группа животных	Число животных	Показатель поврежденных нейтрофилов	P
Контроль	6	0,03±0,01	—
«Амлід», 4 мг/кг	6	0,03±0,03	>0,05
«Амлід», 40 мг/кг	6	0,04±0,03	>0,05

Таблица 5

**ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «АМЛИД» НА СОДЕРЖАНИЕ ЭОЗИНОФИЛОВ У МОРСКИХ СВИНОК**

Группа животных	Число эозинофилов, ×10 <sup>9</sup> /л	Процент и характер сдвига по сравнению с контролем
Контроль	0,28±0,13	—
«Амлід», 4 мг/кг	0,10±0,02	— 64,3 %
«Амлід», 40 мг/кг	0,10±0,01	— 64,3 %

**ВЫВОДЫ**

1. Новый комбинированный препарат «Амлид» при комбинированной (пероральной и назальной) сенсibilизации, по данным внутрискожных проб, не обладает алергизирующим и местнораздражающим действием.
2. Диагностические тесты *in vitro*: реакция специфической агломерации лейкоцитов (РСАЛ), реакция альтерации нейтрофилов (РАН), а также абсолютное число эозинофилов в крови свидетельствуют об отсутствии сенсibilизирующего действия «Амлида».
3. Экспериментально установлено, что препарат «Амлид» не оказывает влияния на показатели специфической сенсibilизации по данным конъюнктивальной пробы.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ**

1. Березин А. Е. Стратегические подходы к профилактике и лечению артериальной гипертензии // Укр. мед. часопис. — 2007. — №4 (60). — С.18–24.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. С. Гланц. — М.: Практика, 1998. — 459 с.
3. Доклінічне вивчення сенсibilізуючої дії лікарських засобів: метод. рекомендації / [Г. М. Бутенко, О. П. Терешина, Ю. М. Максимов, В. Г. Аркадьєв та ін.]. — К., 2002. — 27 с.
4. Машковский М. Д. Лекарственные средства. — 15-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: ООО «Изд-во Новая Волна», 2005. — 1200 с.
5. Методические рекомендации по оценке алергенных свойств фармакологических средств. — М., 1988. — 19 с.
6. Подзолков В. И., Осадчий К. К. Новые горизонты комбинированной терапии артериальной гипертензии / В. И. Подзолков, К. К. Осадчий // Лечащий врач. — 2008. — №6. — С. 38–46.
7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ: метод. рекоменд. / Под ред. Р. У. Хабриева. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Медицина, 2005. — 832 с.
8. Сосонкин И. Е. Агломерация лейкоцитов при диагностике алергии, вызванной химическими и лекарственными соединениями / И. Е. Сосонкин // Лабор. дело. — 1968. — №12. — С. 707–709.
9. Chobanian A. V., Bakris G. L., Black H. Seventh report of the Joint National Committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure (complete version) / A. V. Chobanian, G. L. Bakris, H. Black // Hypertension. — 2003. — Vol. 25. — P. 1105–1187.
10. Mancia G., De Baker G. Guidelines for the management of arterial hypertension / G. Mancia, G. de Baker // Eur. Heart J. — 2007. — №28. — P. 1462–1536.



**УДК 615.218.3: 615.224**

О. П. Стрілець

**ВИВЧЕННЯ НЕШКІДЛИВОСТІ НОВОГО КОМБІНОВАНОГО ГІПОТЕНЗИВНОГО ПРЕПАРАТУ**

Досліджено місцевоподразнюючу та алергізуючу дію нового комбінованого антигіпертензивного препарату у вигляді таблеток. Як об'єкт дослідження використовували на-сипну масу для приготування таблеток під умовною назвою «Амлід», до складу якої входили амлодипін, лізиноприл, індапамід і допоміжні речовини. Місцевоподразнюючу дію вивчали на кроликах шляхом закапування суспензії препарату в кон'юнктивальний мішок ока. Дослідження з вивчення алергізуючої дії були поставлені на морських свинках світлої масті. Враховуючи пероральний шлях введення розробленої лікарської форми, тварин дослідних груп сенсibilізували внутрішньошлунково та проводили на-шкірну сенсibilізацію, діагностичні тести *in vitro*: реакцію специфічної агломерації лейкоцитів і реакцію альтерації нейтрофілів, визначали число еозинофілів у крові. Поставлена в окремій серії кон'юнктивальна проба на морських свинках показала, що досліджуваний препарат не викликає розвитку алергічних реакцій. Доведено, що новий комбінований антигіпертензивний препарат не виявляє місцевоподразнюючої і алергічної дії.

**Ключові слова:** гіпертензія; комбінований гіпотензивний препарат; місцевоподразнююча, алергізуюча дія

**UDC 615.218.3: 615.224**

G. P. Strilets

**STUDY HARMLESSNESS OF NEW COMBINED HYPOTENSIVE PREPARATION**

The paper suggests irritating and allergic effects of a new combination of antihypertensive drug in pill form. As the object of studies have used bulk density for the preparation of tablets, code-named «Amlid», which included amlodipine, lisinopril, indapamide and excipients. Local tolerance was studied in rabbits by instillation of the suspension of the drug in konyunktive bag eyes. The investigation on the possible allergic effects were performed on guinea pigs, bright color. Given the oral route of administration developed dosage form, experimental groups of animals were sensitized intragastrically, and conduct of skin sensitization. In addition, perform diagnostic tests *in vitro*: response of specific leukocyte agglomeration reaction and alteration of neutrophils, we determined the number of eosinophils in the blood. Placed in a separate series konyunktivn test on guinea pigs showed that the study medication did not cause development of allergic reactions. Thus, the new combination antihypertensive agent for these studies did not reveal irritating and allergic effects.

**Key words:** hypertension; combined antihypertensive drug; allergic effect

Адреса для листування:  
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.  
Національний фармацевтичний університет,  
кафедра біотехнології.  
Тел. 706-47-87

Надійшла до редакції:  
30.11.2009