



УКРАЇНА

(19) UA (11) 40154 (13) A

(51) 7 A61B10/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЛІКАРСЬКОГО ПРЕПАРАТУ

(21) 2000074179

(22) 14.07.2000

(24) 16.07.2001

(33) UA

(46) 16.07.2001, Бюл. № 6, 2001 р.

(72) Киричок Людмила Трохимівна, Карнаух Елла Володимирівна

(73) ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ, UA(57) Спосіб визначення властивостей лікарського
препарату, який включає його одноразове введен-

ня в дозі 200 мг/кг під шкіру тварини за 1,5 години до здійснення експериментального емоційного стресу, який відрізняється тим, що кардіопротекторні властивості цього препарату визначають досліджуючи біоелектричну активність міокарду, артеріальний тиск, стан гемодинаміки та метаболізму міокарда тварини до введення препарату та після здійснення емоційного стресу, і якщо наступні показники не змінюються по відношенню до попередніх, то визначають, що препарат має кардіопротекторні властивості.

Винахід відноситься до медицини, а саме до фармакології, і може бути використаним для визначення властивостей лікарських препаратів.

Як відомо, серцево-судинна система є найбільш схильна до дії стресорних факторів, а її параметри служать об'єктивними критеріями течії та прогнозу відповідної реакції організму (Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессовых и ишемических повреждений сердца. - М.: Медицина, 1984. - 269 с.; Киричек П.Т., Ганзий Т.В., Карамышев А.Н. и др. Нейрогуморальные механизмы фармакологической коррекции сердечно-сосудистых нарушений при эмоциональном стрессе. Нейрогуморальная регуляция в патологии: Сборник научных трудов. - Х.: ХГМУ, 1994. - С. 66-69; Федоров Б.М. Стресс и система кровообращения. - М.: Медицина, 1991. - 319 с.).

Відомі спроби використання препаратів різних фармакологічних груп як кардіопротекторів, розраховуючи на блокування певних ланок патогенезу стресорної реакції та попередження або зменшення типових проявлень стресу з боку серця у вигляді розвитку міокардіодістрофії, та артеріальної гіпертензії (Селье Г. Стресс без дистресса: Пер. с англ. А.Н. Лука, С. Хорола. - Рига: Виеда, 1992. - 106 с.; Киричек Л.Т. Экспериментальное обоснование применения нейротропных средств при имобилизации: Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. - Х., 1989. - 37 с.; Кратенко Г.С. Фармакологическая коррекция эмоционального стресса путем влияния на обмен триптофану: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. - К., 1995. - 29 с.).

Так, наприклад, з метою збільшення загального потенціалу адаптації, рівня психофізіологічних можливостей та стійкості організму використову-

ють рослинні адаптогени: женьшень, елеутерокок, заманіху, левзею, родіолу рожеву, лимонник китайський, аралію манчжурську (Киричек Л.Т., Савченко В.Н. Адаптогены. - Х.: ХГМУ, 1981. - 18 с.; Киричек Л.Т., Бахова Л.К., Щенявская Е.Н. Молекулярно-клеточные механизмы адаптивного действия элеутерококка: Биологически-активные вещества и регуляция функций мозга: Сборник научных трудов - Х., 1993. - С. 88-94). Але для досягнення вираженого та стійкого ефекту потрібен достатньо довгий безперервний курс прийому препаратів метаболічної дії.

Використання психотропних препаратів різних фармакологічних груп (рослинні седативної дії - валеріана, пустирник, м'ята та інші снотворні, транквілізатори) виправдано з точки зору обмеження негативного емоційного фону, але, як правило, при цьому не враховується переважний тип нервової діяльності у кожного хворого (логічний, сенсомоторний, моторний та ін.) (Вальдман А.В., Александровский Ю.А. Психотерапия невротических расстройств. - М.: Медицина, 1988. - 150 с.).

Перспективним вважалось комбіноване використання транквілізаторів та стимуляторів ЦНС (сіднокарб) з метою мінімізації відчуття страху та тривоги у поєднанні з активацією у корі головного мозку центра позитивного підкріплення на фоні корекції потенційно можливих психодепримируючих властивостей і протиаритмічних транквілізаторів (Вальдман А.В., Козловская М.М., Медведев О.С. Фармакологическая регуляция эмоционального стресса. - М.: Медицина, 1979. - 225 с.). Але ця схема потребує ретельного підбору індивідуальних дозровок препаратів для кожного конк-

ретного клінічного випадка, що виключає можливість уніфікації.

Розглядалась можливість використання адреноблокаторів (пропранолола) з метою обмеження характерних для стресу симпатичної гіперактивності у відношенні серця як монотерапії, так й у поєднанні з сиднокарбом та феназепамом (Судачков К.В. Системная интеграция функций человека: новые подходы к динамике и коррекции стрессовых состояний // Вестн. РАМН. - 1996. - № 6. - С. 15-25). Але у цьому випадку обмежуючим фактором є наявність серйозних побічних ефектів цих препаратів (Белоусов Ю.Б., Моисеев В.С., Лепашин В.К. Клиническая фармакология и фармакотерапия. Изд. 2-е, доп. и исправл. Руководство для врачей. - М.: Универсум Паблшинг, 1997. - 500 с.).

В умовах стресу досліджувались антистресові властивості нейротропних амінокислот та їх метаболітів (трипторфан, нікотинамід, алопуринол), нейропептидів (тіроліберин, мелатонін), засобів вітамінної дії (піридоксин, такоферол, аскорбінова кислота), але їх кардіозахисна дія виявилася недостатньо вираженою при патології серця стресового генезу.

Зрозуміло, що така кількість фармакологічних засобів, які використовують з метою кардіопротекції, підтверджує думку, що між них немає оптимального, цілком надійного та нешкідливого, ефективного при будь-якому виді стресорного пошкодження міокарду. Пошук препаратів кардіопротекторної дії у теперішній час активно продовжується серед засобів, стимулюючих природні фізіологічні механізми захисту організму в умовах нормалізації процесу саморегуляції, мобілізуючих вегетативні, гормонально-метаболічні та біоенергетичні реакції. Такі препарати вигідно відрізняються широким спектром як центральних, так і периферичних механізмів захисту для виконавчих органів, з числа яких саме серцево-судинна система є найбільш вразлива по відношенню до стресу.

Відомі також способи дослідження загальних властивостей лікарського препарату, які включають серію дослідів на пацюках. Основним способом є спосіб, коли вивчення властивостей лікарського препарату виконують на фоні попереднього введення цього препарату та моделювання відповідного стану організму (Ведяев Ф.П., Воробьева Т.М. Модели и механизмы эмоциональных стрессов. - К.: Здоровья, 1983 - 134 с.).

Типові проявлення стресової реакції реєструють у вигляді напруження систем організму – гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової та роботи серця і гемодинаміки (Киричек Л.Т., Карнаух Э.В. Лекарственная защита миокарда при сердечно-сосудистых заболеваниях стрессового генеза // Междунар. мед. журн. - 1999. - Т. 5. - № 3. - С. 98-103). Стрес веде до розвитку вираженої функціональної патології з боку серця та гемодинаміки за гіперкінетичним типом.

Вищезгаданий спосіб визначення властивостей лікарського препарату є найбільш близьким до того, що пропонується, тому його обрано в якості прототипу.

В основу винаходу покладено задачу підвищення точності визначення кардіопротекторних властивостей лікарського препарату.

Задача, яку покладено в основу винаходу, вирішується тим, що у відомому способі визначення властивостей лікарського препарату, який включає його одноразове введення в дозі 200 мг/кг під шкіру тварини за 1,5 години до дослідження з здійсненням експериментального емоційного стресу (ЕС), згідно з винаходом, визначення кардіопротекторних властивостей цього препарату виконують досліджуючи біоелектричну активність міокарду, ритм серцевої діяльності, артеріальний тиск (АТ), стан гемодинаміки, стан ішемії міокарда тварини до введення препарату (контроль) та здійснення експериментального ЕС і після цього. І якщо наступні показники цих параметрів не змінюються по відношенню до контрольних, то визначають, що препарат має кардіопротекторні властивості.

При цьому, біоелектричну активність міокарду вивчають по електрокардіограмі, стан гемодинаміки вивчають по інтегральній реографії та рівню АТ, а стан метаболізму міокарда - по загальним біохімічним показникам його обміну речовин.

Спосіб визначення кардіопротекторних властивостей лікарського препарату виконують на прикладі ПІРАЦЕТАМУ, який, на наш погляд, відповідає усім вимогам, що викладені вище. Його церебропротекторна та психоенергетична дія забезпечує захист ЦНС та регуляцію центральних рівней діяльності серця (Машковский Д.М. Лекарственные средства: Пособие для врача. В 2-х т. - 13-е изд., новое - Х.: Торсинг, 1997). ЕС моделювали за методикою Ф.П. Ведяева "Конфликт аферентных подразнень" (Ведяев Ф.П., Воробьева Т.М. Модели и механизмы эмоциональных стрессов. - К.: Здоровья, 1983. - 134 с.).

Досліди проводилися на білих статевозрілих безпородних пацюках лінії Вістар з вагою тіла 150-200 г обох статей.

Згідно з сучасними уявленнями про патогенез захворювань серця стресового генезу і кардіозахисної ролі стрес-лімітуючої системи на групах пацюків по 6 осіб були досліджені їх основні ланки у трьох серіях дослідів: контроль (інтактні пацюки), стресовані пацюки (ЕС) та модель стресу на фоні попереднього введення пірацетаму. Отриманий цифровий матеріал оброблений загальноприйнятими методами варіаційної статистики по t Стюдента.

Використані методи дослідження для оцінки функції серцево-судинної системи узагальнені у табл. 1, при цьому зміни серцевої діяльності динамічні, чітко співпадають із змінами стресорної реакції, тому серцево-судинні показники (ЕКГ, рівень АТ, ударний і хвилинний об'єми крові - УОК, ХОК та ін.) дозволяють здійснювати динамічний контроль.

Проведені дослідження показують, що стрес веде до розвитку вираженої функціональної патології з боку серця та гемодинаміки за гіперкінетичним типом. Це проявляється тахіаритміями, артеріальною гіпертензією, збільшенням іно- та хронотропної активності міокарда (підвищуються УОК, ХОК) (табл. 1). Характерним чином змінюються ЕКГ-характеристики: реєструється депресія та інверсія зубця Т, ішемічний зсув сегменту S-T вище ізолінії.

Вказані зсуви перебувають у прямій залежності від порушення обміну моноамінів та супрово-

джуються електролітним дисбалансом з накопиченням іонів Ca^{2+} , Na^{+} та K^{+} у тканинах міокарда (табл. 2). В умовах стресу різко зростає активність протеїнази у крові, активуються реакції вільнорадикального ПОЛ і у крові, і у тканинах міокарду, про що можна судити з наростання рівня МДА, різко порушуються процеси енергозабезпечення кардіоміоцитів (знижуються запаси глікогену та АТФ). Пошкодження серця підтверджуються виходом у кров і підвищенням активності ферментів креатинфосфокінази (КФК) у 5 разів, ЛДГ та її серцевої фракції ЛДГ₁. Біохімічні показники стресогенного пошкодження різних ультраструктур міокарда підтверджуються даними трансмісійної електронної мікроскопії: мітохондрії стають набряклими з просвітленим матріксом, як ознака деструкції, з'являється безліч фаголізосом та шаруватих тілець, міофібрили розволоняються, саркоплазматичний ретикулум має розширені порожнини шорсткої ендоплазматичної мережі, відзначається зниження об'ємної щільності капілярів із спорожненням їх річища та набряклістю цитоплазми ендотеліоцитів.

Пірацетам ефективно попереджує розвиток вищезазначених порушень, виявляючи кардіопротекторну дію у вигляді нормалізації всіх видів метаболізму міокарда (катехоламінового, енергетичного, електролітного, ліпідного), що забезпечує нормалізацію скорочувальної функції міокарда (за ЕКГ-критеріями), відновлення інтра- та екстракардіальної гемодинаміки. Це забезпечує збереження структурної цілісності кардіоміоцитів (мембрано- та цитопротекторну дію), що також підтверджується даними електронної мікроскопії.

Експериментально показано, що в умовах стресу знижується ступінь насичення крові киснем більш ніж на 10% (з 77 - 1,4% до 67 - 0,7%). На

цьому фоні моделювання оборотного коронар-спазму ще більш поглиблює ішемію міокарда, про що свідчить пригнічення скорочувальної функції та виснаження резервів міокарду. В цих умовах пірацетам не лише сприяє підвищенню насичення крові киснем до 79 - 1,5%, а й ефективно підвищує коронарний резерв (на його фоні швидше стабілізується ЧСС, нормалізується амплітуда зубця Т та усувається ішемічний зсув сегменту S-T відносно ізолінії, не розвиваються ознаки електричної нестабільності міокарда).

Також експериментально показано наявність вираженого антиаритмічного ефекту пірацетаму як в умовах стресу, так і при моделюванні кальцієвої аритмії (КА) у стресованих пацієнтів. При цьому лише у 50% тварин розвиваються ознаки порушення ритму і провідності низької градації (порушення процесів реполяризації, ознаки ішемії міокарда, синусова брадиаритмія, затримка АУ проведення (Мурашко В.В., Струтинский А.В. Электрокардиография. - М.: Медицина, 1991. - 288 с.) та відсутні випадки асистолії, тоді як при поєднанні стресу та КА часто виникають АУ блокади, екstrasистоли, шлуночковий ритм, і частота асистолії досягає 67%.

Вказані протиішемічний та антиаритмічний ефекти пірацетаму при експериментальних моделях серцевої недостатності в умовах стресу поєднуються з нормалізацією біохімічних параметрів метаболізму міокарда.

Таким чином, розглянуті захисні ефекти пірацетаму свідчать про стимулюючий вплив цього препарату практично на всі ланки стрес-лімітуючої системи, що і визначає патогенетичну основу його кардіопротекторної дії.

Таблиця 1

Вплив пірацетаму на показники роботи серця і гемодинаміки в умовах стресу

Показники	Контроль	ЕС	Пірацетам+ЕС
ЧСС, уд/хв	316,3±5,6	428,3±21,3*	364,5±21,9**
АТ, мм рт.ст.	99,8±1,2	124,2±1,5*	65,8±1,7***
УОК, мл	0,19±0,01	0,32±0,04*	0,22±0,01**
ХОК, мл/хв	61,9±2,2	134,0±13,8*	80,5±7,3**

Вплив пірацетаму на показники метаболізму міокарда в умовах стресу

Показники	Контроль	ЕС	Пірацетам+ЕС
Співвідношення норадреналін/ адреналін	3,7	2,6*	13,9***
Ca ²⁺ у сироватці, мМоль/л	2,4±0,01	3,0±0,02*	1,7±0,02***
Ca ²⁺ у міокарді, мМоль/л	0,14±0,002	0,19±0,003*	0,13±0,003***
Na ⁺ у міокарді, мМоль/л	0,51±0,007	0,66±0,001*	0,53±0,011**
K ⁺ у міокарді, мМоль/л	1,07±0,021	1,47±0,052*	1,18±0,031***
МДА у міокарді, мкМоль/л	101,4±1,9	149,3±5,7*	103,9±2,9**
Глікоген, мг/л	3,95±0,04	3,13±0,4*	3,86±0,04**
АТФ, мкМоль/л	1,3±0,09	0,8±0,12*	1,8±0,24***
КФК у сироватці, мккатал/л	0,37±0,06	1,88±0,15*	0,72±0,06***
Протеїнази у сироватці, мкг/л год	7,4±0,11	31,0±0,18*	14,2±0,47***
Загальна ЛДГ, мккатал/л	9,1±0,36	13,9±0,81*	8,9±0,43**
ЛДГ ₁ , мккатал/л	0,9±0,03	2,6±0,35*	1,01±0,04**

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2002 р. Формат 60х84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22
