



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **98143** (13) **C2**

(51) МПК

A61K 38/20 (2006.01)

A61P 25/22 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2009 12499**

(22) Дата подання заявки: **03.12.2009**

(24) Дата, з якої є чинними
права на винахід: **25.04.2012**

(41) Публікація відомостей
про заявку: **10.06.2011, Бюл.№ 11**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.04.2012, Бюл.№ 8**

(72) Винахідник(и):

**Щокіна Катерина Геннадіївна (UA),
Штриголь Сергій Юрійович (UA),
Іщенко Александр Мітрофановіч (RU)**

(73) Власник(и):

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ,**

вул.Пушкінська, 53, м.Харків, 61002, Україна
(UA)

(56) Перелік документів, взятих до уваги
експертизою:

Maier SF, Watkins LR Intracerebroventricular
interleukin-1 receptor antagonist blocks the
enhancement of fear conditioning and
interference with escape produced by
inescapable shock //Brain Res. 1995 Oct
16;695(2):279-82

Koo JW, Duman RS IL-1beta is an essential
mediator of the antineurogenic and anhedonic
effects of stress // Proc Natl Acad Sci U S A.
2008 Jan 15;105(2):751-6. Epub 2008 Jan 4
Arakawa H, Blandino P Jr, Deak T Central
infusion of interleukin-1 receptor antagonist
blocks the reduction in social behavior
produced by prior stressor exposure // Physiol
Behav. 2009 Aug 4;98(1-2):139-46. Epub 2009
May 3

Oprica M, Zhu S, Gojny M, Pham TM,
Mohammed AH, Winblad B, Bartfai T,
Schultzberg M. Transgenic overexpression of
interleukin-1 receptor antagonist in the CNS
influences behaviour, serum corticosterone
and brain monoamines // Brain Behav Immun.
2005 May;19(3):223-34

**(54) ЗАСТОСУВАННЯ АНТАГОНІСТА РЕЦЕПТОРІВ ІНТЕРЛЕЙКІНУ-1 (АРІЛ-1) ЯК ЗАСОБУ
АНКСІОЛІТИЧНОЇ ДІЇ**

(57) Реферат:

Винахід належить до галузей фармації і медицини, а саме до застосування антагоніста
рецепторів інтерлейкіну-1 як анксіолітичного засобу.

UA 98143 C2

Винахід належить до фармації і медицини, а саме до засобів з антиамнестичною, протисудомною та анкіолітичною дією, зокрема антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1, який може бути використаний при створенні лікарських засобів для лікування порушень пам'яті, епілепсії та судомних нападів різного походження, а також неврозів та інших наслідків стресу.

Характерними складовими існування людства в третьому тисячолітті є складні соціально-економічні умови, прискорення темпу життя, величезні об'єми інформації, постійна психоемоційна напруга, невпевненість у майбутньому [1, 2]. На тлі хронічних психоемоційних стресів розвиваються неврози та неврозоподібні стани, які часто супроводжуються загальними погіршеннями функції ЦНС, зокрема пам'яті, що вимагає комплексного підходу до лікування [3].

На цей час у медичній практиці для корекції та лікування таких станів широко використовується ноотропний засіб пірацетам покращує пластичний та енергетичний обмін, оптимізує гемодинаміку в головному мозку [4]. Але вживання пірацетаму може призвести до збудження центральної нервової системи, підвищеної дратівливості, порушень сну, диспепсичних явищ, порушень функцій печінки, алергічних реакцій; він здатний також загострювати перебіг коронарної недостатності та збільшувати масу тіла. Він протипоказаний до застосування у хворих на гостру ниркову недостатність, у дітей до 1 року [5].

Відомий препарат бензодіазепінового ряду діазепам має виражену анкіолітичну та протисудомну дію, є еталонним препаратом групи для лікування неврозів та нейрогенних захворювань, ефективно зменшує напругу, страх, тривожність, неспокій, безсоння; поряд з цим широко застосовується при епілепсії, а також у разі судомних нападів різного походження, є універсальним протисудомним засобом для використання в педіатричній практиці, оскільки не пригнічує дихання [6].

Але вживання діазепаму може призвести до пригнічення центральної нервової системи, в'ялості, сонливості, загальмованості, м'язової слабкості, порушенню координації рухів, зниження психічних та фізичних реакцій, погіршенню пам'яті, зниженню потенції, і, що найважливіше, до розвитку лікарської залежності та наркоманії [7].

Задачею винаходу є розширення арсеналу антиамнестичних, протисудомних та анкіолітичних засобів для покращення якості лікування порушень пам'яті, епілепсії, судомних нападів та неврозів.

Поставлена задача вирішується шляхом застосування антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (АРІЛ-1) як засобу антиамнестичної, протисудомної та анкіолітичної дії.

Антиамнестична, протисудомна та анкіолітична дія АРІЛ-1 не відома з джерел інформації. Авторами вперше було виявлено цей новий вид фармакологічної активності АРІЛ-1 експериментальним шляхом.

Винахід ілюструється наступними прикладами.

Приклад 1.

Як об'єкт дослідження використано антагоніст рецепторів (АРІЛ-1), отриманий у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП.

Вивчення антиамнестичної дії АРІЛ-1 проводили у порівнянні з прототипом пірацетам за загальноновживаним тестом «Умовний рефлекс пасивного уникнення» (УРПУ) на білих мишах-самцях масою 15-20 г на моделі порушення пам'яті, що викликана внутрішньоочеревинним введенням скополаміну в дозі 1,5 мг/кг протягом 3 діб [8]. Контрольні миші отримували відповідну кількість води для ін'єкцій.

Лабораторних тварин розподілили на 6 груп відповідно до препарату, що вони одержували, та його дози:

1. Інтактний контроль, n=24.

2. Контрольна патологія (модель амнезії). - скополамін, 1,5 мг/кг внутрішньоочеревинно, n=16.

3. Пірацетам (200 мг/кг внутрішньом'язово) + скополамін, n=6.

4. АРІЛ-1, 5 мг/кг + скополамін, n=10.

5. АРІЛ-1, 15 мг/кг + скополамін, n=9.

Мишей групи інтактного контролю навчали УРПУ без амнезуючого впливу скополаміну. Порушення пам'яті моделювали за допомогою скополаміну через 30 хвилин після останнього введення АРІЛ-1 у різних дозах або пірацетаму. Далі тварин розміщували на освітленій платформі приладу для вивчення УРПУ та реєстрували латентний період безумовного рефлексу входу до темної камери, де у мишей вироблювали УРПУ шляхом впливу електричного струму 0,5-0,6 мА через електродну підлогу. Через 24 години повторно визначали латентний період входу тварин до небезпечної темної камери. Мишей, які не відвідували її протягом 3 хвилин, вважали такими, що досягли критерію навченості, приймаючи латентний період за 180 секунд.

Як показники антиамнестичної дії вибрано збільшення латентного періоду входу до темної камери та кількість мишей, що досягли критерію навченості через 24 години після амнезуючого впливу скополаміну. Результати дослідження наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

Вплив АРІЛ-1 та пірацетаму на пам'ять за тестом УРПУ

| № п/п | Група, кількість тварин | Латентний період входу до темної камери, с | | Кількість мишей, що досягли критерію навченості | Антиамнестична активність, % |
|-------|---|--|-----------------|---|------------------------------|
| | | вихідний | через 24 години | | |
| 1 | Інтактний контроль, n=24 | 13,8±1,4 | 157,1±5,8 | 19** | - |
| 2 | Скополамін, 1,5 мг/кг (контрольна патологія), n=1.6 | 9,8±2,0 | 48,1±12,7* | 1* | - |
| 3 | Пірацетам, 200 мг/кг + скополамін, n=6 | 15,8±5,5 | 89,0±30,0* | 1* | 58,2 |
| 4 | АРІЛ-1, 15 мг/кг + скополамін, n=10 | 5,1±1,4* | 125,6±17,0** | 6**/• | 71,1 |
| 5 | АРІЛ-1, 5 мг/кг + скополамін, n=9 | 7,9±2,5* | 129,8±19,9** | 5**/• | 75,0 |

5

Примітка: * - достовірно щодо інтактної групи ($p \leq 0,05$);
 ** - достовірно щодо групи контрольної патології ($p \leq 0,05$);
 • - достовірно щодо пірацетаму ($p \leq 0,05$).

10 Пірацетам чинив антиамнестичну дію, яка виражалася у достовірному збільшенні латентного періоду входу до темної камери в середньому в 5,6 разу відносно вихідного стану та у 1,8 разу відносно відповідного показника групи контрольної патології, 1 тварина досягла критерію навченості, що складає 16,7 %. Антиамнестична активність пірацетаму становила 58 %.

15 При застосуванні АРІЛ-1 в дозі 15 мг/кг зафіксований більш виражений ефект - латентний період достовірно збільшився в середньому в 24,6 разу відносно вихідного стану та в 2,6 разу відносно показника групи контрольної патології. АРІЛ-1 в дозі 5 мг/кг сприяв збільшенню латентного періоду входу в темну камеру в 16,4 разу відносно вихідного стану та в 2,7 разу перевищував показник групи контрольної патології.

20 В групах тварин, лікованих АРІЛ-1 в дозах 5 та 15 мг/кг кількість мишей, які досягли критерію навченості, становила 55,6 % та 60 % відповідно. Цей показник достовірно переважає аналогічний показник в групі тварин, які отримували препарат порівняння. Антиамнестична активність субстанції АРІЛ-1 в обох дозах порівнювалась 71,1-75 %, що перевищує дію пірацетаму в 1,3 разу. Перевагою заявленої сполуки порівняно з прототипом за амнестичною дією є істотно більша активність, адже виражений антиамнестичний ефект вона виявляє у дозі, в 20 разів меншій за діючу дозу пірацетаму.

Приклад 2.

Як об'єкт дослідження використано антагоніст рецепторів (АРІЛ-1), отриманий у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП.

30 Вивчення протисудомної дії АРІЛ-1 проводили у співставленні з препаратом порівняння діазепамом на білих мишах самцях масою 15-22 г на моделі коразолових судом, яку відтворювали внутрішньоочеревинним введенням коразолу в дозі 90 мг/кг.

Лабораторних тварин розподілили на групи відповідно до препарату, що вони одержували:

35 1. Контрольна патологія (модель коразолових судом) - коразол, 90 мг/кг внутрішньоочеревинно, n=7.

2. АРІЛ-1, 15 мг/кг (підшкірно) + коразол, n=8.

3. Коразол, 90 мг/кг внутрішньоочеревинно n=27.

4. Діазепам (0,1 мг/кг внутрішньоочеревинно) + коразол, n=27.

40 Як показники протисудомної дії вибрано латентний період та тривалість клоніко-судомного приступу в хвиликах, тяжкість судом в балах, кількість клоніко-тонічних судом на 1 мишу,

середню кількість тварин з клонічними та тонічними судомами, а також летальність в %. У разі обліку результатів у вигляді середня \pm стандартна помилка статистичну достовірність міжгрупових відмінностей розраховували за критерієм t Ст'юдента, у разі реєстрації результатів в альтернативній формі - за кутовим перетворенням Фішера.

5 Результати дослідження наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Вплив АРІЛ-1 та діазепаму на перебіг коразолових судом у мишей

| Показник | АРІЛ-1, 15 мг/кг | | Діазепам, 100 мг/кг | |
|--|------------------|----------------|---------------------|----------------|
| | Контроль (n = 7) | Дослід (n = 8) | Контроль (n = 27) | Дослід (n = 8) |
| Латентний період клоніко-тонічних судом, хв. | 2,8 \pm 0,3 | 9,1 \pm 3,4 | 3,9 \pm 0,3 | 8,2 \pm 1,6* |
| Тяжкість судом, бали | 5,6 \pm 0,3 | 3,8 \pm 0,5* | 5,8 \pm 0,1 | 4,4 \pm 0,6* |
| Кількість клоніко-тонічних судом на 1 мишу | 6,1 \pm 1,7 | 3,3 \pm 1,1 | 4,0 \pm 0,4 | 2,5 \pm 0,6* |
| Кількість тварин з клонічними судомами, % | 100 | 75* | 100 | 88* |
| Кількість тварин з тонічними судомами, % | 100 | 75*/** | 93 | 50* |
| Тривалість судомного періоду, хв. | 15,8 \pm 7,8 | 15,3 \pm 3,6 | 21,1 \pm 2,9 | 12,6 \pm 4,8 |
| Час загибелі, хв. | 18,6 \pm 7,9 | 20,2 \pm 3,9 | 25,0 \pm 3,4 | 20,8 \pm 8,4 |
| Летальність, % | 100 | 37,5* | 93 | 38* |

Примітка: * - достовірно щодо контрольної патології ($p \leq 0,05$);

** - достовірно щодо діазепаму ($p \leq 0,05$).

10

Аналіз даних таблиці 2 свідчить, що в групі тварин, які отримували діазепам, тривалість латентного періоду судомних нападів достовірно збільшився в 2,1 разу, зменшилася тривалість судомного періоду в 1,7 разу, час загибелі тварин знизився в 1,2 разу. Спостерігалось зниження тяжкості (в 1,3 разу) та кількості клонічних та тонічних судомних нападів на 1 тварину (в 1,6

15

разу). Клонічні напади зафіксовані у 88 % мишей, тонічні - у 50 %, що достовірно в 1,5 разу нижче, ніж аналогічний показник в групі мишей, які отримували АРІЛ-1. Показник летальності в групах мишей, що отримували АРІЛ-1 та діазепам співпадають (37,5-38 %).

20

При застосуванні АРІЛ-1 в дозі 15 мг/кг латентний період судомних нападів вірогідно збільшувався у середньому в 3,3 разу, тяжкість судом знижувалася у 1,5 разу та у 1,8 разу зменшувалася кількість судом на 1 тварину відносно показника групи контрольної патології.

25

Таким чином, антагоніст рецептора інтерлейкіну-1 чинить виражений протисудомний ефект, за яким не поступається препарату порівняння діазепаму, але значно переважає його за безпечністю і може бути рекомендований для застосування АРІЛ-1 як ефективного засобу протисудомної дії для лікування хворих з судомними нападами та епілепсією.

30

Приклад 3.
Як об'єкт дослідження використано антагоніст рецепторів (АРІЛ-1), отриманий у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП.

Дослідження по встановленню ансіолітичної активності АРІЛ-1 проводили за тестами «Стрижня, який обертається», «Піднесеного хрестоподібного лабіринту» та «Відкритого поля» на інтактних білих мишах-самцях масою 15-22 г [9].

Вплив АРІЛ-1 на тривожність піддослідних тварин досліджували за тестом піднесеного хрестоподібного лабіринту. Лабораторних тварин розподілили на 5 груп відповідно до препарату, що вони одержували, та його доз:

1. Інтактний контроль.

2. АРІЛ-1,5 мг/кг.
3. АРІЛ-1,15 мг/кг.
4. Інтактний контроль для діазепаму.
5. Діазепам, 10 мг/кг.

5 За критерії оцінки анкіолітичної активності вибрані наступні показники: час латентного періоду входу до темної камери, час загального перебування у світлих та темних відсіках, кількість переходів із відсіку до відсіку, кількість болюсів та уринацій.

10 Паралельно досліджували вплив АРІЛ-1 на м'язовий тонус та координацію рухів за тестом «Стрижень, що обертається», оскільки діазепам при застосуванні проявляє виражену міорелаксуючу дію. Критерієм оцінки впливу на м'язовий тонус та координацію рухів вибрано кількість мишей, що за певні проміжки часу впали зі стандартного стрижня, що обертається зі швидкістю 10 об/хв.

15 АРІЛ-1 вводили підшкірно у вигляді ін'єкційного розчину в дозах 5 мг/кг та 15 мг/кг. Препарат порівняння діазепам вводили внутрішньом'язово у дозі 10 мг/кг. Контрольні тварини отримували відповідну кількість дистильованої води.

Результати дослідження наведені в таблицях 3-4.

20 Аналіз наведених в таблиці 3 результатів досліді свідчить, що введення АРІЛ-1 в обох дозах сприяло помірному збільшенню латентного періоду входу тварин до темного відсіку в 2,2-3 рази, часу перебування у світлих рукавах лабіринту в 1,4-1,6 рази, але при цьому не викликало суттєвих змін показників емоційності, тобто АРІЛ-1 поряд з анкіолітичною, протитривожною дією не викликає пригнічення ЦНС та не виявляє седативного впливу. Діазепам значно збільшує латентний період входу тварин до темного відсіку в 15,8 рази та час перебування у світлих рукавах лабіринту в 1,6 рази, але при цьому достовірно знижує показники емоційності (кількість переходів, фекальних болюсів та уринацій). Тобто хоча АРІЛ-1 в обох випадках поступається діазепаму за проти тривожною дією, але на відміну від останнього проявляє селективну анкіолітичну дію без пригнічення ЦНС.

Таблиця 3

Вплив АРІЛ-1 та діазепаму на поведінку мишей у тесті «Піднесеного хрестоподібного лабіринту» та на м'язовий тонус та координацію рухів за тестом «Стрижень, що обертається»

| Показники | АРІЛ-1 | | | Діазепам (10 мг/кг) | |
|--|-----------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| | Контроль (n=16) | 5 мг/кг (n=16) | 15 мг/кг (n=16) | контроль (n=12) | дослід (n=13) |
| Латентний період входу до темного відсіку, с | 9,8±6,3 | 22,1±3,5 | 29,0±6,4* | 5,8±2,5 | 97,5±10,1* |
| Загальний час перебування у світлих відсіках, с | 60,2±12,7 | 94,6±9,4* | 83,5±10,8 | 82,9±24,0 | 215±34,0* |
| Час перебування у темних відсіках, с | 240,4±12,7 | 205,4±9,6* (-15 %) | 212,4±10,8 (-12 %) | 216±23,0 | 86,9±33,8* (-60 %) |
| Кількість переходів | 1,9±0,6 | 1,9±0,4 | 3,3±0,6 | 10,2±2,7 | 2,3±0,4* |
| Кількість фекальних болюсів та уринацій | 1,2±0,3 | 1,8±0,3 | 1,1±0,2 | 1,4±0,4 | 0,3±0,1* |
| Кількість мишей, які випали зі стрижня, що обертається (абс %) | | | | | |
| Час утримання на стрижні | n=10 | n=10 | n=10 | n=7 | n=7 |
| До 30 с | 8/80 % | 7/70 % | 8/80 % | 1/14 % | 5/71 %** |
| До 1 хв. | 2/20 % | 3/30 % | 2/20 % | 2/28 % | 5/71 % |
| До 2 хв. | 0 | 1/10 % | 0 | 2/28 % | 5/71 % |
| До 5 хв. | 0 | 0 | 0 | 3/43 % | 7/100 %** |
| До 10 хв. | 0 | 0 | 0 | 4/57 % | 7/100 %** |

Примітка: * - достовірно щодо контрольної патології (p≤0,05),

** - достовірно щодо групи вихідного контролю (p<0,01).

За результатами тесту «Стрижень, що обертається», АРІЛ-1 не виявляє вираженого негативного впливу на м'язовий тонус та координацію рухів на відміну від діазепаму, який навіть при одноразовому введенні викликає достовірне зниження тонуусу скелетних м'язів та погіршення координації рухів піддослідних тварин.

Для подальшої оцінки спектра психотропної активності АРІЛ-1 вивчали поведінку тварин в тесті відкритого поля, що дозволяло оцінити локомоторну активність, дослідницьку активність, вегетативне супроводження емоційних реакцій під впливом досліджуваної речовини [8]. Результати дослідження наведені в таблиці 4.

Таблиця 4

Вплив АРІЛ-1 на поведінку мишей в тесті «Відкритого поля»

| Показники | Інтактний контроль (n=16) | АРІЛ-1 | |
|----------------------------------|------------------------------|----------------|-----------------|
| | | 5 мг/кг (n=10) | 15 мг/кг (n=16) |
| Кількість: | | | |
| - перетнутих квадратів | 46,9±3,8 | 47,4±3,4 | 59,2±4,1* |
| - вертикальних вставань | 9,1±1,1 | 13,6±1,0* | 14,4±2,1* |
| Кількість обстежених отворів | 25,7±1,8 | 25,7±1,6 | 26,0±1,5 |
| Емоційні та вегетативні реакції: | | | |
| - грумінг | 1,3±0,2 | 0,4±0,2* | 0,6±0,1 |
| - болюси | 0,6±0,1 | 0,8±0,3 | 0,9±0,2 |
| - уринації | 0,2±0,1 | 0,1±0,1 | 0,1±0,1 |
| - сума показників | 2,1±0,3 | 4,9±0,6 | 1,6±0,4 |
| Сума всіх активностей | 83,8±4,4 | 88,0±5,0 | 101,2±6,5* |

Примітка: * - достовірно щодо інтактного контролю ($p \leq 0,05$).

Аналіз даних таблиці 4 свідчить, що АРІЛ-1 в дозах 5 мг/кг та 15 мг/кг сприяє достовірному підвищенню локомоторної активності, не пригнічує дослідницької поведінки та не викликає змін інших показників емоційного стану інтактних тварин. АРІЛ-1 в дозі 15 мг/кг достовірно підвищує суму всіх активностей в 1,2 разу, тобто сприяє психомоторній активації. Отже, дію АРІЛ-1 можна вважати достатньо анкіоселективною.

Таким чином, антагоніст рецепторів інтерлейкіну-1 може бути рекомендований для застосування як ефективного засобу антиамнестичної, протисудомної та анкіолітичної дії, який може бути рекомендований для використання при створенні лікарських засобів для лікування порушень пам'яті, епілепсії та судомних нападів різного походження, а також неврозів та інших наслідків стресу.

Джерела інформації:

1. Беленичев И. Ф., Мазур И. А., Стец В. Р., Сидорова И. В. Ноотропная терапия: прошлое, настоящее, будущее // Новости медицины и фармации. - 2004. - № 14 (155). - С. 10.

2. Масштаб неврологических и психиатрических проблем в последнем десятилетии XX века и тенденции их будущего развития в свете статистическо-эпидемиологических данных ВОЗ // Журн. неврол. и психиатр. - 1999. - № 1. - С. 56-63.

3. Вознесенская Т. Г. Эмоциональный стресс и профилактика его последствий // Практикующему неврологу. - 2007. - № 2 (12). - С. 43-49.

4. Аведисова А. С., Ахапкин Р. В., Ахапкина В. И., Вериги Н. Н. Пирацетам в свете современных исследований (анализ зарубежных исследований) // Психиатрия и психофармакотерапия. - 2000. - Т. 2, № 6. - С. 178-184.

5. Компендіум 2007 - лікарські препарати / За ред. В. М. Коваленка, О. П. Вікторова. - К.: МОРИОН, 2007. - Т. 1. - С.Л - 1002-1003.

6. Компендіум 2007 - лікарські препарати / За ред. В. М. Коваленка, О. П. Вікторова. - К.: МОРИОН, 2007. - Т. 2. - С.С - 65-С-66.

7. Машковский М. Д. Лекарственные средства: в 2 т. - Т. 1. - 14-е изд., перераб., испр. и доп. - М.: ООО «Издательство Новая Волна», 2000. - С. 111-113.

8. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ / Т. А. Воронина, Р. У. Островская // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. - Москва: Ремедиум, 2005. - С. 153-158.

9. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / за ред. членкор. АМН України О. В. Стефанова. - К.: Авіценна, 2001. - С. 352-361.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 5 Застосування антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 як засобу анксиолітичної дії.

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601