

Фармакологічне обґрунтування клінічної ефективності S(-)-амлодипіну

Амлодипін – антагоніст повільних кальцієвих каналів дигідропіридинового ряду, що проявляє різноманітні фармакологічні ефекти: здійснює гіпотензивний, органопротекторний (кардіо- та ангіопротекторний) вплив, знижує гіпертрофію лівого шлуночка, запобігає прогресуванню атеросклерозу, не має негативного впливу на рівень електролітів, вуглеводний, ліпідний і пуриновий види обміну, знижує гіперреактивність бронхів.

Амлодипін показаний до застосування в разі артеріальної гіпертензії у хворих похилого віку, пацієнтів з ішемічною хворобою серця, гіпертрофією лівого шлуночка, атеросклерозом сонних і коронарних артерій, під час вагітності. Амлодипін також застосовується за наявності протипоказань до прийому бета-адреноблокаторів. Відомо, що саме лівообертаючий S(-)-енантіомер амлодипіну має судинорозширювальну дію. В Україні цей лікарський засіб випускається під назвою Азомекс (Actavis) у дозі 2,5 та 5 мг. S(-)-амлодипін має ряд важливих переваг порівняно з рацематом: доза S(-)-амлодипіну може бути знижена до 2,5 мг порівняно з 5 мг рацемічного препарату; S(-)-амлодипін має більшу тривалість періоду напіввиведення (49,6 год порівняно з 34,9 год для R-амлодипіну), а його кліренс має менші індивідуальні коливання, ніж кліренс R-ізомеру; S-амлодипін має значно меншу частоту розвитку побічних ефектів (1,61%), зокрема набряків нижніх кінцівок. Встановлено, що R-амлодипін спричинює надмірне утворення оксиду азоту, наслідком чого є дилатація прекапілярно-артеріолярної ланки судин нижніх кінцівок, через яку змінюється прекапілярний постуральний вазоконстрикторний рефлекс. Цей важливий механізм запобігає розвитку набряків нижніх кінцівок при вертикальному положенні тіла. Зважаючи на вказані переваги енантіочистого S(-)-амлодипіну, препарат Азомекс все частіше призначається в клініці серцево-судинних захворювань.

Метою даної роботи було дати фармакологічне обґрунтування високої ефективності S(-)-амлодипіну (Азомекс, Actavis) порівняно з рацемічними препаратами за допомогою квантово-фармакологічних і міографічних методів.

Матеріали та методи

Квантово-фармакологічні дослідження. Оптимізація геометрії (пошук найбільш стабільної конформації) молекул R- та S-амлодипіну проведена за методом функціонала густини (DFT) з використанням градієнтного гібридного функціонала B3LYP (трьохкомпонентний функціонал Бекке і Лі-Янг-Парра). Розрахунки зарядів на атомах і значень електростатичного потенціалу досліджуваних молекул проводили з використанням комп'ютерних програм. Для візуалізації молекул також застосовували комп'ютерну програму.

Міографічні дослідження проводили на препаратах ізольованої аорти шурів-самців лінії Wistar (вагою 200-250 г). Аорту ізолювали та вміщували в аерований фізіологічний розчин наступного складу (мМ): NaCl 119; NaHCO₃ 25; KCl 4,7; KH₂PO₄ 1,18; MgSO₄ 1,17; CaCl₂ 1,5; глюкоза 11. Вирізали кільця шириною 2 мм та закріплювали на двох гачках (один нерухомий, інший – приєднаний до датчика скорочень) у ванночці для міографічних досліджень об'ємом 1 мл. Кільця аорти витримували в проточному фізіологічному розчині 45 хв за температури 37 °С перед початком експерименту. Скорочення викликали гіперкалієвим розчином, у якому NaCl був частково замінений на KCl, концентрація KCl становила 80 мМ. Усі розчини подавалися за допомогою перистальтичного насоса зі швидкістю 2,5 мл/хв. Період експозиції становив 2,5 хв, період відмивання – 10 хв. Після досягнення повторюваності амплітуди скорочень препарати аорти протягом 20 хв промивали фізіологічним розчином із рацемічним амлодипіном (концентрація 5×10⁻⁷ М) або S(-)-амлодипіном виробництва Actavis (концентрація 2,5×10⁻⁷ М). Після цього реєстрували повторні скорочення, спричинені гіперкалієвим розчином. Силу скорочень оцінювали за площею під кривою скорочення, порівнювали відносно середнього максимального значення, прийнятого за 100%. Кожний дослід повторювали 8 раз, статистичну достовірність оцінювали за критерієм Фішера.

Результати та обговорення

За хімічною природою амлодипін – 3-етилловий-5-метилловий ефір 2-[(аміноетокси)-метил]-4-(орто-хлорфеніл)-1,4-дигідро-6-метил-3,5-піридиндикарбонової кислоти. Молекула амлодипіну є хіральною, тобто має властивість утворювати дві форми (енантіомери), які співвідносяться як дзеркальні відображення одне одного. Обидва енантіомери мають однаковий хімічний склад і можуть бути однаково зображені в двовимірному просторі, однак у хіральному оточенні, як, наприклад, рецептори й ферменти в організмі людини, вони можуть проявляти різні фармакологічні властивості.

Рацемат (або рацемічна суміш) – це суміш рівних кількостей двох енантіомерів однієї речовини. Хіральність у лікарських засобах найчастіше є результатом зв'язування вуглецевого атома з чотирма різними замісниками. Цей атом називають асиметричним центром молекули. Асиметричним центром у молекулі амлодипіну є атом вуглецю C(17), позначений зірочкою на рисунку 1.

Для з'ясування залежності фармакологічної активності сполуки від структури її молекули використовують поняття «фармакофор». Фармакофор – це необхідне просторове розташування молекулярних фрагментів, що забезпечує структуру, фізико-хімічні та квантово-хімічні властивості, які, у свою чергу, визначають фармакологічну активність речовини. Фармакофорним називають такий структурний елемент або фрагмент молекули, що забезпечує її фармакологічну активність. У попередніх дослідженнях препаратів 1,4-дигідропіридинового ряду показано, що для блокування кальцієвих каналів важливими фармакофорними фрагментами молекули виступають три гідрофобні ділянки, два акцептори водневого зв'язку та один фрагмент, здатний до поляризації з утворенням позитивно-зарядженої групи. Отже, саме ці структурні фрагменти в молекулі S(-)-амлодипіну мають специфічне просторове розташування, відмінне від правообертального ізомеру. Завданням даної роботи було встановити фармакофорні ділянки в молекулі S(-)-амлодипіну. Сучасні програмні засоби з комп'ютерного моделювання, які застосовуються у квантовій фармакології, дають можливість розрахувати понад 1000 видів молекулярних дескрипторів, правильний вибір яких дозволяє отримати ефективну фармакофорну модель для дослідження механізмів дії лікарських засобів. Однак найінформативнішими молекулярними електронними дескрипторами є заряди на атомах та розподіл електростатичного потенціалу.

Ефективний заряд атому приписують для врахування зміни його електронної щільності. При цьому вважається, що на атомі локалізований лише заряд ядра, а електронні заряди, які виражають асиметрію електронної хмари, умовні, оскільки електронна хмара делокалізована та її не можна «розділити» між ядрами окремих атомів. Зазвичай під час обчислення заряду на атомі у квантовій хімії використовують аналіз електронних заселень, запропонований Маллікеном та Левдином.

Енергію міжмолекулярної взаємодії під час зближення реагентів можна умовно підрозділити на електростатичний, орбітальний та стеричний внески. Енергія електростатичної взаємодії залежить від розподілу електронної густини або від зарядів на атомах реагентів. Тому заряди на атомах використовують для опису фізико-хімічних властивостей речовин та хімічних реакцій із зарядовим контролем (коли переважає електростатичний внесок в енергію міжмолекулярної взаємодії передреакційного комплексу). Нуклеофільні реагенти (атакуючий центр із негативним зарядом) приєднуються переважно до атомів із великими позитивними зарядами,

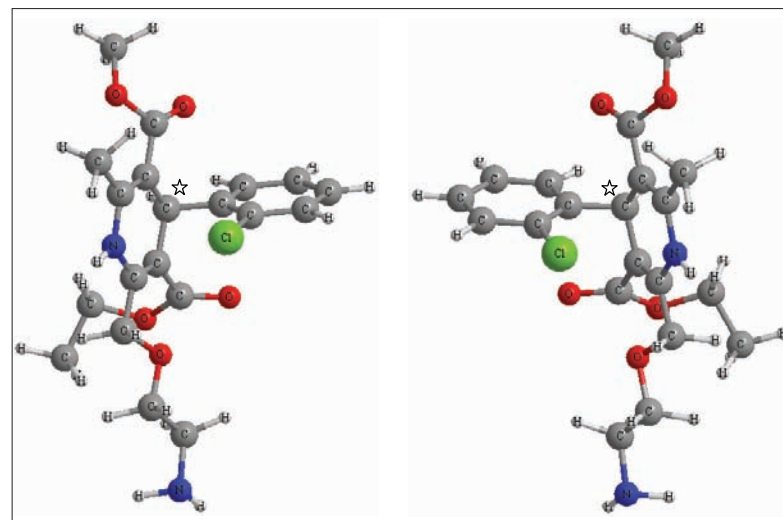


Рис. 1. Енантіомери амлодипіну: R- (ліворуч) та S- (праворуч) ☆ – асиметричний атом вуглецю

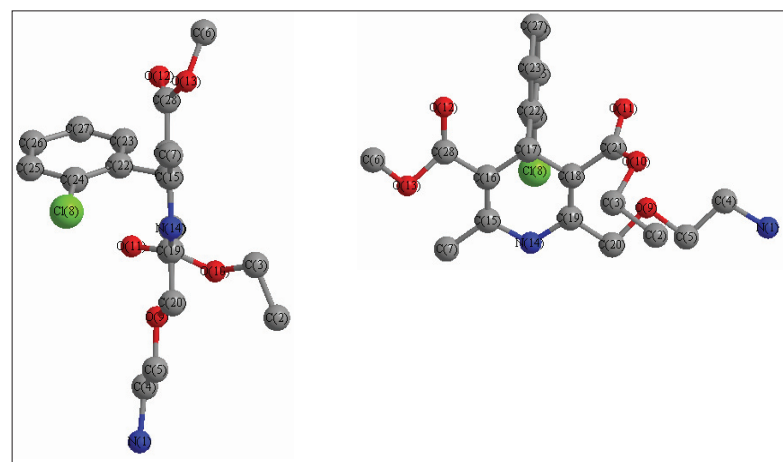


Рис. 2. Молекула S(-)-амлодипіну в двох проекціях та нумерація важких атомів

а електрофільні (атакуючий центр із позитивним зарядом), навпаки, – до атомів із великими негативними зарядами. Тому в деяких дослідженнях якості дескрипторів фармакологічної активності враховують такі показники, як найбільші негативні або позитивні заряди на атомах у молекулі. Заряди на атомах є статичними індексами реакційної активності сполук. Їх використання має певні обмеження, пов'язані з тим, що не враховується внесок обмінної взаємодії в так званий реакційний потенціал. Незважаючи на це, їх розрахунок є швидкою та зручною процедурою і дає певне уявлення про розподіл електронної густини в молекулі. Саме тому заряди є одними з найбільш часто використовуваних молекулярних дескрипторів.

На рисунку 2 представлена молекула S(-)-амлодипіну у двох проекціях, а також нумерація важких атомів у молекулі (важкими називаються всі атоми, крім водневих), прийнята під час квантово-хімічних розрахунків.

У таблиці представлені заряди на важких атомах у молекулі амлодипіну. Використання розрахованих зарядів дає можливість встановити фрагмент, здатний до поляризації з утворенням позитивно-зарядженої групи. Це атом азоту N(1), який має найбільший

Таблиця. Заряди на важких атомах у молекулі амлодипіну

Атом	Заряд на атомі (за Левдином)	Заряд на атомі (за Маллікеном)
N(1)	-0,34	-0,56
C(2)	-0,31	-0,29
C(3)	-0,08	0,03
C(4)	-0,15	-0,13
C(5)	-0,09	0,09
C(6)	-0,16	-0,07
C(7)	-0,28	-0,28
Cl(8)	0,11	-0,04
O(9)	-0,11	-0,45
O(10)	-0,09	-0,42
O(11)	-0,24	-0,51
O(12)	-0,29	-0,56
O(13)	-0,10	-0,46
N(14)	-0,02	-0,53
C(15)	0,03	0,25
C(16)	-0,13	0,04
C(17)	-0,07	-0,14
C(18)	-0,08	-0,07
C(19)	-0,05	0,25
C(20)	-0,08	0,006
C(21)	0,12	0,63
C(22)	0,01	0,19
C(23)	-0,07	0,09
C(24)	-0,14	-0,11
C(25)	-0,11	-0,06
C(26)	-0,10	-0,03
C(27)	-0,10	-0,09
C(28)	0,12	0,49

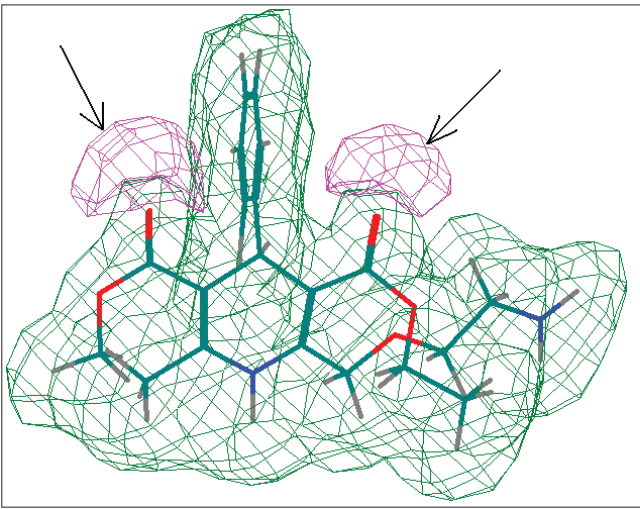


Рис. 3. Розподіл електростатичного потенціалу в молекулі S(-)-амлодипіну (фіолковим кольором та стрілками позначено атоми кисню, здатні до протонування)

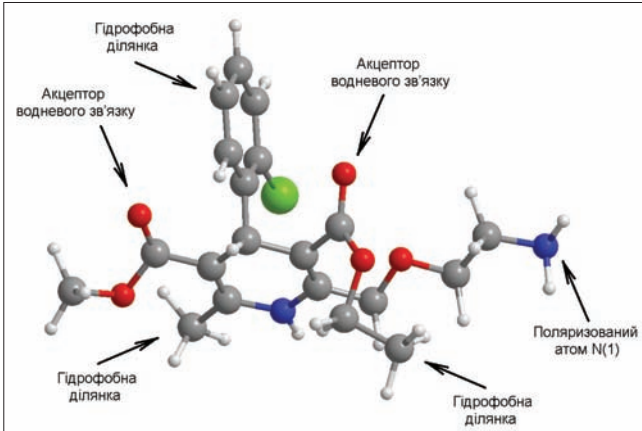


Рис. 4. Фармакофорні ділянки в молекулі S(-)-амлодипіну

негативний заряд (-0,34 ат. од. за Левдином або -0,56 ат. од. за Маллікеном) у молекулі амлодипіну. За хімічною природою амлодипін є органічною основою, до складу препаратів входять солі амлодипіну, такі як безилат, мезилат або малеат. Можна припустити, що утворення солі відбувається за участю атома азоту N(1), який після приєднання водню набуває позитивного заряду, — одного з фармакофорних елементів блокаторів кальцієвих каналів дигідропіридинового типу.

Молекулярний електростатичний потенціал, як і заряди на атомах, використовують для вивчення взаємодій електростатичної природи. Будь-яку молекулу можна представити як систему ядер із відповідним електронним розподілом в обмеженій ділянці навколо ядер. Такій системі позитивних і негативних часток у навколишньому до молекули просторі буде відповідати електростатичне поле з певним потенціалом у кожній точці. Виходячи із цього, молекулярний електростатичний потенціал визначається як енергія електростатичної взаємодії ядер і електронного розподілу молекули з позитивним точковим одиничним «пробним» зарядом, поміщеним у заданій точці навколишнього до молекули простору. Величина молекулярного електростатичного потенціалу є інтегральною характеристикою молекули, тому її не можна пов'язати з певним атомом або функціональною групою. Однак, маючи на увазі локалізацію мінімумів навколо певного атома, установлюють його електростатичний потенціал.

На рисунку 3 представлено розподіл електростатичного потенціалу в молекулі S(-)-амлодипіну та позначено атоми кисню O(11) та O(12), що можуть бути протоновані. Заряди вказаних атомів кисню становлять -0,24 (-0,51) та -0,29 (-0,56) ат. од. відповідно. Атоми кисню O(11) та O(12) виступають акцепторами водневого зв'язку в молекулі амлодипіну.

На рисунку 4 представлені фармакофорні ділянки в молекулі амлодипіну, установлені в результаті квантово-хімічних розрахунків: два акцептори водневого зв'язку — атоми кисню O(11) та O(12); фрагмент, здатний до поляризації з утворенням позитивно зарядженої групи, — атом азоту N(1); три гідрофобні ділянки молекули.

Під час будь-якого обертання в просторі молекули R-амлодипіну неможливо досягти такого розташування фармакофорних фрагментів, яке представлено на рисунку 4, що зумовлює відсутність фармакологічної активності даного енантіомеру.

У результаті досліджень на препаратах ізольованої аорти щурів встановлено, що рацемічний препарат амлодипіну в концентрації 5×10^{-7} М спричинює зменшення сили скорочень до $25,26 \pm 4,14\%$, а S(-)-амлодипін (Азомекс, Actavis) у концентрації $2,5 \times 10^{-7}$ М зменшує силу скорочень до $28,27 \pm 4,28\%$ від вихідного рівня (рис. 5).

Ефекти рацемічного препарату амлодипіну в концентрації 5×10^{-7} М та S(-)-амлодипіну (Азомекс, Actavis) в концентрації $2,5 \times 10^{-7}$ М вірогідно не відрізняються.

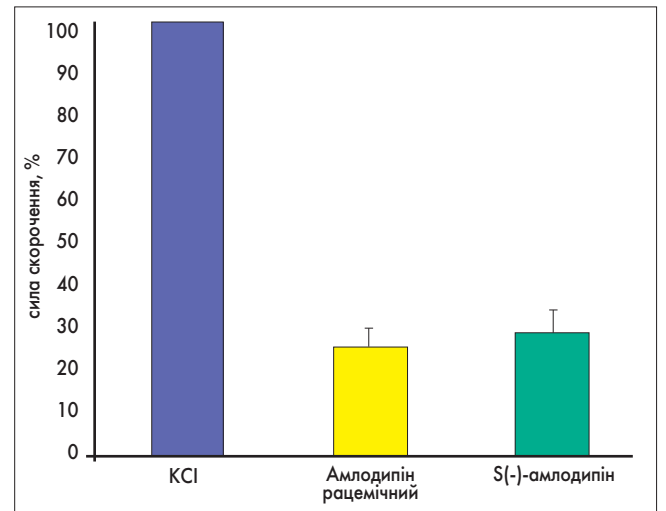


Рис. 5. Зменшення сили скорочень ізольованої аорти у щурів під дією S(-)-амлодипіну (Азомекс, Actavis) і рацемічного амлодипіну

Таким чином, результати міографічних експериментів обґрунтовують дані клінічних досліджень, згідно з якими доза S(-)-амлодипіну (Азомекс, Actavis) може бути зменшена до 2,5 мг порівняно з 5 мг рацемічного препарату.

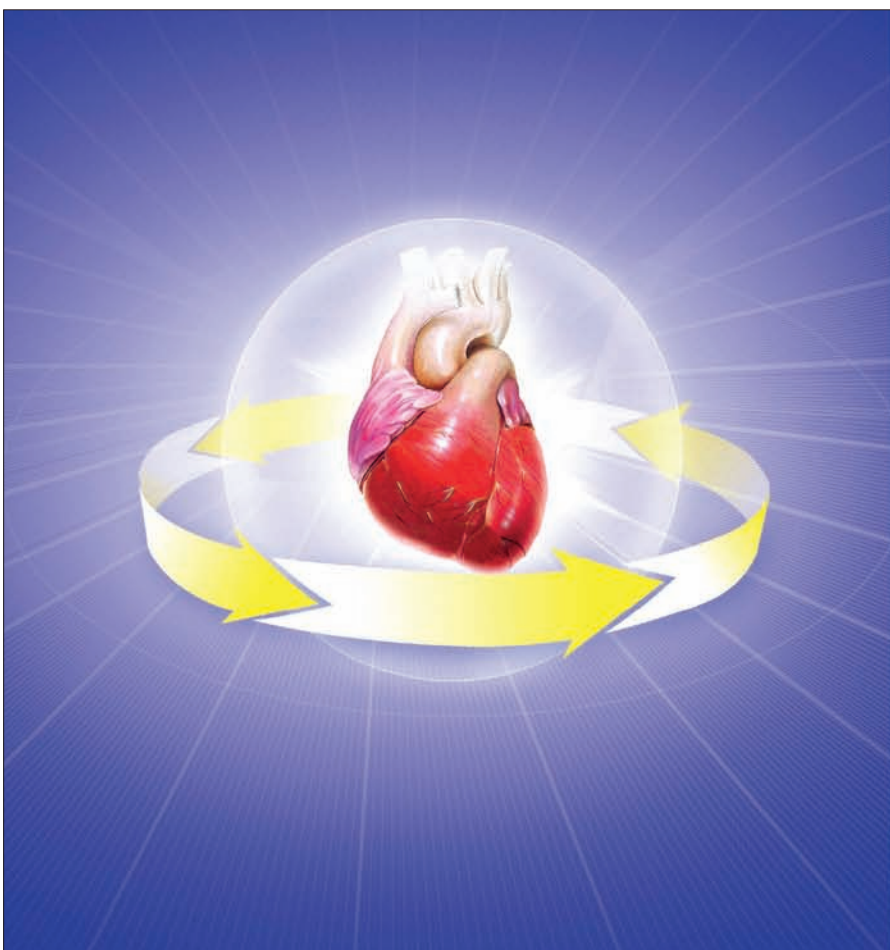
Висновки

- Відмінності в просторовому розташуванні функціональних груп зумовлюють наявність фармакологічної ефективності S-амлодипіну (Азомекс, Actavis) та її відсутність у R-амлодипіну.

- Рацемічний препарат амлодипіну в концентрації 5×10^{-7} М зумовлює зменшення сили скорочень до $25,26 \pm 4,14\%$, а S(-)-амлодипін (Азомекс, Actavis) в концентрації $2,5 \times 10^{-7}$ М зменшує силу скорочень до $28,27 \pm 4,28\%$ від початкового рівня, ефекти досліджених препаратів амлодипіну в зазначених концентраціях не відрізняються.

- Результати проведених квантово-фармакологічних і міографічних досліджень дають обґрунтування на молекулярному рівні високої ефективності S(-)-амлодипіну (Азомекс, Actavis) порівняно з рацемічними препаратами амлодипіну.

Список літератури знаходиться в редакції.



ЛЕВОВРАЩАЮЩИЙ ПЕРЕВОРОТ В КАРДИОЛОГИИ

Азомекс

S-амлодипин 2,5/5 мг

Азомекс Н

S-амлодипин/гидрохлортиазид 2,5/12,5
S-амлодипин/гидрохлортиазид 5/12,5

Ло-Азомекс

S-амлодипин/лозартан 2,5/50
S-амлодипин/лозартан 5/50

Бета-Азомекс

S-амлодипин/S-атенолол 2,5/25
S-амлодипин/S-атенолол 5/50

Рами-Азомекс

S-амлодипин/рамиприл 2,5/2,5
S-амлодипин/рамиприл 5/10

- Обладают более высоким сродством и прочностью связывания с рецепторами.
- Эффективная дозировка в 2 раза ниже, чем у рацемата.
- Обеспечивают вдвое меньшую метаболическую нагрузку на печень.
- Не вызывают неблагоприятных эффектов, связанных с R-изомером.

P.C. № UA/3768/01/01, UA/3768/01/02 or 09.11.2005, UA/2675/01/02 or 15.02.2008, UA/6888/01/02 or 17.08.2007, № UA/9171/01/01, UA/9172/01/01 or 27.11.2008, UA/9475/01/02, UA/9475/01/01 or 24.03.2009, № UA/9895/01/01, UA/9895/01/02 or 28.07.2009

actavis
creating value in pharmaceuticals