



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 44590

(13) A

(51) 6 A61K31/155

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) ОРТОТИРОН - БЛОКАТОР ВИВІЛЬНЕННЯ НОРАДРЕНАЛІНУ З АДРЕНЕРГІЧНИХ НЕЙРОНІВ

1

2

(21) 2001063839

(22) 06 06 2001

(24) 15 02 2002

(46) 15 02 2002, Бюл. № 2, 2002 р.

(72) Дужак Володимир Григорович

(73) Дужак Володимир Григорович

(57) Застосування ортотирону як блокатора адренергічних нейронів шляхом припинення індуктивного вивільнення медіатора норадреналіну із нервових терміналів і денервації гладеньких м'язів стінки регіонарних та магістральних судин

Винахід відноситься до медицини, а саме, до лікарських засобів, і може бути використаний у лікуванні кардіологічних та офтальмологічних хворих.

Медицині відомі блокатори вивільнення норадреналіну із адренергічних нейронів бретилій, бетанідин, дебрізохін, гуаноксан та інші. Але бретилій /орнід/ зараз знаходить застосування лише при аритмії серцевої діяльності. Бетанідин має суттєві вади: він короткочасно діє, характеризується малою широтою терапевтичної дії, швидко викликає до себе звикання та інше. Дебрізохін, гуаноксан і інші викликають низку небажаних побічних ефектів, тому вони не знайшли клінічного застосування [1, 2].

Основним засобом лікування хворих на гіпертонічну хворобу, гіпертонічних кризів та в інших випадках патологічного підвищення артеріального тиску є гуанетидін. Проте, лікування гуанетидином постійно супроводжується небажаними побічними ефектами: біль у животі, діарея, добові коливання артеріального тиску, загрози ортостатичні побитонія чи колапси та інше. Лікування гуанетидином рекомендується переважно в стаціонарі і має низку протипоказань [1, 3].

У завдання винаходу входило розробити новий блокатор вивільнення норадреналіну із адренергічних нейронів з вищою активністю, з меншою токсичністю, позбавлений небажаних побічних ефектів та протипоказань до застосування і здатний замінити закордонні коштовні бретилій, бетанідин, гуанетидін, едніл /еналапріл/, атенолол, тощо.

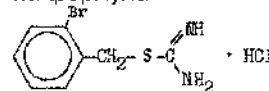
Ортотирон характеризується швидкою і тривалою блокадою процесу вивільнення медіатора нервової передачі - норадреналіну з депо катехоламінів, що веде, до десимпатизації гладеньких

м'язів кровоносних судин, їх розслабленню і стійкому розширенню судин.

Застосування ортотирону у медичній практиці підвищить ефективність лікування, скоротить перебування хворих у клініці та позбавить їх від тяжких небажаних ефектів прототипу.

Поставлене завдання вирішується шляхом застосування ОРТОТИРОНУ у медичній практиці як блокатора адренергічних нейронів у хворих кардіологічної та офтальмологічної клініки.

ОРТОТИРОН - оригінальна хімічна сполука /о-бромбензилотиурионію гідрохлорид/, вперше синтезована в Київському НДІ інституті фармакології та токсикології МОЗ України і нами описана як речовина з радіопротекторною дією / 4 / її структурна формула



Факт блокади адренергічних нейронів ортотироном доводиться тим, що після введення препарату котам чи білим щурам у них зникає скоротлива реакція гладеньких м'язів артеріальної системи та інших органів у відповідь на електричне подразнення нерва, а також на індукцію фенілетиламіну, але зберігається скоротлива реакція цих м'язів на дію норадреналіну.

Приклад 1. Досліди проводили на сім'яному канатику / ductus deferens / білих щурів. Ізольований канатик кріпили на кронштейні у камері з розчином Кребса /50мл/ між двома кільчатими електродами при температурі 32°C. Аерацію розчину здійснювали повітрям за допомогою компресора МК - 1 протягом всього дослідження. Розчин Кребса оновлювали з швидкістю 6 - 10мл за хвилину. Вивільнення норадреналіну із адренергічних нейро-

(13) A
(11) 44590
(19) UA

нів індуктували трансмуральним подразненням протока електричними прямокутними імпульсами тривалістю 0,1 мсек, частотою 60 - 80 Гц при напрузі 20 - 50 вольт серіями протягом 5 сек через кожні 2,5 хвилини. Амплітуду скорочення протока реєстрували в мм на закопченій стрічці кімографа. Розчин ортотирону і норадреналіну готували безпосередньо перед дослідом та застосовували із розрахунку $1 \cdot 10^{-5}$ г/мл. Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з урахуванням критерію t - Стюдента (таблиця 1).

Таблиця 1

Для ортотирону на амплітуду скорочення сим'явивідного протока, викликаного трансмуральним електричним подразненням і норадреналіном

Етапи досліду	Амплітуда скорочення до дії препарата, мм	Амплітуда скорочення при дії препарата, мм	Ефект, %	t
Ортотирон	$39,2 \pm 1,5 / 6 /$	$0,5 \pm 0,22$	98,7	25,2
Ортотирон + н/адrenalін	$32,6 \pm 1,1 / 6 /$	$35,1 \pm 0,84$	7,3	1,75
Бетанідин	$40,7 \pm 1,5 / 6 /$	$3,2 \pm 0,48$	92,1	24,6

Примітка у дужках - кількість дослідів

Цифровий матеріал таб. 1 свідчить про те, що ортотирон є блокаторм нервової передачі на рівні адренергічних нейронів. Він зменшує амплітуду скорочення сим'явивідного протока на 98,7% при трансмуральному електричному вивільненні норадреналіна і не впливає на амплітуду скорочення органа при дії екзогенного медіатора, у аналогічній постановці дослідів бетанідин зменшує амплітуду скорочення протока на 92,1%.

Приклад 2. Ортотирон блокує вивільнення медіатора норадреналіна, індукованого безпосереднім подразненням симпатичного нерва.

У п'яти котів в умовах гострого дослідів (наркоз - уретан 0,5 г/кг + хлоралоза 0,05 г/кг внутрішньом'язово) шляхом електричного подразнення післягангліонарного ствола шийного симпатичного ганглія викликали скорочення третього віка ока і реєстрували на кімографі висоту амплітуди у мм. Використовували прямокутні імпульси тривалістю 5 мсек при супрамаксимальній амплітуді і частоті 10 Гц. Після цього котам вводили внутрішньовенне ортотирон у дозі 7 мг/кг і протягом 3 годин через кожні 20 - 30 хв повторювали електричне подразнення (параметри ті ж самі) та реєстрацію висоти амплітуди скорочення 3-го віка. Контроль скоротливої властивості гладеньких м'язів третього віка здійснювали тест - дозою

(10 мг/кг) норадреналіна. Результати дії ортотирону на скорочення третього віка ока котів, викликане електростимуляцією післягангліонарного ствола шийного симпатичного ганглія, наводимо у таблиці 2.

Таблиця 2

Вплив ортотирону на скоротливу властивість третього віка ока котів, викликану нервовим збудженням та норадреналіном

Етапи експерименту	Амплітуда скорочення 3-го віка ока, мм		Ефект, %
	Початкова	При дії ортотирону	
Електро-стимуляція нерва	$51,8 \pm 3,4$	$13,4 \pm 2,2 / 5 /$	74,2
Введення норадреналіну	$26,8 \pm 1,9$	$31,0 \pm 1,6 / 5 /$	115,7

Примітка у дужках - кількість дослідів

Цифровий матеріал таблиці 2 свідчить про те, що ортотирон зменшує амплітуду скорочення 3-го віка котів у середньому на 74,2%, тобто гальмує нервову передачу. Цей факт відбиває ступінь блокади ортотироном вивільнення медіатора (норадреналіна) із адренергічних нейронів на α - рецептори гладеньких м'язів віка, бо реакція гладеньких м'язів третього віка на введення екзогенного норадреналіна зберігається.

Приклад 3. Ортотирон блокує індуктивне вивільнення норадреналіна в адренергічних нейронах кровоносних судин. Для цього у котів під комбінованим наркозом (уретан 0,5 г/кг + хлоралоза 0,05 г/кг) прямокутними електричними імпульсами супрамаксимальної амплітуди і тривалістю кожного 5 мсек при частоті 1 Гц та 2 Гц протягом 6 сек подразнювали післягангліонарний ствол крайнього ганглія черевного симпатичного ланцюжка крижів, чим спричиняли індуктивне вивільнення норадреналіна у адренергічних нейронах, розташованих в гладеньких м'язах кровоносних судин задньої кінцівки. У відповідь на вихід норадреналіна в судинах виникає констрикторна реакція і підвищення опору кровотоку, які реєструються методом резистографії у вигляді пресорної реакції перфузійного тиску. Контроль функціонального стану α - адренорецепторів і гладеньких м'язів здійснювали тест - дозою введенням екзогенного норадреналіну (10 мг/кг). Після цього котам вводили внутрішньовенне ортотирон у дозі 7 мг/кг і повторювали подразнення нерва у тих же параметрах та реєстрацію пресорної реакції перфузійного тиску. Результати дослідів, опрацьовані методом варіаційної статистики, приводимо у таблиці 3.

Таблиця 3

Дія ортотирону на пресорну реакцію перфузійного тиску, викликану електричним подразненням симпатичного нерва та норадреналіном

Етапи дослідження	Препарат	Пресорна реакція тиску, мм рт ст		Ефект, %
		До дії препарату	При дії препарату	
Стимуляція 1Гц	Ортотирон	$9,0 \pm 1,6$	$0,33 \pm 0,3$ /6/	96,3
Стимуляція 2Гц	Ортотирон	$20,0 \pm 1,7$	$0,5 \pm 0,34$ /6/	98,0
Норадреналін	Ортотирон	$36,8 \pm 1,2$	$39,8 \pm 2,7$ /6/	108,1

Примітка у дужках - кількість дослідів

Цифровий матеріал таб. 3 свідчить про те, що електростимуляція післягангліонарного ствола симпатичного ланцюжка крижів ко- та супроводжується констрикторною реакцією регіонарних судин стегна і що висота цієї реакції залежить від інтенсивності подразнення нерва (1Гц і 2Гц), тобто від кількості вивільненого медіатора. З фармакологічного погляду, дані таб. 3 вказують на те, що ортотирон блокує вивільнення норадреналіна із нейронів і не впливає на функціональний стан гладеньких м'язів судин.

Приклад 4. Ортотирон блокує вивільнення

норадреналіна, індуковане (5) хімічними індукторами (фенілетиламінами).

Групи тварин із 5 щурів реєстрували рівень артеріального тиску в "нормі" і потім внутрішньовенно вводили ефедрин у дозі 5мг/кг і реєстрували пресорний ефект ефедрину у інтактних щурів. Після цих процедур щурам вводили ортотирон у дозі 3,5мг/кг. Динаміку артеріального тиску реєстрували протягом 3-х годин і після цього вводили тест-дозу ефедрину (5мг/кг) на фоні дії ортотирону і знову реєстрували пресорну реакцію. Цифровий матеріал, опрацьований методом варіаційної статистики, наводимо у таблиці 4.

Таблиця 4

Дія ортотирону на пресорний ефект ефедрину і норадреналіна

Індуктор	Блокатор	Пресорний ефект, мм рт ст		Ефект, %
		До дії блокатора	При дії блокатора	
Ефедрин	Ортотирон	$43,0 \pm 4,1$	$10,6 \pm 1,6$ /5/	75,3
Н-адрен	Ортотирон	$38,9 \pm 4,5$	$44,0 \pm 3,1$ /9/	113,1
Ефедрин	Гуанетидин ^х	$44,6 \pm 4,8$	$14,0 \pm 5,8$ /6/	68,6
Н-адрен*	Гуанетидин	$41,5 \pm 4,6$	$47,6 \pm 5,1$ /6/	115,0
Ефедрин	Бетанідин ^х	$40,0 \pm 3,6$	$15,3 \pm 3,4$ /6/	62,0
Н-адрен	Бетанідин	$52,5 \pm 7,2$	$42,1 \pm 4,2$ /6/	19,2

Примітки - у дужках кількість дослідів,

Х - Гуанетидин і бетанідин приведені як прототиби, блокаторів.

Дані таблиці 4 свідчать про те, що ортотирон блокує вивільнення норадреналіна із нервових закінчень, викликане хімічним подразником, і не впливає на пряму дію медіатора норадреналіна. При цьому він не поступається своєю активністю прототипам гуанетидину і бетанідину.

Приклад 5. Ортотирон блокує вивільнення медіатора норадреналіна, індуковане спонтанними (фізіологічними) потенціалами дії. У стані спокою (6) тонус стінки кровоносних судин складається із базального і нейрогенного компонентів. Нейрогенний компонент тонусу регіонарних судин змінюється в залежності від потреб організму і регулюється виключно норадренергічними волокнами шляхом зміни

інтенсивності електричного розряду в ЦНС та вивільненням медіатора із нейронів (6, 7).

На собаках методом одночасної і незалежної резистографії судин мозку та задньої кінцівки вивчали дію ортотирону на вивільнення норадреналіна, індукованого постійними спонтанними нервовими розрядами в ЦНС. Перфузію судин здійснювали власною кров'ю тварин масою 9,6 - 14,5кг. Наркоз - уретан 0,5г/кг + хлоралоза 0,05г/кг. Розчини симпатолітиків готували перед дослідом і вводили у перфузивну кров у дозі 0,025ммол/кг. Динаміку рівня системного артеріального тиску реєстрували в сонній артерії. Отримані в досліді результати обробляли за методом варіаційної статистики і оцінювали з урахуванням критерію t - Стюдента (таблиця 5).

Таблиця 5

Для ортотирону на перфузійний тиск у судинах в стані спокою

Дослідний блокатор	Перфузійний тиск, мм рт.ст.		Ефект	
	Початковий	При дії блокатора	Мм рт.ст.	%
Резистивні судини кінцівки				
Ортотирон	121,5 ± 6,1	73,72 ± 3,5 /6/	47,8 ± 3,7	39,4 ^x
Гуанетидин	134,0 ± 2,8	89,2 ± 10,1 /6/	44,8 ± 7,6	33,7
Резистивні судини мозку				
Ортотирон	125,0 ±	96,4 ± 4,2 /5/	28,8 ± 4,5	22,6 ^x
Гуанетидин	119,0 ± 6,1	93,0 ± 7,9 /6/	25,3 ± 3,2	21,7

Примітки у дужках - кількість дослідів,

X - різниця може розглядатися як тенденція

Цифровий матеріал таблиці 5 показує, що ортотирон в умовно терапевтичній дозі блокує вивільнення норадреналіну із нервових закінчень, яке здійснюється спонтанними потенціалами дії в стані спокою стінки судин. Так, перфузійний тиск в судинах поперечно - смугастих м'язів задньої кінцівки знижується у середньому на $47,8 \pm 3,7$ мм рт.ст., або 39,4% до "норми", а в судинах головного мозку - на $28,8 \pm 4,5$ мм рт.ст., або 22,6%. В аналогічних умовах дослідів гуанетидин знижував перфузійний тиск в судинах кінцівки і мозку у середньому на $44,8 \pm 7,6$ мм рт.ст. (22,6%) і $25,3 \pm 3,2$ мм рт.ст. (21,7%) відповідно.

Приклад 6. Ортотирон характеризується меншою токсичністю. Гостру токсичність ортотирону визначали у порівнянні з прототипами на білих мишах при внутрішньочеревному введенні. Визначали ДЛ₁₆, ДЛ₅₀, ДЛ₈₄ та стандартну помилку ДЛ₅₀ в мг/кг і перераховували середню летальну дозу у ммол/кг, за методом Літчфілда і Уїлкоксона. Опрацьований матеріал приводимо у таблиці 6.

Таблиця 6
ДЛ₅₀ ортотирону та прототипів для білих мишей

Назва блокатора	Вид тварин та шлях введення	ДЛ ₅₀	
		мг/кг	ммол/кг
Ортотирон	Миші, в/черевно	111,0 ± 7,5	0,395
Гуанетидин	Миші, в/черевно	112,0 ± 7,8	0,450
Бетанідин	Миші, в/черевно	77,0 ± 5,6	0,290
Бретилій	Миші, в/черевно	36,0 ± 2,5	0,110

Аналіз цифрового матеріалу таблиці 6 показує, що ортотирон треба вводити значно більшу дозу для досягнення 50% загибелі лабораторних тварин. Це є свідченням того, що бетанідин і бретилій токсичніші. Для

досягнення 50% ефекту гуанетидину необхідно більше. Це можна пояснити недостатнім всмоктуванням препарату із черевної порожнини.

Таким чином, науково обґрунтовано, що ОРТОТИРОН блокує нервову передачу на рівні адренергічних нейронів. Він припиняє індуктивне вивільнення медіатора норадреналіну і супроводжуючі його скоротливі реакції гладеньких м'язів. Цей високоспецифічний фармакологічний процес спостерігається при дії різних за своєю природою та характером індукторів при трансмуральній індукції вивільнення норадреналіну електричним полем у дослідях на ductus deferens (приклад 1), при індукції вивільнення норадреналіну безпосереднім подразненням симпатичного нерва (приклади 2 і 3), при вивільненні медіатора хімічним подразником (5) ефедрин (приклад 4) та при індукції фізіологічними нервовими розрядами дії, які надходять до виконавчих органів із ЦНС (приклад 5). Заслужує на увагу той факт, що в усіх дослідях реакція скорочення гладеньких м'язів на дію тест-дозы норадреналіну зберігалась, а у деяких - спостерігалась тенденція до зростання (таблиці 1, 2, 3, 4). Ортотирон характеризується меншою токсичністю, більшою активністю і позитивно впливає на кровообіг життєво важливих органів (головний мозок, нирки).

Джерела інформації

1 М. Д. Машковский. Лекарственные средства Т.1 - 13, новое издание - Харьков "Торгсинг", 1997 - 560 с.

2 Освобождение катехоламинов из адренергических нейронов / Под ред. Д. М. Патона - М. Медицина, 1982 - 351 с.

3 Эрина Е. В. Актуальные проблемы патогенеза, лечения и профилактики гипертонических кризов / Кардиология - 1988 - № 8 - С. 101 - 111.

4 А. с. №1768168 СССР, МКИ² C07157/14. Галогидраты аралкилизотиурония, проявляющие радиозащитное действие / В. Г. Дужак, В. И. Милько, В. Д. Бойко, Р. П. Матюшко.

5 Освобождение катехоламинов из адренергических нейронов / Под ред. Д. М. Патона - М. Медицина, 1982 - С. 177 - 207.

6 Б. Фолков, Э. Нил. Кровообращение - М. Медицина, 1976 - 464 с.

7 П. Джонсон. Периферическое кровообращение / Под ред. Г. И. Косицкого / - М. Медицина, 1982 - 439 с.