



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **92383** (13) **C2**
(51) **МПК (2009)**
A61K 31/4015
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 25/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) РЕЧОВИНА, ЯКА МАЄ НЕЙРОМОДУЛЯТОРНУ АКТИВНІСТЬ

1

(21) а200812581
(22) 27.02.2007
(24) 25.10.2010
(86) PCT/RU2007/000094, 27.02.2007
(31) 2006109678
(32) 28.03.2006
(33) RU
(46) 25.10.2010, Бюл.№ 20, 2010 р.
(72) АХАПКІН РОМАН ВІТАЛЬЄВИЧ, RU, ВОРОНИНА ТАТЬЯНА АЛЕКСАНДРОВНА, RU
(73) АХАПКІНА ВАЛЕНТИНА ІВАНОВНА, RU
(56) RU 2050851 C1, 27.12.1995
Селянина Н.В., Шутов А.А. Опыт применения Фенотропила у больных с начальными проявлениями недостаточности кровоснабжения мозга. Журнал

2

Нервные болезни, №4, 2005 г. [online] Знайдений у Internet <<http://www.medi.ru/doc/310118.html>>
Герасимова М.М. Клинико-иммунологические аспекты влияния фенотропила на последствия церебрального инсульта. Журнал Неврология и Психиатрия им. С.С. Корсакова, Т.105, №5, 2005 г. [online] Знайдений у Internet <<http://www.medi.ru/doc/310113.html>>
Ахапкина В.И., Воронина Т.А. Спектр фармакологических эффектов Фенотропила. Журнал ФАРМАТЕКА, № 13, 2005 г. [online] Знайдений у Internet <<http://www.medi.ru/doc/310115.html>>
(57) Застосування N-карбамоїл-метил-4-феніл-2-піролідону як речовини, що має нейромодуляторну активність.

Винахід відноситься до галузі медицини, конкретно до фармакології і стосується лікарських засобів, які надають комплексного, багатокомпонентно-регулюючого впливу на функціональний стан центральної нервової системи (ЦНС) і судини головного мозку.

Відомий широкий спектр нейротропних і цереброваскулярних лікарських засобів різних фармакологічних груп, які застосовуються в комплексній терапії патології ЦНС при цереброваскулярних хворобах, серед яких провідне місце займає інсульта різної етіології. При цьому кожний з препаратів різної фармакологічної спрямованості, включений в терапевтичний комплекс, цілеспрямований на специфічне усунення вираженості прояву того або іншого симптому у симптомокомплексах психоневрологічних синдромів і захворювань. Поліпрагмація має ряд істотних недоліків, зв'язаних як із складністю складання схем раціонального дозування і схем раціонального одночасного застосування багатьох лікарських засобів, так і зі складанням прогнозу їх ефективності та переносимості, а також можливого синергізму побічних дій.

Задачею даного винаходу є розробка універсального з погляду нейропсихофармакології лікарського препарату.

В результаті вирішення даної задачі можливе одержання технічного результату, який полягає у здатності лікарської речовини проявляти при монотерапії комплексний вплив на функціональний стан ЦНС і судини головного мозку при нейроцеребральних і цереброваскулярних хворобах, а також має лікувальні і профілактичні властивості, які запобігають патологічному розвитку хвороб ЦНС.

Дані технічні результати досягаються тим, що як речовина, яка має нейротропну, нейромодуляторну, цереброваскулярну і протиінсультну активність застосований N-карбамоїл-метил-4-феніл-2-піролідон (фенотропіл), відомий як: гіпотензивна і протиішемічна (при ІБС) речовина (Авт. св. СРСР №797219 кл. А61К21/40 3С07D207/26, Патент РФ №2183117 кл. С1А61К31/40, Євразійський Патент №002380 кл. В1А61К31/4015); речовина і фармацевтична композиція, які мають ноотропну активність (Патент РФ №2050851 кл. А61К31/40С1, Патент РФ №2240783 кл. А61К9/20 31/40, А61Р25/28С1) і речовина, яка має антидепресивну активність (Патент РФ №2232578 кл. А61К31/4152, А61Р25/24С1).

Ефекти цієї речовини при гострій цереброваскулярній патології не описані.

(19) **UA** (11) **92383** (13) **C2**

Пропонується використовувати N-карбамоїл-метил-4-феніл-2-піролідон (фенотропіл) як нейротропний-нейромодуляторний, цереброваскулярний і протиінсультний засіб, який має ряд переваг перед застосуванням комплексу речовин різних фармакологічних груп, а саме: виражену багатоконпонентну ефективність; простоту дозування і застосування в будь-якій лікарській формі; відносно низьку токсичність ($LD_{50}=800\text{мг/кг}$); відсутність виражених побічних дій; при курсовому прийомі не розвивається звикання, залежність і толерантність, речовина не метаболізується в організмі і виводиться з нього в незмінному вигляді.

Моделлю для оцінки запропонованих ефектів фенотропілу вибрана найбільш важка і найбільш поширена форма цереброваскулярної патології - інсульт, в терапії якого дотепер не досягнуто значимих результатів. У розвинених країнах судинні захворювання головного мозку є третьою за значимістю причиною смертності і частіше за інші призводять до інвалідності. Втрати великої кількості працездатного населення і тривалі терміни госпіталізації вимагають в порівнянні з більшістю інших захворювань найбільших економічних витрат (Гусев Е.І., Скворцова В.І. і соавт., 2003; Верещагин Н.В., Варакин Н.В., 2001; Харрисон Т.Р. і соавт., 1997). Існує два основних напрямки у перебігу інсульту: тромболізіс, нейромодуляція і нейропротекція. Ефективність тромболізісу доведена множиною клінічних досліджень, що стосуються лікарських препаратів, які мають нейромодуляторну і нейропротективну активність, то на сьогоднішній день проводиться їх активний пошук.

Дослідження проведені відповідно до «Керівництва з експериментального (доклінічного) вивчення нових фармакологічних речовин» Мінздраву Російської Федерації (2000).

Одержані результати досліджень оброблені статистично. Підраховані середні значення та їх стандартні відхилення для кожної групи. Статистична достовірність відмінностей між дослідними і контрольними групами визначалася за допомогою t-тесту Стюдента, тесту χ^2 -квадрат і тесту Манна-Уїтні. Відмінності вважалися достовірними при $p<0,05$. (Боровков В.П., 2001; Гланц С., 1999).

Приклад 1. Вивчення протиінсультної дії фенотропілу на моделі геморагічного інсульту (інтрацеребральна посттравматична гематома).

Досліди проведені на білих безпородних щурах-самцях масою 200-250г. Щури утримувалися в умовах віварію при вільному доступі до їжі і води, при природній зміні дня і ночі. З метою створення геморагічного інсульту (ГІ) у щурів, наркотизованих хлоралгідратом (400мг/кг), проводилася стереотаксична трепанація черепа і потім мандрен-ножем здійснювали деструкцію мозкової тканини в ділянці *capsula interna* з введенням в місце пошкодження крові, взятої з-під язика щура ($0,02\text{-}0,03\text{мл}$). У такий спосіб досягався локальний аутогеморагічний білатеральний інсульт в ділянці внутрішньої капсули (діаметр - 2мм, глибина - 3мм) без пошкодження вище розташованих утворень мозку і неокортексу. Контролем служили помилково оперовані тварини і тварини з ГІ, що одержували фізіологічний розчин. Фенотропіл вводили в дозі

100мг/кг інтрагастрально, з використанням спеціального зонда, через 5 годин після операції і потім щодня протягом 7 днів в один і той самий час доби $\pm 3\text{хв}$.

Під час операції і безпосередньо після операції загинуло 40% щурів. Тих, що вижили в перші години після П спостерігали 14 діб. Оцінювали вплив фенотропілу: на виживаність тварин; на рівень неврологічного дефіциту за шкалою *Stroke index* McGrow в модифікації І.В. Ганнушкіної (1977) і за методикою «оберткового стрижня»; за збереженням м'язового тону в тесті підтягування на горизонтальній поперечці; на орієнтовно-дослідну поведінку в тесті «відкрите поле». Дослідження когнітивних функцій проводили на стандартній установці умовного рефлексу пасивного уникнення (УРПУ). Тест на відтворення УРПУ (на збереження пам'яткового сліду) здійснювали через 24 години після навчання, а також на 3-ю, 7-у, 14-у добу після операції. Під час оцінки збереження ніркового рефлексу реєстрували латентний час першого заходження в темну камеру.

У першу добу після операції практично у всіх тварин з ГІ виявлені неврологічні відхилення (90%-100%) на фоні фізіологічного розчину, що виявилися у вигляді млявості, сповільненості рухів, слабкості кінцівок, тоді як у помилково оперованих щурів ці порушення відзначені у 30%-40% (табл.1). При ГІ на фоні фенотропілу вираженість неврологічного дефіциту за цим тестом виявлялася у 40%-50% і практично не відрізнялася від групи помилково оперованих. Неврологічні порушення, що виявилися у вигляді маневрних рухів по колу, і паралічі кінцівок у інсультних тварин з фенотропілом були відсутні, а в групі з ГІ+ фізіологічний розчин глибокі неврологічні порушення становили 40%, 30% та 30% відповідно.

Таким чином, у гострому періоді ГІ фенотропіл проявляє виражену нейротропну і цереброваскулярну активність та послаблює порушення неврологічного статусу.

Реєстрація м'язового тону у щурів з ГІ показала, що на третю добу після інсульту ослаблення м'язового тону відзначалося в середньому у 40%-50%, а на сьому - чотирнадцяту у 38%-36% тварин (табл.2). У тварин, які одержували фенотропіл, на першу - третю добу ослаблення м'язового тону спостерігалось у 42%-33%. На сьому добу після введення фенотропілу ослаблення м'язового тону спостерігалось у 25%, а до чотирнадцятої доби цей показник знижувався до 16% і був статистично достовірний в порівнянні з показниками інсультних тварин (табл.2).

Дослідження динаміки порушень координації рухів у щурів з ГІ показало, що на першу - третю добу порушення координації рухів відзначалося у 48%-50%, а на сьому - чотирнадцяту у 38%-45% тварин, що вижили (табл.3). Фенотропіл в дозі 100мг/кг ослаблював порушення координації рухів у щурів. Виражені і статистично достовірні результати були одержані на сьому - чотирнадцяту добу після інсульту (табл.3).

Нірковий рефлекс гризунів є природженим прагненням до обмеженого затемненого простору. У першу добу після операції у всіх тварин зберіга-

ється нірковий рефлекс, але в групах з ГІ і на фоні одноразового застосування фенотропілу збільшувався латентний час виконання рефлексу (табл.4).

У результаті досліджень встановлено, що в контрольній групі щурів, які одержували протягом всього експерименту фізіологічний розчин (інтактні), при відтворенні УРПУ через 24 години після навчання (одержання больового роздратування в темному відсіку камери) 80% тварин пам'ятали про удар струмом і не заходили в темну «небезпечну» камеру протягом всього часу спостереження. Через добу після навчання контрольні інтактні і помилково оперовані щури добре пам'ятали про удар струмом в темній камері і 70%-80% тварин не заходили в цей небезпечний відсік. Решта щурів заходила в темний відсік з великим латентним періодом (табл.5а). У щурів з геморагічним інсультом (ГІ) через добу після навчання достовірно зменшився латентний час заходження в темну камеру. Тільки 25% тварин зовсім не зашли в темну камеру, тобто пам'ятали про удар струмом, а у 75% щурів пам'ять була порушена (табл.5а).

Фенотропіл в дозі 100мг/кг при одноразовому введенні через 5 годин після операції (відтворення УРПУ через добу після навчання) збільшував до 40% кількість тварин із збереженою пам'яттю (тварини з ГІ - 25%) і збільшував латентний час заходження в темний небезпечний відсік. Однак, цей поліпшувачий ефект препарату після одноразового введення був статистично недостовірний в порівнянні з інтактними тваринами, але порівняно з інсультною групою збільшував латентний час заходження в темну камеру на 48% і на 60% збільшував кількість тварин із збереженою пам'яттю через добу.

Через 3-й доби після операції порушення пам'яті у тварин з ГІ зберігалися на тому самому рівні (табл.5а). Після 3-х кратного введення фенотропілу відзначалося збільшення латентного часу заходження в темну камеру і збільшення кількості тварин, що не зайшли в камеру; але і ці ефекти фенотропілу були статистично недостовірними (табл.5а) в порівнянні з помилково оперованими, але значимо вираженими і достовірними в порівнянні з інсультною групою з фізіологічним розчином.

Через 7 та 14 діб після навчання інтактні і помилково оперовані тварини добре пам'ятали про негативну ситуацію і виконували УРПУ (табл.5б). Порівняно з ними, на 7-14 день після ГІ і навчання пам'ять тварин на одержання больового роздратування в темній камері була достовірно порушена. Причому це порушення пам'яті було виражене в більшій мірі порівняно з показниками через 1 та 3 доби після операції. Так, через 7 діб тільки 16% тварин пам'ятали про негативне роздратування, а решта щурів заходила в темний небезпечний відсік вже через 28 секунд. А через 14 діб тільки 9% тварин зберегли УРПУ (табл.5б).

Фенотропіл, введений щурам в дозі 100мг/кг протягом 7 днів відновлював порушення пам'яті у постінсультний період на 7 та 14 день після операції ГІ. Під впливом препарату спостерігалось статистично достовірне збільшення (до 40%) кількості тварин, що пам'ятали негативну ситуацію (у

щурів з ГІ - 9%). Приблизно у 3 рази збільшувався в порівнянні з інсультними щурами латентний час заходження в темну небезпечну камеру (табл. 5б).

Таким чином, фенотропіл, при повторному введенні має здатність відновлювати порушену при геморагічному інсульті пам'ять на моделі умовного рефлексу пасивного уникнення.

Вивчення орієнтовно-дослідної поведінки в умовах методики відкритого поля показало, що в першу добу після операції у щурів ГІ відзначалося значне, майже в 2 рази зниження сумарних показників рухової активності і дослідної поведінки. Схожі показники поведінки щурів спостерігалися і на 14-й день після ГІ, хоча тварини були і дещо активніші (табл.6). Фенотропіл при реєстрації ефекту через 3-й доби після ГІ збільшував сумарні показники поведінки до рівня показників поведінки інтактних і помилково оперованих тварин (табл.6). При реєстрації ефекту після 7-ми днів введення фенотропілу сумарний показник рухової поведінки в порівнянні з групою щурів з ГІ збільшувався в 2,7 рази (табл.6). Через 14 діб після операції активуючий ефект фенотропілу на поведінку зберігався.

Як видно з табл.7, протягом 14-ої доби після операції в групі помилково оперованих загинула одна тварина. У групі з ГІ+ фізіологічний розчин протягом першої доби загинуло 23% тварин, а до 14-го дня цей показник досяг 57%. Фенотропіл в дозі 100мг/кг при щоденному одноразовому введенні протягом 7-ми днів повністю попереджував загибель тварин.

В результаті проведених досліджень показано, що в порівнянні з помилково оперованими тваринами у щурів з геморагічним інсультом (інтрацеребральною посттравматичною гематомою) спостерігаються: виражений неврологічний дефіцит, порушення координації рухів, ослаблення процесів навчання і пам'яті і підвищення показників загибелі тварин. При цьому відзначалося поглиблення патологічної симптоматики до 14-го дня спостереження.

Фенотропіл, при введенні тваринам в дозі 100мг/кг через 5 годин після операції, а потім щодня протягом 7 днів викликає значне поліпшення інсультних і постінсультних порушень. Препарат покращує показники неврологічного дефіциту за шкалою McGrow вже через добу після інсульту, а при курсовому застосуванні підвищує м'язовий тонус і покращує координацію рухів на 7 та 14 добу після інсульту. Фенотропіл при повторному застосуванні відновлює порушену інсультом пам'ять, покращуючи відтворення умовного рефлексу пасивного уникнення на 7 та 14 добу після інсульту. Найбільш яскравим ефектом фенотропілу є його здатність повністю попереджати загибель тварин з геморагічним інсультом.

Таким чином, фенотропіл (100мг/кг, всередину) при курсовому 7-ми денному введенні має чітку протиінсультну дію у щурів на моделі геморагічного інсульту (інтрацеребральна посттравматична гематома), що виражається в поліпшенні неврологічного статусу, загальної поведінки, когнітивних функцій, і що найголовніше - запобіганні загибелі тварин.

Приклад 2. Оцінка ефективності фенотропілу на моделі гострого ішемічного інсульту

У даному дослідженні була застосована модель локальної ішемії головного мозку у щурів з дистальною оклюзією середньої мозкової артерії (ОСМА), вперше описана S.T. Chen (1989). У наркотизованих хлоралгідратом тварин (300мг/кг, в/б) жорстко фіксували голову в боковому положенні лівою стороною догори. Після розрізу шкіри посередині між лівою вушною раковиною і лівим оком розсовували волокна скроневого м'яза до поверхні черепа. За допомогою бормашини, діаметр бору 0,5 мм, в місці шва лускатої кістки з лобовою робили отвір діаметром близько трьох-чотирьох міліметрів, оголюючи місце перетину середньої мозкової артерії з нижньою мозковою веною.

За допомогою мікроскопа (Olympus SZ-CTV) під великим збільшенням (14,0×3,3) під ліву середню мозкову артерію підводили спеціальний металевий гачок. Методом електрокоагуляції проводили оклюзію середньої мозкової артерії проксимальніше місця її біфуркації на фронтальну і парієтальну гілки. При цьому у полі зору мікроскопа спостерігалось припинення протікання крові по середній мозковій артерії вище місця оклюзії. Після операції рана пошарово ушивалася і проводилася іпсилатеральна оклюзія загальної сонної артерії.

Для оцінки впливу препарату на зону ішемії використовувалась метод гістохімічного профарбування тканини головного мозку 2,3,5-трифенілтетразоліа хлоридом (TTX) (Bederson J.B. и соавт., 1986).

Для цього через 72 години після ОСМА тварини під наркозом були декапітовані, їх головний мозок витягувався з черепної коробки. Готувалися 6 фронтальних зрізів товщиною 1мм, які надалі зафарбовувалися ТТХ. Далі для кожного зафарбованого зрізу проводилося його двостороннє сканування і комп'ютерна планіметрія за допомогою програми МОСНА (Jandel Scientific, версія 1.2.0.0). Визначали площу іпсилатеральної півкулі (ІП) і зону ураження (ЗУ). Відсоткове співвідношення об'єму осередку до об'єму іпсилатеральної півкулі обчислювалось за наступною формулою:

$$V_{(3П)}/V_{(ІП)} = (S_{(3П)1} + S_{(3П)2} + \dots + S_{(3П)6}) / (S_{(ІП)1} + S_{(ІП)2} + \dots + S_{(ІП)6}),$$

де $S_{(3П)}$ та $S_{(ІП)}$ - площі ЗУ та ІП для кожного зрізу (Roda J.M. и соавт., 1995).

Для оцінки динаміки порушень поведінки і стану тварин використовували комплекс методів, які застосовуються в нейропсихофармакології (Воронина Т.А., 2000). Навчання і пам'ять щурів досліджували на моделі умовного рефлексу пасивного уникнення (УРПУ, установка Passive avoidance фірми Lafayette Instrument Co США). Навчання тварин УРПУ проводили через 24 години після операції, а відтворення рефлексу через добу після навчання протягом 3хв. (180сек.).

Неврологічний статус тварин визначали за шкалою Stroke-index McGrow для монгольських піщанок (McGrow, 1977) в модифікації І.В.Ганнушкіної (1996). Оцінку проводили за бальною системою. За наявності у тварин декількох симптомів неврологічного дефіциту тяжкість стану

визначалася як сума відповідних балів. Відзначалася кількість щурів з легкою (від 0,5 до 2,5 Stroke-index) і тяжкою (від 3 до 10 Stroke-index) неврологічною симптоматикою.

Дослідження проведені на щурах-самцях лінії Vistar (250-300г), які утримуються у віварії при вільному доступі до їжі і води при 12-ти годинному режимі зміни дня і ночі.

Під час дослідження тварини були поділені випадковим чином на 11 груп. Фенотропіл в дозах 100мг/кг, 200мг/кг та 300мг/кг вводили внутрішньочеревинно трьом групам тварин за 60хв. до операції і трьом групам тварин через 5хв. після операції. Помилково оперованим тваринам вводили фізіологічний розчин. Потім речовини вводилися одноразово на 2-у та 3-ю добу. Речовини вводилися строго в один і той самий час доби ± 3 хв.

Аналіз неврологічного статусу тварин, який реєструється за шкалою Stroke-index McGrow, показав, що у всіх оперованих щурів спостерігалися легкі порушення неврологічного статусу у вигляді тремору, зниження дратівливості, обмеження рухливості, одностороннього полуптозу. Динаміка розвитку порушень неврологічного статусу за 72 години після операції представлена в табл.8.

Слід зазначити, що у тварин, які одержували фенотропіл до операції тремор і сповільненість рухів вже в 1 добу відзначалися рідше (табл.8). Якщо в групі контрольних тварин з оклюзією середньою мозковою артерією без препарату млявість, сповільненість рухів, тремор виявлялися на 2 та 3 добу, то у тварин, які одержували фенотропіл в післяопераційному періоді відзначалася більш швидка позитивна динаміка: на 2 добу значно зменшилася кількість тварин з тремором і сповільненістю рухів. Вираженість і наростання лівостороннього полуптозу у тварин може відображати розвиток післяопераційного набряку.

Під час дослідження процесів навчання і пам'яті на моделі УРПУ були одержані наступні результати, представлені в табл.9. У тварин з ОСМА відбулося виражене порушення пам'яті. На фоні фенотропілу у всіх групах тварин з ОСМА латентний час першого заходження в темний відсік камери значно збільшувався в порівнянні з групою №5. При профілактичному застосуванні фенотропілу за 60хв. до ОСМА ці показники не мали достовірних відмінностей з групами №1 та №2, що вказує на високий нейротропний ефект препарату.

Через 72 години після операції зона ураження у контрольних тварин (група №5) становила $11,5 \pm 0,98\%$ від об'єму іпсилатеральної півкулі (формула розрахунку представлена вище). У тварин, які одержували фенотропіл в дозі 100мг/кг, 200мг/кг, 300мг/кг за 60хв. до операції відзначалися наступні показники - $7,4 \pm 0,72\%$ (група №6); $6,52 \pm 0,58\%$ (група №7); $6,03 \pm 0,75\%$ (група №8) відповідно. Післяопераційне введення фенотропілу (через 5хв. після оклюзії середньої мозкової артерії) в дозах 100мг/кг, 200мг/кг, 300мг/кг призвело до наступних результатів: $11 \pm 0,87\%$ (група №9); $10,79 \pm 0,97\%$ (група №10); $9,5 \pm 0,94\%$ (група №11) відповідно (табл.10).

Одержані в результаті роботи дані показують, що фенотропіл зберігає функції пам'яті, покращує

неврологічний статус тварин в післяопераційному періоді, що виражалось у збільшенні латентного часу першого заходження в темний відсік камери при УРПУ, в більш активній поведінці тварин, меншій частоті тремору в порівнянні з контрольною групою №5. Профілактичне введення препарату (за 60хв. до операції) викликало виражене зменшення зони осередку ураження: 100мг/кг - на 36%; 200мг/кг - на 43%; 300мг/кг - 48% відносно результатів в контрольній групі тварин. Введення фенотропілу в дозах 100мг/кг, 200мг/кг і 300мг/кг через 5 хвилин після операції призвело до скорочення зони ураження мозку на 4%, 6% та 17% відповідно.

Показано, що залежність доза-ефект при ішемічному інсульті має найбільше значення в період гострої маніфестації інсульту, коли потрібні більш високі дози препарату. Найбільшу ефективність фенотропіл проявляє в дозі 300мг/кг і особливо при профілактичному застосуванні.

Приклад 3. Оцінка протиінсультної активності фенотропілу при курсовому 10-ти денному введенні.

Дослідження проведені за методикою Прикладу 2 на 2-х групах тварин (по 20 щурів в кожній групі). Фенотропіл (300мг/кг) і фізіологічний розчин в еквівалентному об'ємі вводили внутрішньочеревинно протягом 10-ти днів (в один і той самий час доби ± 3 хв.), починаючи з 1-го дня через 5хв. після операції. Щури для експериментальних досліджень відбиралися тільки з однаковою масою тіла ($270\text{г} \pm 10\text{г}$).

Визначали об'єм іпсилатеральної півкулі (мм^3) на 3-ю і 10-у добу експерименту, а також досліджували патолого-морфологічний стан півкулі і зони ураження мозку.

В обох групах на 10-у добу було відзначено рубцювання зони ураження. У контрольній групі, на відміну від групи щурів, які одержували фенотропіл, спостерігалось зморщення півкулі (стягання до зони ураження), а в групі з фенотропілом на 10-у добу не було виявлено зморщення півкулі. Об'єм іпсилатеральної півкулі в 1-ій групі тварин (табл.11) скоротився в середньому на 10%. Достовірних змін об'єму півкулі в 2-ій групі виявлено не було, що вказує на терапевтичний ефект навіть нетривалого курсового застосування фенотропілу.

Проведені дослідження свідчать про те, що фенотропіл має виражену універсальну нейротропну і цереброваскулярну активність, надаючи протиінсультну дію в умовах експериментального геморагічного та ішемічного інсульту, як форм патології ЦНС.

На фоні застосування фенотропілу в гострому періоді розладу ЦНС при цереброваскулярній патології різної етіології відбувається реконструкція функціональної норми пам'яті, поведінкових реакцій та рухової активності, м'язового тону та усунення прояву вираженості неврологічних дефіцитів з повним відновленням психоневрологічного статусу при курсовому введенні препарату на достатньо ранніх стадіях перебігу хвороби.

При геморагічному інсульті введення практично мінімальної терапевтичної дози препарату (100мг/кг) запобігало смертності тварин у 100% випадків. При цьому в контрольній групі тварин загинуло 57% щурів.

При ішемічному інсульті фенотропіл, введений за 60хв. до операції і одноразово протягом трьох днів, скорочував зону ураження мозку в середньому на 42% (48% - в дозі 300мг/кг), що вказує на його ефективність і перспективність використання з метою профілактики і лікування цереброваскулярних розладів і розвитку захворювань ЦНС. Введення фенотропілу в дозах 100, 200 та 300мг/кг через 5хв. після операції і за 3-х денною схемою виявляло менш виражений ефект (17% в дозі 300мг/кг) за цим показником у гострий період маніфестації інсульту, але збільшення тривалості курсу лікування до 10-ти днів сприяло запобіганню деструктивним змінам мозку.

Виявлена ефективність фенотропілу на прикладі інсульту різної етіології виходить за рамки раніше описаних його окремих фармакологічних властивостей і показує, що фенотропіл є родоначальником нового покоління лікарських речовин, які мають універсальну нейротропну активність, що забезпечує відповідну (нейромодуляторну) перебудову функціонального стану ЦНС, що у свою чергу призводить до прояву, залежно від наявності тих або інших розладів або хвороб ЦНС, різних багатокомпонентних ефектів, включаючи цереброваскулярні-нейропротективні властивості.

Таблиця 1

Вплив фенотропілу (100мг/кг, всередину) на неврологічний дефіцит у щурів в 1-у добу геморагічного інсульту (за шкалою McGrow)

Неврологічні симптоми	Кількість тварин з різною неврологічною симптоматикою в%		
	1 доба після операції		
	Групи тварин		
	Помилково оперовані +фіз. р-н	Інсультні +фіз. р-н	Інсультні +фенотропіл
Млявість, сповільненість рухів	40	100	50
Слабкість кінцівок	30	90	40*
Маневрні рухи	0	40	0*
Парез 1-4 кінцівок	0	30	30
Параліч 1-4 кінцівок	0	30	0*

* - достовірність відмінностей від інсультних щурів при $p \leq 0,05$ (χ^2)

Таблиця 2

Вплив фенотропілу на м'язовий тонус тварин
в тесті горизонтальної поперечки після геморагічного інсульту

Група тварин	Кількість тварин, що не підтяглися на горизонтальній поперечці в абс. од. та %							
	1-а доба		3-я доба		7-ма доба		14-та доба	
	а.о.	%	а.о.	%	а.о.	%	а.о.	%
Інтактні (без операції)	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
Помилково оперовані	1/10	10	2/10	20	1/10	10	0/9	0
Інсульт	10/23	43*	9/18	50*	5/13	38*	4/11	36*
Інсульт +фенотропіл	5/12	42	4/12	33	3/12	25	2/12	16**

а.о. - абсолютні одиниці

* - достовірність відмінностей від помилково оперованих щурів при $p \leq 0,05$ (χ^2)

** - достовірність відмінностей від інсультних щурів при $p \leq 0,05$ (χ^2)

Таблиця 3

Вплив фенотропілу на координацію рухів
тварин в тесті обертового стрижня після геморагічного інсульту

Група тварин	Кількість тварин, що не утрималися на обертовому стрижні (Зоб/хв.) протягом 2-х хвилин, в абс. од. та %							
	1-а доба		3-я доба		7-ма доба		14-та доба	
	а.о.	%	а.о.	%	а.о.	%	а.о.	%
Інтактні (без операції)	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
Помилково оперовані	2/10	20	3/10	30	1/10	10	1/9	10
Інсульт	11/23	48*	9/18	50	5/13	38*	5/11	45*
Інсульт +фенотропіл	5/12	42	4/12	33	0/12	0**	0/12	0**

а.о. - абсолютні одиниці

* - достовірність відмінностей від помилково оперованих щурів при $p \leq 0,05$ (χ^2)

** - достовірність відмінностей від щурів з ГІ при $p \leq 0,05$ (χ^2)

Таблиця 4

Вплив фенотропілу на виконання ніркового рефлексу

Групи тварин	Латентний час (сек) заходження в темну камеру при навчанні нірковому рефлексу
	1 доба після операції
Інтактні тварини (без операції)	12,8±1,2
Помилково оперовані	13,03±0,9
Інсультні	35,2±10,1
Фенотропіл	30,6±8,8

Таблиця 5а

Вплив фенотропілу на відтворення УРПУ у щурів з інтрацеребральною посттравматичною гематомою

Групи тварин	Відтворення УПРУ через:			
	24 години після навчання		3-й доби	
	Латентний час заходження в темну камеру (сек)	Кількість щурів, що не увійшли в темну камеру, %	Латентний час заходження в темну камеру (сек)	Кількість щурів, що не увійшли в темну камеру, %
Інтактні(без операції)	156,0±24,0	80	152,5±14,3	80
Помилково оперовані	143,7±16,3	70	137,6±17,4	65

Продовження таблиці 5a

Інсульт	68,3±26,4*	25*	71,4±39,3*	28
Інсульт +фенотропіл	101,1±24,2**	40**	98,3±18,7	40**

* - достовірність відмінностей від помилково оперованих щурів при $p \leq 0,05$ (χ^2)* - достовірність відмінностей від інсультної групи при $p \leq 0,05$ (χ^2)

Таблиця 5б

Групи тварин	Відтворення УПРУ через:			
	7 діб		14 діб	
	Латентний час заходження в темну камеру (сек)	Кількість щурів, що не увійшли в темну камеру, %	Латентний час заходження в темну камеру (сек)	Кількість щурів, що не увійшли в темну камеру, %
Інтактні	143,1±16,5	75	133,6±25,1	60
Помилково оперовані	124,3±22,0	60	114,2±20,6	55
Інсульт	28,0±2,9*	16*	23,7±11,2*	9*
Інсульт +фенотропіл	75,2±24,1**	30**	83,2±26,7**	40**

* - достовірність відмінностей від помилково оперованих щурів при $p \leq 0,05$ (t-тест Ст'юдента; χ^2)** - достовірність відмінностей від щурів з інсультом при $p \leq 0,05$ (t-тест Ст'юдента; χ^2)

Таблиця 6

Вплив фенотропілу на орієнтовно-дослідну поведінку і рухову активність тварин в умовах методики відкритого поля після геморагічного інсульту

Групи тварин	Горизонтальна рухова активність	Вертикальна рухова активність	Обстеження отворів	Сумарний показник
1-а доба після операції				
Інтактні	15,6±2,3	5,6±1,4	3,3±0,9	24,5±5,4
Помилково оперовані	14,7±1,9	2,9±0,6	3,2±0,7	20,8±2,6
ГІ+фіз. р-н	7,3±1,1*	2,7±0,8	1,8±0,3	11,8±2,0*
ГІ+фенотропіл	8,8±3,5	4,4±2,1	1,3±0,5	14,5±5,5
3-я доба після операції				
Інтактні	14,0±1,2	5,1±1,1	3,2±0,8	22,3±2,5
Помилково оперовані	13,7±2,3	3,2±0,8	3,1±0,5	20,0±2,3
ГІ+фіз. р-н	6,2±1,2*	2,7±0,4	1,7±0,5	10,6±1,5*
ГІ+фенотропіл	15,2±5,4	4,5±1,5	1,9±0,7	21,6±6,1**
7-ма доба після операції				
Інтактні	13,6±2,3	5,3±1,4	4,1±1,2	23,0±5,7
Помилково оперовані	13,4±2,1	4,1±2,8	2,9±0,6	20,4±3,5
ГІ+фіз. р-н	7,8±1,9	3,2±1,3	2,4±0,5	13,4±2,9
ГІ+фенотропіл	20,9±4,1**	10,9±3,2	4,6±1,3	36,4±5,6
14-та доба після операції				
Інтактні	12,4±2,5	5,6±1,3	3,5±1,2	21,5±5,9
Помилково оперовані	13,4±2,2	6,2±1,4	3,3±0,6	22,9±3,5
ГІ+фіз. р-н	8,1±2,4*	3,7±1,4	3,2±1,3	15,0±3,7*
ГІ+фенотропіл	12,2±2,8	6,9±1,9	3,0±0,7	22,1±3,5**

* - достовірність відмінностей від помилково оперованих щурів при $p \leq 0,05$ (t-тест Ст'юдента)** - достовірність відмінностей від щурів з інсультом при $p \leq 0,05$ (t-тест Ст'юдента)

Таблиця 7

Вплив фенотропілу на виживаність тварин після ГІ

Група тварин	Кількість		загиблих тварин протягом 14-ти геморагічного інсульту				діб після	
	1-а доба		3-тя	доба	7-ма	доба	14-та	доба
	а.о.	%	а.о.	%	а.о.	%	а.о.	%
Помилково оперовані	0/10	0	0/10	0	0/10	0	1/10	10
ГІ+фіз. р-н	7/30	23*	5/23	22*	5/18	28*	2/13	15*
ГІ+Фенотропіл	0/12	0**	0/12	0**	0/12	0**	0/12	0**

* - достовірність відмінностей від помилково оперованих щурів при $p \leq 0,05$ (χ^2)** - достовірність відмінностей від щурів з інсультом при $p \leq 0,05$ (χ^2)

Таблиця 8. Неврологічні порушення у тварин з ОСМА

Номер групи тварин	1 доба				2 доба				3 доба			
	М'якість, сповільненість рухів	Тремор	Односторонній паретоз	Маневрі рухи	М'якість, сповільненість рухів	Тремор	Односторонній паретоз	Маневрі рухи	М'якість, сповільненість рухів	Тремор	Односторонній паретоз	Маневрі рухи
№3: фіз.р-н. – помилково оперов.	6	3	2	0	1	0	3	0	1	0	1	0
№4: фенотропіл 200мг/кг помилково оперов.	4	2	3	0	0	0	4	0	0	0	0	0
№5: фіз.р-н. + ОСМА	8	5	4	3	5	2	5	1	5	0	3	1
№6: фенотропіл 100мг/кг + ОСМА	2	2	4	0	1	0	5	0	1	0	3	0
№7: фенотропіл 200мг/кг +ОСМА	3	3	4	0	2	0	4	0	0	0	3	0
№8: фенотропіл 300мг/кг + ОСМА	2	2	4	0	1	0	5	0	0	0	3	0
№9: ОСМА+ фенотропіл 100мг/кг	5	3	4	0	3	0	5	0	2	0	3	0
№10: ОСМА+ фенотропіл 200мг/кг	5	3	3	0	3	0	4	0	1	0	3	0
№11: ОСМА+ фенотропіл 300мг/кг	4	3	4	0	2	0	5	0	1	0	3	0

Примітка: цифри відображають кількість тварин по кожній групі, у яких спостерігалися перелічені ознаки.

Таблица 9

Вплив фенотропілу на навчання (УРПУ) у щурів в гострий період ішемічного інсульту (ОСМА) через 24 години після операції і при тестуванні відтворення збереження УРПУ через 24 години після навчання

№	Групи тварин	Латентний час першого заходження в темний відсік камери, сек
1	Контроль: фізіологічний розчин	101,2±19,0
2	Контроль: фенотропіл без ОСМА	105,9±25,7
3	Фіз. р-н, помилково оперовані	69,7±20,7
4	Фенотропіл 200мг/кг, помилково оперовані	95,9±24,9
5	Фіз. р-н +ОСМА	48,5±17,5*
6	Фенотропіл 100мг/кг +ОСМА	93,6±22,3**
7	Фенотропіл 200мг/кг +ОСМА	104,6±18,8**
8	Фенотропіл 300мг/кг +ОСМА	90,6±22,6**
9	ОСМА + фенотропіл 100мг/кг	83,3±26,1**
10	ОСМА + фенотропіл 200мг/кг	84,5±19,6**
11	ОСМА + фенотропіл 300мг/кг	67,6±18,4**

* - достовірність відмінностей по відношенню до групи №1 при $p < 0,05$

** - достовірність відмінностей по відношенню до групи №5 при $p < 0,05$

Таблица 10

Розмір зони ураження головного мозку при ОСМА

Групи тварин	Об'єм іпсилатеральної півкулі, мм ³ (ІП)	Об'єм зони ураження, мм ³ (ЗУ)	Відсоток відношення ЗУ/ІП, %
Група №5	765,6±3,77	88±7,57	11,5±0,98
Група №6	786,6±4,74	58,2±5,71	7,39±0,72*
Група №7	739,77±4,8	49,2±6,13	6,52±0,58*
Група №8	797±4,33	48,1±5,99	6,03±0,75*
Група №9	787,9±5,24	86,5±6,53	11±0,87
Група №10	794,8±4,27	85,9±7,78	10,8±0,97
Група №11	801,2±3,63	76,2±7,59	9,5±0,94

* - $p < 0.01$ порівняно з групою №5 (контрольні тварини з ОСМА без 10 препарату)

Таблица 11

Зміна об'єму іпсилатеральної півкулі при ОСМА

№	Групи тварин	Об'єм іпсилатеральної півкулі (мм ³) на 3-ю добу	Об'єм іпсилатеральної півкулі (мм ³) на 10-у добу
1	ОСМА+ фіз.р-н	770,74±72	693,53±4,12*
2	ОСМА+ фенотропіл 300мг/кг	772,4±4,5	773,17±3,83

* - достовірність відмінностей по відношенню до контролю 3-х діб групи №1 при $p < 0,01$

Література

1. Верещагин Н.В., Варакин Ю.Я. Регистры инсульта в России: результаты и методологические аспекты проблемы // Журн. неврол. и психиатр, им. С.С.Корсакова (приложение «Инсульт»), - М., 2001. - №1. - С.34-40.
2. Внутренние болезни, под ред. Т.Р. Харрисона и др. - М.: Медицина, 1997. - Т.10. - 494с.
3. Воронина Т.А., Островская Р.У. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ // В книге: Руководс-

тво по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. - М., 2000. - С.153-158.

4. Воронина Т.А., Середенин СБ. Методические указания по изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия фармакологических веществ // В книге: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. - М., 2000. - С.126-130.
5. Ганнушкина И.В. Патологические механизмы нарушений мозгового кровообращения и

новые направления в их профилактике и лечении // Ж. невропатол. и психиатр. - М., 1996. - №1. - С.14-18.

6. Ганнушкина И.В. Функциональная ангиоархитектоника головного мозга. - М.: Медицина, 1977. - С.224.

7. Гусев Е.И. Проблема инсульта в России. // Журн. неврол. и психиатр, им. С.С.Корсакова (приложение «Инсульт»). - М., 2003. - №9. - С.3-7.

8. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М: Медицина, 2001.

9. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Стаховская Л.В. Эпидемиология инсульта в России. // Журн. неврол. и психиатр, им. С.С.Корсакова (приложение «Инсульт»). - М., 2003. - №8. - С.4-9.

10. Макаренко А.Н., Косицын Н.С., Карпенко СВ., Мишина В.А. Авторское свидетельство №1767518 от 03.11.1990.

11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. - М., 2000. - С.159-161.

12. Bederson J.B., Pitts L.H., Germano S.M., Nishimura M.C, Davis R.L., Bartkowski H.M. Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a

stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rat//Stroke.-1986. - V.17. - P.1304-1308.

13. Chen S.T., Hsu C.Y., Hogan EX., Maricq H., Balentine J.D. A model of focal ischemic stroke in the rat reproducible extensive cortical infarction //Stroke. - 1989. - V.17, №4. - P.738-743.

14. Jackowski A., Crockard A., Burnstock G., Ross Russell R., Kristek f. The time course of intracranial pathophysiological changes following experimental subarachnoid haemorrhage in the rat // Journal of cerebral blood flow and metabolism. -1990. - V.10. - P.835-849.

15. Roda J.M., Carceller F., Diez-Tejedor E., Avendano C. Reduction of infarct size by intra-arterial nimodipine administered at reperfusion in a rat model of partially reversible brain focal ischemia// Stroke. - 1995. - V.26, №10. - P.1888-1892.

16. Smith S., Hodges H., Sowinski P. Long-Term beneficial effects of BW619C89 on neurological deficit, cognitive deficit and brain damage after middle cerebral artery occlusion intherat//Neuroscience. - 1997.-V.77, №4. - P.1123-1135.