



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 41727

(13) A

(51) 7 A61K31/155

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

(54) БЕТАТИРОН - ІНГІБІТОР ВИВІЛЬНЕННЯ МЕДІАТОРУ НОРАДРЕНАЛІНУ З АДРЕНЕРГІЧНИХ НЕРВОВИХ ТЕРМІНАЛЕЙ

1

(21) 2001021248  
(22) 21.02 2001  
(24) 17.09 2001  
(46) 17.09 2001, Бюл. № 8, 2001 р.  
(72) Дужак Володимир Григорович

2

(73) Дужак Володимир Григорович  
(57) Застосування бетатирону як інгібітора вивільнення медіатора норадреналіну з адренергічних нервових терміналей

Бетатирон - інгібітор вивільнення медіатора норадреналіна з адренергічних нервових терміналей.

Винахід відноситься до медицини, а саме, до лікарських засобів, і може бути використаний у лікуванні кардіологічних та офтальмологічних хворих. Практичній медицині відомі інгібітори (блокатори) вивільнення норадреналіна із терміналей адренергічних нервів: бретилій, бетанідин, дебрізохін, гуаноксан, лерон і інші. Але бретилій телер застосовується лише при серцевій аритмії [1]. Бетанідин характеризується короточасною дією, малою широтою терапевтичної дії і швидко викликає до себе звикання. Інші мають низку не бажаних побічних ефектів і тому не знайшли практичного застосування [1,2]. Лікування симпатолітиком октадіном супроводжується рядом небажаних побічних ефектів: ортостатичний колапс чи гіпотонія, біль у животі, діарея, затримка рідини в організмі, добові коливання тиску. Побічні ефекти і необхідність лікування октадіном в умовах стаціонару значно знижують терапевтичну цінність цього найбільш ефективного антигіпертензивного засобу [1].

У завдання винаходу увійшло: розробити оригінальний інгібітор вивільнення норадреналіна, який би мав меншу токсичність, позбавлений небажаних побічних ефектів, притаманних попередникам, та протипоказань до застосування і здатний замінити їх.

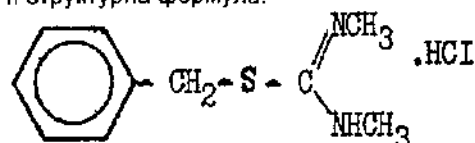
Запропонована оригінальна хімічна речовина характеризується швидкою і тривалою інгібіцією процесу вивільнення медіатора симпатичної нервової системи - норадреналіна із депо катехоламінів, адренергічної денервації гладеньких м'язів органів і систем організму. На відміну від октадіну, бетатирон не спустошує депо катехоламінів і тим не створює умов для різких коливань артеріально-

го тиску протягом доби, менше токсичний, добре розчинний у воді, краще всмоктується із травного каналу і позбавлений основних небажаних побічних ефектів.

Впровадження бетатирону в медичну практику підвищить ефективність лікування, скоротить перебування хворих на ліжку та позбавить їх від тяжких побічних ефектів.

Завдання вирішується шляхом застосування бетатирону хворим кардіологічної та офтальмологічної клінік.

БЕТАТИРОН - оригінальна хімічна сполука N,N'-диметилбензилізотіосечовини гідрохлорид вперше синтезована у Київському науково-дослідному інституті фармакології та токсикології МОЗ України і описана як вазоактивна речовина [3]. Її структурна формула:



Симпатолітиками називають хімічні речовини, основна фармакологічна, специфічна властивість яких полягає у гальмуванні (припиненні) вивільнення норадреналіна при концентраціях, що не впливають на вивільнення інших нейромедіаторів. Вони припиняють вивільнення норадреналіну у відповідь не тільки на спонтанні чи індуктовані нервові потенціали дії, які надходять до термінальної частини адренергічних нейронів, але і на різні хімічні стимулятори (фенілалкіламіни і інші). В наших дослідках індукторами вивільнення норадреналіну із нейронів служили: електричні імпульси, ефедрин, октадін. Факти інгібіції вивільнення норадреналіна із депо адренергічних нейронів дово-

(13) A

(11) 41727

(19) UA

димо наступними прикладами

Приклад 1 У білих щурів вилучали сім'явидний протік (vas deferens) і розміщали його у камері з розчином Кребса (50мл/ між двома кільчатими електродами при температурі 32°C, Аерацію розчину здійснювали повітрям від компресора МК-1 і оновлювали розчин з швидкістю 6 - 10мл за хвилину протягом усього дослідження Трансмуральне подразнення сім'явидного протока прямокутними електричними імпульсами тривалістю 0,1мсек, частотою 60 - 80імп/сек при напрузі 10 - 80 вольт здійснювали протягом 5сек періодичністю - 2,5 хвилини Амплітуду скорочення протока реєстрували в мм на папері Розчин бетатирону і норадреналіну готували перед дослідом і діяли у концентрації  $1 \cdot 10^{-5}$  г/мл Результати обробляли за методом варіаційної статистики з урахуванням критерія t - Стьюдента (таблиця 1)

Таблиця 1

Дія бетатирону на скорочення сім'явидного протока, викликаного трансмуральним електроподразненням і норадреналіном

Етапи досліджень	Амплітуда скорочення, мм	Ефект, %	t
до дії препарату	до дії препарату	до дії препарату	до дії препарату
Бетатирон	$39,2 \pm 0,96$ / 6/	$0,67 \pm 0,33$	98,3
Бетатирон + н/адреналін	$34,5 \pm 1,2$ / 6/	$32,7 \pm 1,2$	0,52
Бетанідин	$40,7 \pm 1,5$ / 6/	$3,2 \pm 0,48$	92,1
Гуанетидин	$40,0 \pm 1,7$ / 6/	$6,8 \pm 0,6$	83,1

Примітка у дужках - кількість досліджень

Дані таблиці 1 свідчать про те що бетатирон є найактивнішим інгібітором вивільнення норадреналіна Він зменшує амплітуду скорочення протока на 98,3%, тобто практично припиняє вивільнення норадреналіна із нейронів при трансмуральному електричному стимулюванні, і не впливає на скоротливу властивість протока при дії екзогенного норадреналіна Бетанідин і гуанетидин зменшують амплітуду скорочення протока відповідно на 92,1 та 83,1%

Приклад 2 Скорочення гладеньких м'язів інших органів можна викликати індуктивним вивільненням норадреналіна шляхом електричного подразнення відповідного симпатичного нерва Так, у котів електростимуляцією післягангліонарного стовла крайнього вузла крижів черевного симпатичного ланцюжка викликали індуктивне вивільнення норадреналіна із закінчень нейронів, розташованих у гладеньких м'язах судин задньої ноги У відповідь на вивільнення норадреналіну м'язи скорочуються і стінка артерії набуває підвищеного тонуусу збільшує опір кровотоку, що фіксується резистограмою як збільшення перфузійного тиску Індукцію здійснювали прямокутними імпульсами тривалістю 5мсек, частотою 1Гц і 2Гц при супра-максимальній амплітуді Контроль скоротливості м'язів - норадреналін 10мкг/кг Після реєстрації висхідних параметрів котам (масою 3 - 4кг, наркоз - уретан 0,5г/кг + хлоралоза 0,05г/кг по 6 тварин на кожний інгібітор) вводили бетатирон чи гуанетидин

у дозі 0,025ммол/кг Через 2 години повторювали подразнення і резистографію Результати приводимо у таблиці 2.

Таблиця 2  
Вплив інгібіторів на пресорну реакцію перфузійного тиску викликану подразненням нерва і введенням норадреналіну

Етапи досліджень	Препарат	Пресорна реакція, мм рт.ст.	Ефект, %
до дії препарату	до дії препарату	до дії препарату	до дії препарату
Індукція 1 Гц Бетатирон	$11 \pm 2,1$	0,0	100
Індукція 2 Гц Бетатирон	$22 \pm 2,5$	0,0	100
Н/адреналін Бетатирон	$38 \pm 3,5$	$37,0 \pm 4,7$	0,0
Індукція 1 Гц Гуанетидин	$10 \pm 2,3$	0,0	100
Індукція 2 Гц Гуанетидин	$25 \pm 3,5$	0,0	100
Н/адреналін Гуанетидин	$37 \pm 4,1$	$43,0 \pm 4,9$	0,0

Цифровий матеріал таблиці 2 свідчить про те, що висота пресорної реакції перфузійного тиску знаходиться в залежності від інтенсивності подразника (індуктора 1 Гц чи 2 Гц) тобто від кількості вивільненого норадреналіна З практичного боку, вони показують, що бетатирон і гуанетидин припиняють вивільнення норадреналіна із нейронів і не впливають на пресорний ефект екзогенного (введеного) адреноміметика норадреналіна

Приклад 3 Бетатирон є інгібітором вивільнення медіатора норадреналіна, індуктованого хімічним стимулятором ефедрин

Групи із 6 щурів реєстрували рівень артеріального тиску, а потім вводили ефедрин в/венно у дозі 5мг/кг і реєстрували пресорний ефект на дію ефедрину Після нормалізації системного артеріального тиску (САТ) тварини вводили внутрішньочеревинно бетатирон чи інший інгібітор у дозі 0,025ммол/кг Спостерігали динаміку САТ протягом 2-х годин і після цього знову в/венно вводили ефедрин у дозі 5мг/кг та реєстрували висоту пресорної реакції САТ Цифровий матеріал опрацьований статистичне, приводимо у таблиці 3

Таблиця 3

Дія інгібіторів на рівень пресорної реакції САТ у відповідь на введення ефедрину та норадреналіну

Етапи дослідів	Інгібітор	Пресорна реакція САТ, мм рт.ст.	Інгібіція, %
до дії препарату	до дії препарату	до дії препарату	до дії препарату
Ефедрин Бетатирон	$48,8 \pm 3,5$ / 6 /	$15,6 \pm 2,8$	68,0
Ефедрин Гуанетидин	$44,6 \pm 4,8$ / 6 /	$14,0 \pm 5,8$	68,6
Н/адрен. Бетатирон	$40,1 \pm 3,9$ / 6 /	$45,9 \pm 4,5$	0,0
Н/адрен. Гуанетидин	$41,5 \pm 4,6$ / 6 /	$47,6 \pm 5,1$	0,0
Ефедрин Бетанідин	$40,0 \pm 3,6$ / 6 /	$15,3 \pm 3,4$	62,0
Н/адрен. Бетанідин	$62,5 \pm 7,1$ / 6 /	$42,1 \pm 4,2$	0,0

Примітки у дужках - кількість дослідів, Н/адрен - норадреналін

Дані таблиці 3 показують, що досліджені препарати однаково суттєво гальмують вивільнення норадреналіну із адренергічних терміналей і не впливають на дію екзогенного норадреналіну

Приклад 4 Бетатирон припиняє вивільнення норадреналіна із депо катехоламінів, індукване

фенаміном (амфетаміном) в щурам реєструють САТ і внутрішньовенно вводять їм фенамін у дозі 15 мг/кг з метою вивільнення із нейронів норадреналіна. При цьому САТ відповідає пресорною реакцією на дію вивільненого норадреналіна, величину якої реєструють на кімограмі. Після нормалізації рівня САТ щурам вводять внутрішньочеревинно бетатирон у дозі 0,025 ммол/кг і продовжують спостерігати за динамікою тиску протягом 2 годин. Після цього повторюють введення фенаміну (умови досліду попередні) і порівнюють висоту пресорної реакції, яка розвинулась на фоні дії бетатирону, з попередньою, до введення бетатирону. В кінці дослідження проводять контроль на дію тест - дози норадреналіна - 10 мг/кг. Отриманий у дослідках цифровий матеріал обробляли за методом варіаційної статистики з урахуванням критерія t - Стьюдента (таблиця 4).

Таблиця 4  
Вплив бетатирону на ефект непрямого (фенамін) і прямого (норадреналін) адреноміметиків

Етапи дослідження	Препарат	Пресорна реакція САТ, мм рт.ст.	Інгібіція, %
Фенамін	Бетатирон	42,8 ± 6,1 / 6	-3,0 ± 1,5
Н/адреналін	Бетатирон	45,0 ± 2,4 / 6	40,0 ± 3,8

Примітка у дужках - кількість тварин

Цифровий матеріал таблиці 4 показує, що введення щурам фенаміну супроводжується вивільненням норадреналіна, який викликає пресорну реакцію САТ у середньому на 42,8 мм рт.ст., а на фоні введення бетатирону пресорна реакція САТ на дію фенаміну відсутня (вона має перевернутий вигляд). При цьому пресорна реакція САТ на дію тест - дози норадреналіну зберігається.

Приклад 5. Бетатирон гальмує вивільнення норадреналіна із терміналей нейронів при індукції його тираміном.

На шістьох білих щурах проводять дослідження за методикою описаною у прикладах 3 і 4. Індуктором вивільнення медіатора норадреналіна із терміналей адренергічних нейронів у цій серії дослідів використали тирамін у дозі 5 мг/кг. Результати досліджень, оброблені за методом варіаційної статистики з урахуванням критерія t-Стьюдента, приводимо у таблиці 5.

Таблиця 5  
Вплив бетатирону на пресорні ефекти непрямого (тирамін) і прямого (норадреналін) адреноміметиків

Етапи дослідження	Препарат	Пресорна реакція САТ, мм рт.ст.	Інгібіція, %
Тирамін	Бетатирон	71,2 ± 2,7 / 6	29,5 ± 5,1 / 6
Н/адреналін	Бетатирон	40,0 ± 3,8 / 6	39,1 ± 4,1 / 6

Примітка у дужках - кількість дослідів.  
Аналіз цифрового матеріалу таблиці 5 пока-

зує, що бетатирон гальмує вивільнення норадреналіна із адренергічних нейронів, викликане індуктором тираміном, у середньому на 58,8%. Такий результат інгібіції вивільнення медіатора із адренергічних нейронів можна пояснити особливостями фармакодинаміки тираміну [2].

Приклад 6. Бетатирон припиняє спустошуючу дію гуанетидину на депо катехоламінів (норадреналіна) в адренергічних нейронах.

Для досліджень готують 5 груп білих щурів Вістар по 7 тварин у групі. 1 група - контрольна на визначення вмісту норадреналіну у міокарді інтактних щурів, 2 - контроль на вміст норадреналіну в міокарді щурів, які отримали лише гуанетидин у дозі 10 мг/кг внутрішньочеревинно, при експозиції 5 годин, 3 група щурів отримала бетатирон (0,05 ммол/кг під шкіру), через 3 години - гуанетидин (10 мг/кг внутрішньочеревинно) і експозиція 5 годин, 4 група отримала бетатирон і з інтервалом 12 годин отримала гуанетидин (шляхи введення, дози і експозиція ті ж), 5 група отримала бетатирон і з інтервалом 19 годин - гуанетидин (шляхи введення, дози і експозиція ті ж).

Цифровий матеріал обробляли за методом варіаційної статистики з урахуванням критерія t-Стьюдента (таблиця 6).

Аналіз цифрового матеріалу таблиці 6 підтверджує дані [1, 2] про спустошуючу дію гуанетидину на депо катехоламінів - вміст норадреналіну в міокарді щурів, які отримували гуанетидин зменшився до 0,30 ± 0,035 мг/г і становив 23,4% від "норми". Встановлено також, що бетатирон усуває цю спустошуючу дію гуанетидину. Гуанетидин, введений щурам на фоні дії бетатирону протягом 3-х - 12 годин, не впливав на вміст норадреналіну в міокарді. Якщо гуанетидин вводили через 19 годин після введення інгібітора, то спустошуюча здатність гуанетидину зберігається. Тобто бетатирон діє як інгібітор вивільнення норадреналіна на проміжку 17 - 19 годин (таблиця 6).

Таблиця 6  
Вплив бетатирону на вивільнення норадреналіну гуанетидином

Етапи експерименту	Вміст норадреналіну в міокарді щурів, мг/г сухої речовини	Р
Інтактні щури/контроль/	1,23 ± 0,088	100
Щурам ввели гуанетидин	0,30 ± 0,035	23,4 < 0,05
Щурам ввели бетатирон і через 3 години гуанетидин	1,36 ± 0,12	106 > 0,05
Щурам ввели бетатирон і через 12 годин гуанетидин	1,09 ± 0,068	85,2 > 0,05
Щурам ввели бетатирон і через 19 годин гуанетидин	0,29 ± 0,032	22,6 < 0,05

Примітка: всі дані порівнювали з контролем, міокард досліджували через 5 годин після введення гуанетидину.

Приклад 7. Бетатирон припиняє вивільнення норадреналіна, викликане фізіологічними (спонтанними) потенціалами дії. Як відомо [4], тонус кровоносних судин складається із базального і

нейрогенного компонентів. Величина останнього залежить від інтенсивності нервових розрядів, тобто - кількості вивільненого норадреналіна на  $\alpha$ -адренорецептори, закладені в стінці кровоносних судин [4].

На 6 котах (наркоз уретан 0,5г/кг + хлоралоза 0,05г/кг) з одночасною і незалежною резістографією судин нирки і задньої кінцівки вивчали дію бетатирону на вивільнення норадреналіна, викликаного спонтанними неравовими розрядами у нервовій системі. Перфузію здійснювали власною кров'ю котів масою 3,5 - 4,5 кг. Динаміку САТ контролювали в сонній артерії. Експериментальний матеріал, опрацьований за методом варіаційної статистики з урахуванням критерія t - Стюдента, приводимо у таблиці 7.

Таблиця 7  
Вплив бетатирону на опір судин у стані спокою

Препарат, доза	Зменшення опору регіонарних судин, %			
	Судини стегна:	P	Судини нирки:	P
Бетатирон 0,025 ммол/кг	44,0 ± 3,3	<0,05	21,0 ± 5,4	<0,05
Гуанетидин 0,025 ммол/кг	18,0 ± 3,6	<0,05	-	-

Примітка: зменшення опору розраховані відносно "норми" САТ.

Дані таблиці 7 свідчать про те, що бетатирон і гуанетидин, гальмуючи вивільнення норадреналіна в адренергічних нейронах судин, зменшують тонус гладеньких м'язів резистивних судин і цим самим зменшують опір кровотоку в артеріях стегна на 44,0% і 18,0% відповідно. В нирках - опір кровотоку зменшується на 21%. Зменшення опору в судинах кінцівки і нирок узгоджується з теорією [4] про частку нейрогенного компонента регіонарних судин.

Приклад 8. Бетатирон менше токсичний. Гостру токсичність порівнювали на різних видах тварин при різних шляхах введення препаратів. Визначали  $DL_{16}$ ,  $DL_{50}$ ,  $DL_{84}$  та стандартні помилки  $DL_{50}$  за методом Літчфілда та Уїлкоксона (1949). Результати приводимо у таблиці 8. Вони показують, що бетатирон у порівнянні з іншими інгібіторами вивільнення норадреналіна менше токсичний і краще всмоктується із травного тракту. До нього немає видової чутливості:  $DL_{50}$  для мишей і щурів становлять 72мг/кг та 71мг/кг відповідно.

Таблиця 8  
 $DL_{50}$  препаратів, визначені на різних видах тварин при різних шляхах введення

Препарат	Вид тварин:	Шлях введення:	$DL_{50}$	
			мг/кг	ммол/кг
Бетатирон	миші	в/черевно	72,0 ± 5,2	0,31
" "	щури	в/черевно	71,0 ± 5,1	0,305

Продовження таблиці 8

Препарат	Вид тварин:	Шлях введення:	$DL_{50}$	
			мг/кг	ммол/кг
" "	щури	в шлунок	320,0 ± 26,0	1,38
" "	коти	п/шкіру	89,0 ± 10,0	0,385
Гуанетидин	щури	в/черевно	71,0 ± 7,6	0,286
" "	щури	в шлунок	1000,0 ± 74,3	4,45
Бретиліл	щури	в/черевно	42,0 ± 2,7	0,13
" "	щури	в шлунок	270,0 ± 17,4	0,82
Бетанідин	щури	в/черевно	83,0 ± 6,9	0,31

Приклад 9. На відміну від бетанідину, бетатирон не кумулює і до нього не розвивається звикання.

З метою, вивчення кумулятивних властивостей бетатирону чи можливого розвитку звикання до нього 30-ти білим мишам протягом 10 діб підшкірно вводили бетатирон у дозі 36мг/кг, тобто 20% від  $DL_{50}$ . Контрольній групі (30 мишей) протягом досліджуваного фізіологічний розчин. Підраховуючи дозу бетатирону, яку було введено мишам за 10 днів, встановили, що вона становить 2  $DL_{50}$ , тобто більше абсолютної летальної (таблиця 9).

Таблиця 9  
Вплив попереднього введення бетатирону на величину  $DL_{50}$

Етапи дослідження	Доза	$DL_{50}$ , мг/кг	P
Мишам вводили фіз. розчин	-	72,0 ± 5,2	-
Мишам вводили бетатирон	360,0	68,0 ± 4,1	>0,05

Цифровий матеріал таблиці 9 свідчить про те, що величина  $DL_{50}$  для мишей, які попередньо протягом 10 діб отримали 360мг/кг, статистичне не відрізняється від  $DL_{50}$  бетатирону, визначеної на контрольних мишах. Коефіцієнт кумуляції бетатирону становить:  $\frac{72,0 \text{ мг/кг}}{68,0 \text{ мг/кг}} = 1,059$ , тобто він не

кумулює і до нього не розвивається звикання.

Приклад 10. На протилежність багатьом іншим симпатолітикам бетатирон не викликає проносу (діареї). Для дослідження евакуаторної функції шлунково-кишкового тракту відсаджують 3 групи білих щурів і витримують їх на голодній дієті протягом доби. На початку другого дня 1 групі вводять бетатирон у дозі 0,05ммол/кг; групі № 2 вводять гуанетидин теж у дозі 0,05ммол/кг, щурам групи №3 вводять фізіологічний розчин також під шкіру. Через 2 години після введення препаратів всім трьом групам щурів в шлунок через зонд вводять суміш борошна і карболону у відношенні 5:1 на воді та дають стандартний раціон. Через 2,5 години щурів забивають ефіром і досліджують довжину кишки, яку пройшла контрастна маса по кишкочнику. Результати дослідів приводимо у таблиці 10.

Таблиця 10  
Вплив інгібіторів на проходження їжі по кишечнику

Етапи дослідження	Шлях, пройдений сумішш, см	P
Щурам ввели фіз. розчин	$11,7 \pm 0,42$ /7/	-
Щурам ввели бетатирон	$10,9 \pm 0,34$ /7/	$> 0,05$
Щурам ввели гуанетидин	$18,3 \pm 0,86$ /7/	$< 0,05$

Примітка: у дужках – кількість дослідів

Дані таблиці 10 свідчать про те, що бетатирон не впливає на швидкість просування їжі по кишечнику. Гуанетидин прискорив евакуаторну функцію кишечника щурів у 1,56 рази порівняно до контрольної групи щурів. З результатів досліджень витікає висновок, що бетатирон не буде викликати у хворих проносу.

Таким чином, експериментально доведено, що бетатирон є ефективний інгібітор вивільнення норадреналіна із адренергічних нейронів у відповідь на спонтанні (приклад 7) чи на індукційні потенціали дії (приклади 1 і 2), а також на хімічні стимулятори (приклади 3, 4, 5, 6). Бетатирон має такі переваги над прототипами:

припиняє вивільнення норадреналіна із нейронів зразу після надходження в організм і діє на

протязі 19 годин;

не спустошує депо катехоламінів і цим не створює умов для виникнення ортостатичних ефектів в організмі;

не кумулює і до нього не виникає звички;

не спричиняє діареї і зв'язаного з нею болю в животі;

не викликає раптових добових коливань САТ;

менше токсичний, краще всмоктується із травного тракту і у нього відсутня видова чутливість;

зменшує кровоопір судин нирок, чим збільшує кровообіг нирок і терапевтичну цінність як лікарського засобу.

Джерела інформації:

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

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

3. Авт.свид. СССР №543651, кл.С 07 157/14, А 61 К 31/17 Галоидгидраты N,N'-диметиларалкилизотиомочевин, проявляющие вазоактивное действие /В.Г.Дужак, В.Д.Бойко. Опубл. 25.10.77. Бюлл №3

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

