

**О.О. Мойбенко¹, Р.Б. Струтинський¹,
Л.М. Ягупольський², М.А. Мохорт³, А.С. Шаламай⁴**

¹ Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ

² Інститут органічної хімії НАН України, Київ

³ ДУ Інститут фармакології і токсикології АМН України, Київ

⁴ ВЦ "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод", Київ

ОРГАНІЗАЦІЯ ПРОМИСЛОВОГО ВИГОТОВЛЕННЯ ПРЕПАРАТУ ФЛОКАЛІН – НОВОГО ВІТЧИЗНЯНОГО МІОТРОПНОГО СПАЗМОЛІТИКА І КАРДІОПРОТЕКТОРА



Розроблена технологічна високорентабельна схема синтезу нового вітчизняного кардіопротекторного препарату Флокалін, придатна для впровадження в промислове виробництво. Вироблена нова лікарська форма препарату – таблетка. Показано, що новий Флокалін має виражені кардіопротекторні властивості та зменшує розмір інфарту міокарда порівняно з контрольними даними на 34 %. Одним із механізмів кардіопротекції при експериментальній гострій ішемії/реперфузії може бути зростання пропорції активності cNOS/iNOS.

Ключові слова: флокалін, лікарська форма, ішемія/реперфузія, кардіопротекція, нешкідливість.

Одним з нових підходів до профілактики та лікування серцево-судинних захворювань, які є головною причиною все зростаючої смертності населення України, є створення нових лікарських засобів, в основі яких лежить активація АТФ-залежних калієвих каналів. Ці мембранні канали відіграють велику роль у регулюванні судинного тонуусу та приймають участь у ендогенній протекції при захворюваннях, що супроводжуються гіпоксією та ішемією тканин [1–3]. Доведено, що фармакологічна активація цих АТФ-залежних калієвих каналів може суттєво покращувати функції уражених ішемією тканин, зокрема міокарда [4]. В результаті попередніх досліджень було встановлено, що одним із найперспективніших фармакологічних акти-

ваторів цих каналів є синтезована співробітниками Інституту органічної хімії НАН України під керівництвом проф. Л.М. Ягупольського нова вітчизняна фторвмісна сполука – флокалін. У попередніх дослідженнях субстанції та лікарської форми, яка була виготовлена в лабораторних умовах, нами було показано, що флокалін відноситься до сполук III класу по класифікації речовин за токсичністю, що відповідає малотоксичним сполукам [5]. Досліджуючи специфічну активність флокаліну та інших вітчизняних та закордонних фармакологічних активаторів АТФ-залежних калієвих каналів (існує трохи більше двох десятків активаторів різнонаправленої дії) протягом останніх 12 років, ми виявили, що це – одна з найкращих кардіопротекторних та спазмолітичних сполук [5–10].

Метою даної роботи була організація виготовлення нового вітчизняного міотропного спаз-

© О.О. МОЙБЕНКО, Р.Б. СТРУТИНСЬКИЙ,
Л.М. ЯГУПОЛЬСЬКИЙ, М.А. МОХОРТ,
А.С. ШАЛАМАЙ, 2009

молітика і кардіопротектра Флокаліну у промислових умовах на ЗАТ НВЦ "Борщагівський хімікофармацевтичний завод" (м. Київ) та проведення комплексних досліджень його заводських зразків на специфічність дії та нешкідливість при багаторазовому введенні піддослідним тваринам.

Згідно з технічним завданням була розроблена оптимальна технологічна схема синтезу препарату Флокалін, придатна для виготовлення у заводських умовах, яку було опрацьовано на базі ЗАТ НТЦ "Борщагівський хімікофармацевтичний завод". Були вдосконалені всі етапи технологічної схеми синтезу Флокаліну із застосуванням дешевого промислового реагенту, виключенням з технологічної схеми раніше використовуваних токсичних (солей свинцю) і пожежонебезпечних речовин, зменшенням кількостей розчинників та поверненням їх у повторний технологічний цикл, що зробило метод придатним для промислового впровадження на ЗАТ НВЦ "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод" [11].

Доклінічне вивчення нешкідливості препарату Флокалін проводилося з метою встановлення ідентичності показників нешкідливості субстанції та лікарської форми (таблеток), що виготовлялися в лабораторних умовах, з показниками нової лікарської форми препарату Флокалін, виготовленого повністю в заводських умовах (серії 150405 і 251007 відповідно). Ідентичність зразків препарату оцінювалася за показниками гострої та хронічної токсичності, а також місцевої подразнюючої дії. Встановлено, що при одноразовому введенні в шлунок білим щурам різних статей та віку середньолетальні дози досліджуваних форм Флокаліну коливалися в межах 1 700–2 700 мг/кг і були цілком ідентичними. Флокалін не чинить негативної дії на функціонування життєво важливих органів та систем: виживання тварин відповідало такому для інтактних тварин; тварини нормально набирали масу та зберігали нормальну температуру тіла; морфологічний склад периферичної крові та реологічні властивості ос-

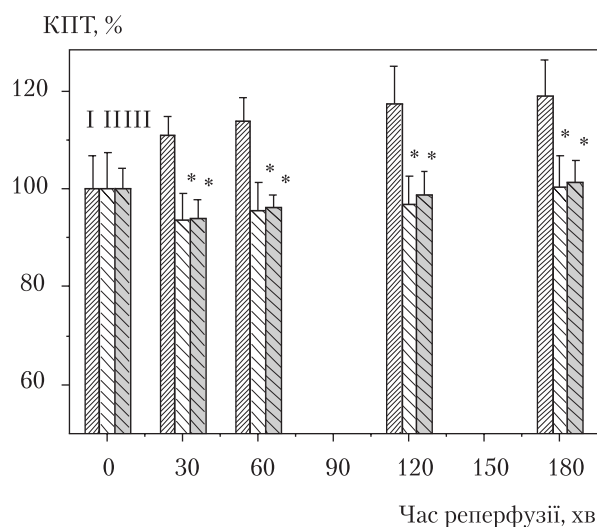


Рис. 1. Вплив лікарських форм Флокаліну (заводського та лабораторного виготовлення) на перфузійний тиск в коронарних судинах (КПТ) ішемізованого серця під час реперфузії міокарда при дослідях на собаках. По осі ординат — величина реакції (%) від вихідного рівня; за 100 % прийнято вихідний рівень: I — контроль (без застосування Флокаліну); II — заводська лікарська форма Флокаліну; III — лабораторна форма Флокаліну; * — $P < 0,05$ по відношенню до контрольних значень

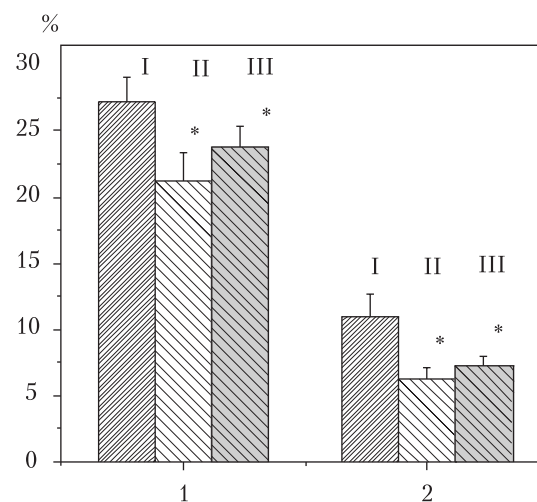


Рис. 2. Розміри зон уражень серця після ішемії/реперфузії міокарда собак *in vivo*: I — контроль (ішемія/реперфузія); II — після введення Флокаліну лабораторного виготовлення (Флокалін + ішемія/реперфузія); III — після введення Флокаліну заводського виготовлення (Флокалін + ішемія/реперфузія). 1 — зона некрозу/зона ризику (%); 2 — зона некрозу/площа лівого шлуночка (%); * — $P < 0,05$ по відношенню до контрольних значень

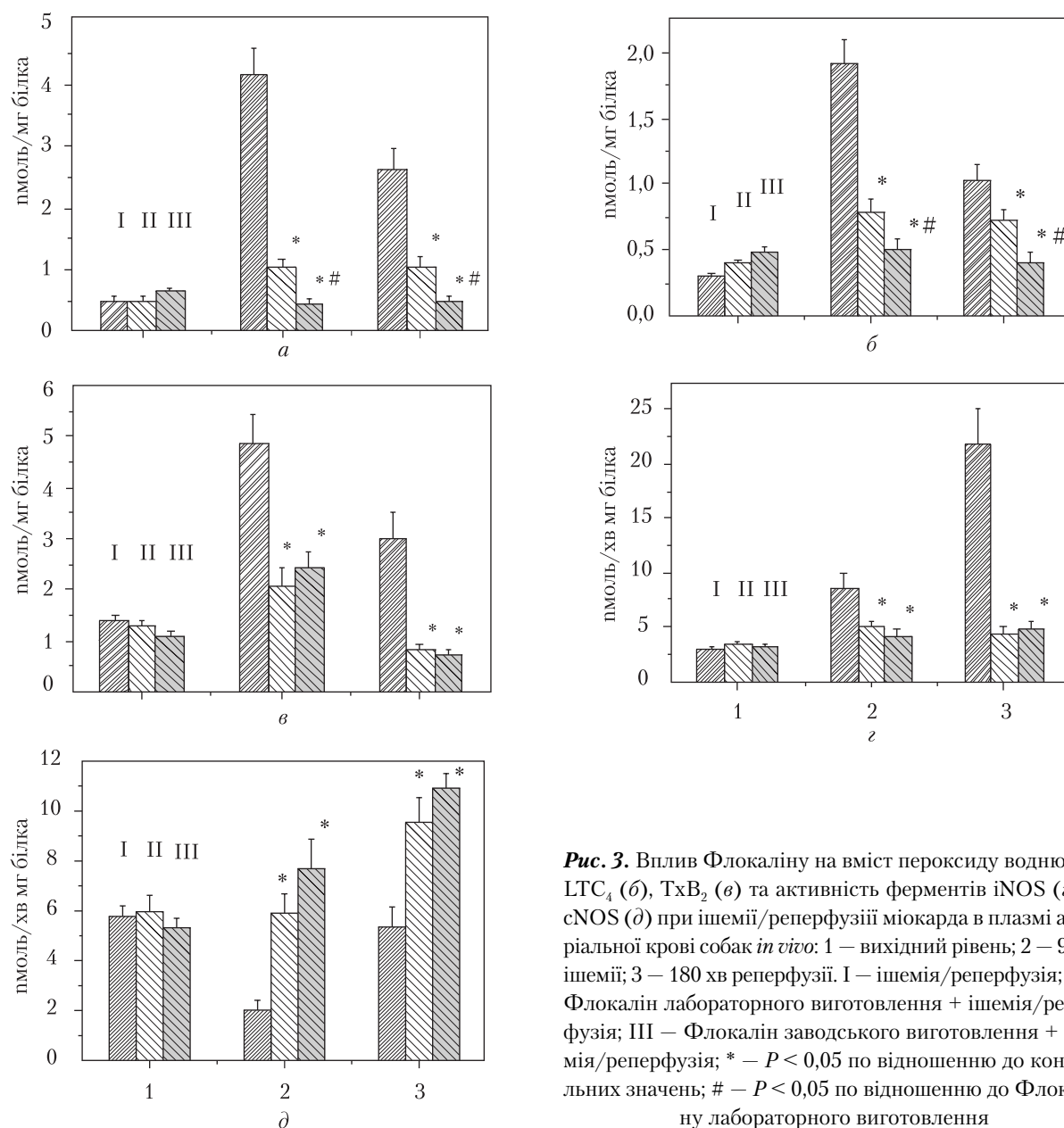


Рис. 3. Вплив Флокаліну на вміст перексиду водню (а), LTC₄ (б), ТxB₂ (в) та активність ферментів iNOS (г) та sNOS (д) при ішемії/реперфузії міокарда в плазмі артеріальної крові собак *in vivo*: 1 – вихідний рівень; 2 – 90 хв ішемії; 3 – 180 хв реперфузії. I – ішемія/реперфузія; II – Флокалін лабораторного виготовлення + ішемія/реперфузія; III – Флокалін заводського виготовлення + ішемія/реперфузія; * – $P < 0,05$ по відношенню до контрольних значень; # – $P < 0,05$ по відношенню до Флокаліну лабораторного виготовлення

танньої залишалися в межах фізіологічної норми; не змінювалися основні функції серцево-судинної та нервової систем; не порушувалися функції печінки та нирок. Отримані дані дозволяють характеризувати лабораторну та лікарську форми препарату Флокалін як малотоксичні. Препарат у вигляді таблеток не чинить місцевої подразнюючої дії на слизову

оболонку шлунку, про що свідчить відсутність суттєвих змін об'єму шлункового соку та його кислотності, а також відсутність органічних змін слизової шлунку. При тривалому (3 місяці) введенні щурам та собакам в дозах, які в 10 та 50 разів перевищують максимальні добові дози для людини, Флокалін не чинив суттєвої негативної дії на різні органи та системи тварин.

Порівнюючи отримані результати, можна прийти до висновку, що показники гострої токсичності для субстанції, таблеток лабораторного та промислового випусків, ступінь місцевої подразнюючої дії та вплив на функціонування органів і систем тварин в умовах тривалого введення практично ідентичні.

Дослідження специфічної дії нової лікарської форми (таблетки) Флокаліну, виробленої на базі ЗАТ НТЦ "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод" за новою технологічною схемою синтезу, показали, що нова лікарська форма за своєю специфічною активністю практично не відрізняється від попередньої лікарської форми, субстанція якої напрацьовувалася в лабораторних умовах. Експерименти проводилися на анестезованих собаках зі створенням гострої ішемії (90 хв) та реперфузії (180 хв). Флокалін вводився перорально за 60 хв до ішемії в дозі $2,2 \pm 0,2$ мг/кг. Вимірювалися показники гемодинаміки, розмір інфаркту міокарда та біохімічні показники крові в динаміці ішемії/реперфузії.

Аналізуючи отримані дані, слід підкреслити, що при попередньому введенні обох форм Флокаліну спостерігається значне покращення відновлення функції ішемізованого серця під час реперфузії. Флокалін запобігає значному падінню хвилинного об'єму крові та зростанню загальнопериферичного опору судин, децю кращими є показники скоротливості міокарда: швидкість скорочення та розслаблення лівого шлуночка. Особливу увагу привертає відсутність вазоконстрикції коронарних судин під час реперфузії ішемізованого серця, тоді як у контрольній групі коронарний перфузійний тиск під час реперфузії значно зростає (рис. 1), та значне зменшення розміру зони інфаркту міокарда порівняно з контрольною групою, а саме на 34 % (рис. 2). Аналіз змін біохімічних показників в плазмі крові дав можливість окреслити можливі біохімічні механізми кардіопротекторної дії Флокаліну. Основними з цих механізмів є інгібування окисного метаболізму за рахунок обмеження генерації вільних ра-

дикалів, зокрема пероксиду водню (рис. 3, а) та супероксиданіону, генерація якого разом з підвищеною продукцією оксиду азоту (активація індучибельної NOS) в кардіоміоцитах за ішемії/реперфузії може зумовлювати утворення токсичного пероксинітриду. Серед ефектів Флокаліну виявлено також зменшення (порівняно з контрольними даними — без Флокаліну) продуктів неферментативного (дієнові кон'югати, малоновий діальдегід) окиснення ліпідів; зменшення концентрації вільної арахідонової кислоти та її похідних LTC₄ і TxB₂, що свідчить про зменшення активності ліпоксигеназ та циклооксигеназ (рис. 3 б, в); збереження або підвищення активності eNOS та обмеження активації фермента iNOS, що запобігає надмірному утворенню оксиду азоту саме індучибельною NOS (рис. 3 г, д).

Отже, в результаті виконання даної науково-дослідної роботи було розроблено технологічну схему синтезу нового вітчизняного кардіопротекторного препарату Флокалін, придатну для впровадження в промислове виробництво. В заводських умовах була вироблена нова лікарська форма Флокаліну — таблетка. Порівняльне дослідження нешкідливості та специфічної активності лікарської лабораторної форми та форми заводського виготовлення показало, що вони практично не відрізняються між собою.

ЛІТЕРАТУРА

1. Nichols C.G., Lederer W.J. Adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in the cardiovascular system // *Am J Physiol.* — 1991. — Vol.261, №6. — P. H1675—H1686.
2. Yao Z., Cavero I., Gross G.J. Activation of cardiac KATP channels: an endogenous protective mechanism during repetitive ischemia // *Am J Physiol.* — Vol. 264. — (*Heart Circ Physiol* 33). — 1993, № 2. — P. H495—H504.
3. Cavero I., Djellas Y., Guillon J.-M. Ischemic myocardial cell protection conferred by the opening of ATP-sensitive potassium channels // *Cardiovasc Drugs Ther.* — 1995. — Vol. 9, № 2. — P. 245—255.
4. Sanada S., Kitakaze M., Asanuma H. et al. Role of mitochondrial and sarcolemmal KATP channels in ischemic

- preconditioning of the canine heart // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* — 2001. — Vol. 280. — P. 256–263.
5. *Мойбенко О.О., Струтинський Р.Б., Ягупольський Л.М., Мохорт М.А.* Розробка та підготовка до впровадження нового вітчизняного кардіопротекторного препарату — фторвмісного активатора АТФ-залежних калієвих каналів Флокалін // *Наука та інновації.* — 2006. — Т. 2, № 4. — С. 114–119.
 6. *Струтинський Р.Б.* Дослідження впливу нових активаторів АТФ-залежних калієвих каналів на функції серця та вазомоторні реакції в нормальних та патологічних умовах // Автореферат дисертації на пошук ученого ступеня кандидата біологічних наук: 14.03.04 — Київ. — 2002. — 20 с.
 7. *Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О.* Моделювання активності АТФ-залежних калієвих каналів у аорті нормотензивних та гіпертензивних тварин // *Фізіол. журн.* — 2000. — Т. 46, № 6. — С. 54–60.
 8. *Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Пивовар С.М. та ін.* АТФ-чутливі калієві канали та зміни їх функціональної активності при стрептозотозин-викликаному цукровому діабеті // *Фізіол. журн.* — 2003. — Т. 49, № 6, С. 22–31.
 9. *Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Ягупольський Л.М.* Дослідження вазомоторних ефектів нових фторвмісних синтетичних активаторів АТФ-залежних калієвих каналів // *Фізіол. журн.* — 2000. — Т. 46, № 4. — С. 17–23.
 10. *Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Ягупольський Л.М. та ін.* Дослідження кардіопротекторних ефектів нового фторвмісного активатора АТФ-залежних калієвих каналів // *Фізіол. журн.* — 2001. — Т. 47, № 2. — С. 16–23.
 11. *Ягупольський Л.М., Петко К.І., Фіалков Ю.А. та ін.* Заявка на патент України № а2008 01036 від 29 січня 2008 року. N-(4-Дифторометоксифеніл)-N'-1,2,2-триметилпропіл-N''-ціаногuanідин (Флокалін), що проявляє міотропноспазмолітичну і кардіопротекторну дію, та спосіб його одержання.

А.А. Мойбенко, Р.Б. Струтинський, Л.М. Ягупольський, Н.А. Мохорт, А.С. Шаламай

ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОМЫШЛЕННОГО
ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПРЕПАРАТА ФЛОКАЛИН —
НОВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО МИОТРОПНОГО
СПАЗМОЛИТИКА И КАРДИОПРОТЕКТОРА

Разработана технологическая высокорентабельная схема синтеза нового отечественного кардиопротекторного препарата Флокалин. Изготовлена лекарственная форма препарата — таблетка. Показано, что новый Флокалин имеет выраженные кардиопротективные свойства и уменьшает размер инфаркта миокарда сравнительно с контрольными данными на 34 %. Одним из механизмов кардиопротекции при экспериментальной острой ишемии/реперфузии может быть увеличение пропорции активности cNOS/iNOS.

Ключевые слова: флокалин, лекарственная форма, ишемия/реперфузия, кардиопротекция, безвредность.

О.О. Мойбенко, Р.Б. Струтинський, Л.М. Ягупольський, М.А. Мохорт, А.С. Шаламай

ORGANIZATION OF INDUSTRIAL PRODUCTION
OF FLOKALIN — NEW MYOTROPIC SPASMOLYTIC
AND CARDIOPROTECTOR

Technological scheme of synthesis of a new domestic cardioprotective drug — Flokalin have elaborated. Tablet — drug form of Flokalin was manufactured. It was shown that new Flokalin has expressed cardioprotective properties and limits heart infarct size by 34 % as compared to the control group. It was shown that one of the Flokalin cardioprotection mechanism at experimental acute ischemia-reperfusion can be increase of iNOS/cNOS proportion activity.

Key words: flokalin, drug form, ischemia/reperfusion, cardioprotection, safety.

Надійшла до редакції 17.04.08.