



УКРАЇНА

(19) UA (11) 92692 (13) C2

(51) МПК (2009)
A61K 31/41
C07D 249/00
A61P 9/00
A61K 9/20
A61K 9/08МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ІШЕМІЧНОЇ ХВОРОБИ СЕРЦЯ ТА ГІПЕРТОНІЧНОЇ ХВОРОБИ

1

(21) a200906983

(22) 03.07.2009

(24) 25.11.2010

(46) 25.11.2010, Бюл.№ 22, 2010 р.

(72) МАЗУР ІВАН АНТОНОВИЧ, БЕЛЕНІЧЕВ ІГОР
ФЕДОРОВИЧ, КОЛЕСНИК ЮРІЙ МИХАЙЛОВИЧ,
КУЧЕРЕНКО ЛЮДМИЛА ІВАНІВНА, ВОЛОШИН
МИКОЛА АНАТОЛІЙОВИЧ, АБРАМОВ АНДРІЙ
ВОЛОДИМИРОВИЧ, ЧЕКМАН ІВАН СЕРГІЙОВИЧ,
ГОРЧАКОВА НАДІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА, ЗАГОРО-
ДНІЙ МАКСИМ ІВАНОВИЧ, МАМЧУР ВІТАЛІЙ
ІОСИПОВИЧ, ДОВГАНЬ РОМАН СТЕПАНОВИЧ,
ГЕОРГІЄВСЬКИЙ ГЕННАДІЙ ВІКТОРОВИЧ(73) ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДА-
ЛЬНІСТЮ "НАУКОВО-ВИРОБНИЧЕ ОБ'ЄДНАННЯ
"ФАРМАТРОН"

(56) UA 79912 (C2) 25.07.2007

UA 28494 (C2) 16.10.2000

UA 23260 (C2) 19.05.1998

RU 2136669 (C1) 10.09.1999

SU 1747443 (A1) 15. 07.1992

UA 83587 (C2) 25.07.2008

UA 2439 (C) 26.12.2004

2

(57) 1. Лікарський засіб для лікування ішемічної
хвороби серця та гіпертонічної хвороби, який міс-
тить як активну речовину похідне 1,2,4-триазолу та
технологічні наповнювачі, який відрізняється тим,
що як похідне 1,2,4-триазолу він містить бромід 1-
(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію.2. Лікарський засіб за п. 1, який відрізняється
тим, що він являє собою розчин для ін'єкцій, який
містить компоненти у такому співвідношенні,
мас. %:

бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-	
1,2,4-триазолію	0,1-2,0
вода для ін'єкцій	решта.

3. Лікарський засіб за п. 1, який відрізняється
тим, що він являє собою тверду дозовану форму,
наприклад таблетку, яка містить компоненти у та-
кому співвідношенні, г на таблетку масою 0,2 г:

бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-	
1,2,4-триазолію	0,02-0,10
технологічні наповнювачі	решта.

Винахід стосується медицини та фармації, зо-
крема, лікарських препаратів з широким спектром
фармакологічної дії, що застосовуються у лікуван-
ні серцево-судинних захворювань.

Однією з актуальних задач медицини і фарма-
ції є створення засобів профілактики та лікування
захворювань серцево-судинної системи. Ішемічна
хвороба серця, і особливо інфаркт міокарда, є
головною причиною смертності населення в Укра-
їні і державах Європейського Союзу, Північної
Америци [Коваленко В.Н., 2004].

Інтенсивна терапія в найгострішому та гостро-
му періоді інфаркту міокарда являє собою най-
більш складну і важливу проблему кардіології.
Найгостріший період інфаркту міокарда, який про-
довжується 2-3 години, є самим важким і коротко-

часним; другий - гострий період - триває від 2 до
14 днів. Тому чим швидше та ефективніше буде
проявлятися фармакологічна дія лікарських засо-
бів, які використовуються в першому і другому
періодах інфаркту, тим ефективнішим буде його
лікування.

В гострому періоді інфаркту міокарда викорис-
товують β -адреноблокатори, одним із яких є «гіб-
ридний» - (α + β) адреноблокатор останньої гене-
рації - карведилол [Компендиум 2006 -
лекарственные препараты. - Т. 2. - К., 2006. - С.С-
132]. Карведилол сприятливо діє на внутрішньо-
серцеву і регіональну гемодинаміку, нормалізує
кисневий режим міокарда в умовах ішемії, має
антиоксидантний ефект. Карведилол приймається
за аналог по фармакологічній дії.

(13) C2

(11) 92692

(19) UA

Недоліком карведилолу є відсутність або незначний кардіопротективний ефект в найгострішому і гострому періодах інфаркту міокарда, а також слабковиражений енерготропний ефект [Рылова А.К., Розанов А.В. Терапия в-блокаторами в специальных группах пациентов (обзор результатов анализа в подгруппах исследований CIBIS 11, COMET, COPER-NICUS, MERIT HF) // Сердце. - 2003. - №4. - С. 190-196]. Суттєвим недоліком карведилолу, який обмежує його використання, є виникнення цілої низки побічних реакцій з боку різних органів та систем. Нервова система: можливі втрата свідомості, депресія, порушення сну, парестезії. Серцево-судинна система: брадикардія, ортостатична гіпотензія, атріовентрикулярна блокада II-III ст., зрідка - порушення периферичного кровообігу, прогресування серцевої недостатності (при збільшенні доз), набряки нижніх кінцівок, стенокардія, виражене зниження АТ, загострення синдрому переміжної кульгавості і синдром Рейно. Травна система: сухість у роті, нудота, діарея або запор, блювання, біль у животі, втрата апетиту, підвищення активності печінкових трансамінз. Обмін речовин: підвищення маси тіла і гіперхолестеринемія; у хворих з вже наявним цукровим діабетом - гіперглікемія чи гіпоглікемія, декомпенсація вуглеводного обміну. Алергічні реакції: шкірні алергічні реакції, загострення псоріазу. З боку дихальної системи: задишка і бронхоспазм (у схильних хворих). Інше: порушення зору, зменшення слюзовиділення, гриппоподібний синдром, чихання, міалгія, артралгія, біль у кінцівках, інколи - порушення сечовипускання, порушення функції нирок [Інструкція з використання карведилолу. [Компендиум 2006 - лекарственные препараты. - Т. 2. - К., 2006. - С.С-132].

Найбільш близьким до пропонованого винаходу за складом і дією є „Лікарський засіб для лікування інфаркту міокарда та гострої серцевої недостатності“ (робоча назва „Трианол“) [Пат. 83587 Україна, МПК (2006) A61K31/41, A61P9/10 (2008.01). Заявка № a200702731; заявл. 15.03.07; опубл. 25.07.08, Бюл. 14], де заявляється застосування броміду 1-(β-фенілетил)-4-(п-диметиламінобензиліденаміно)-1,2,4-триазолію як активної основи лікарського засобу для лікування інфаркту міокарда і гострої серцевої недостатності, при цьому лікарський засіб містить 0,10-0,25мас.% активної основи та воду для ін'єкцій.

Доклінічні дослідження показали, що трианол, який вводять у дозах 1-5 мг/кг тваринам з експериментальним інфарктом міокарда, зменшує зону некрозу міокарда, покращує показники ЕКГ, нормалізує енергетичний обмін, активує антиоксидантну систему кардіоміоцитів на 3 добу експерименту. При введенні трианолу у дозі 10-30 мг/кг тваринам зі спонтанною гіпертензією знижується артеріальний тиск.

Трианол приймаємо за прототип засобу, що заявляється.

Спільними суттєвими ознаками прототипу та винаходу, що заявляється, є наявність у складі засобів:

- як активної речовини похідного 1,2,4-триазолу;
- технологічних наповнювачів.

Однак, трианол не має швидкого і вираженого кардіопротективного ефекту в найгостріший і гострий періоди інфаркту міокарда, що значно утруднює його застосування в інтенсивній терапії серцево-судинних захворювань, не спричиняє антигіпертензивний ефект і не має ендотеліопротективної дії.

В основу винаходу поставлено задачу удосконалення лікарського засобу шляхом зміни його складу та форми, що підвищить ефективність засобу, розширить арсенал лікарських форм препаратів зазначеної дії, забезпечить перевищення по спектру і ступеню активності відомі аналоги і може забезпечити виробництво лікарських препаратів для лікування серцево-судинних захворювань.

Поставлена задача вирішується тим, що у лікарському засобі, який містить як активну речовину похідне 1,2,4 триазолу та технологічні наповнювачі, новим є те, що як похідне 1,2,4 триазолу він містить бромід 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію.

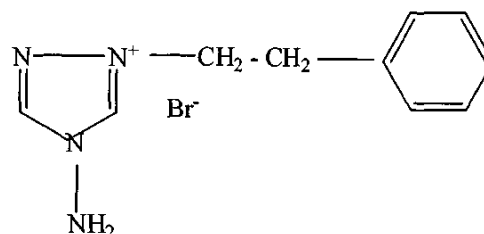
Новим є те, що лікарський засіб являє собою розчин для ін'єкцій, який містить компоненти у такому співвідношенні, мас. %:

бромід 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію	0,1-2,0
вода для ін'єкцій	решта.

Новим також є те, що засіб являє собою тверду дозовану форму, наприклад, таблетку, яка містить компоненти у такому співвідношенні, г на таблетку масою 0,2 г:

бромід 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію	0,02-0,10,
технологічні наповнювачі	решта.

Біологічно активна речовина бромід 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію має формулу:



Робоча назва препарату - МТ.

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак, що заявляються, та технічним результатом полягає у такому.

Фармакологічний ефект від використання винаходу.

Введення препарату МТ у вигляді розчину для ін'єкцій у дозах 1-5 мг/кг, і особливо в оптимально ефективній дозі - 2 мг/кг внутрішньочеревинно, що складає 1/86 від ЛД₅₀, в гострий період інфаркту міокарда призводить до зниження ступеня ураження кардіоміоцитів, починаючи з 15 хвилини розвитку експериментальної патології, а також до зменшення загибелі кардіоміоцитів, гальмування вільнорадикальних процесів, активації адаптивного протеїнсинтезу, зниження артеріального тиску, покращення енергообміну міокарда і показників електрокардіографії. Застосування препарату МТ в гострий період інфаркту міокарда по силі тера-

певтичного ефекту перевищує ефективність засобу базової терапії - аналога по фармакологічній дії карведилола і прототипа трианолу.

Введення препарату МТ в дозах 10-50 мг/кг, і особливо в оптимально ефективній дозі 30 мг/кг, що складає 1/6 от ЛД₅₀, тваринам зі спонтанною гіпертензією призводить до зниження артеріального тиску через 30 хвилин після ін'єкції препарату. Введення препарату МТ у дозах 10-50 мг/кг, і особливо у оптимальній дозі 30 мг/кг перорально у вигляді таблеток тваринам зі спонтанною артеріальною гіпертензією призводить до гальмування проявів оксидативного стресу, зменшенню гіпертрофії міокарда, зниженню загибелі ендотеліоцитів коронарних артерій. По силі антигіпертензивної дії препарат МТ перевищує ефективність засобу базової терапії - аналога по фармакологічній дії карведилола і прототипа трианолу.

Суть винаходу і його переваги перед відомими аналогами пояснюються наступними прикладами доклінічних досліджень на тваринах і результатами цих досліджень, які надані в таблицях.

Для ілюстрації реалізації даного винаходу приводимо приклади отримання речовини, що заявляється, фармакологічну активність засобу.

Приклад 1.

Синтез броміду 1-(β-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію

Синтез проводять в чотирьохгорлій колбі місткістю 0,5 л, яка має мішалку, термометр, зворотний холодильник і ділильну воронку місткістю 0,25л.

В колбу завантажують 42,04 г (0,5 моля) 4-аміно-1,2,4-триазолу і 120 мл ізопропанолу і нагрівають до 70°C до повного розчинення 4-аміно-1,2,4-триазолу. До отриманого розчину додають по каплях розчин, який складається з 93,45 г (0,505 моль) β-брометилбензолу в 100 мл ізопропанолу. Потім реакційну масу нагрівають до кипіння (83°-85°C) і кип'ятять протягом 8 год. Після цього реакційну масу охолоджують при періодичному перемішуванні спочатку на повітрі до кімнатної температури, а потім на льодовій бані до 5°-6°C. Кристалічний осад, що випав, відфільтровують, ретельно віджимають і промивають на фільтрі два

рази по 10 мл охолодженого ізопропанолу чи ацетону.

Вихід цільового продукту 123,8 г (98% від теорії).

Білий зі злегка жовтуватим чи зеленкуватим відтінком кристалічний порошок є розчинним у воді, у метанолі, 95% етанолі, ДМФА, не розчиняється у ефірі, ацетоні. Температура плавлення - 102°-107°C (плавиться в межах 2°C).

Знайдено, %: С 44,48; Н 4,90; Br 29,65; N 20,81.

Брутто формула: C₁₂H₁₃BrN₄.

Обчислено, %: С 44,63; Н 4,87; Br 29,69; N 20,81.

ІЧ-спектр: 3389; 3280 см⁻¹ (симетричні і асиметричні валентні коливання NH₂); 3025 см⁻¹ (ν СН ароматичного ядра); 1631 см⁻¹ (ν С=Н зв'язку гетероциклічного ядра).

Приклад 2.

Кардіопротективна і протиішемічна активність препарату МТ (розчин для ін'єкцій) при внутрішньоочеревинному введенні

Кардіопротективну і протиішемічну активність МТ вивчали на моделі послідовної оклюзії лівої коронарної артерії у щурів лінії Вістар масою 220-240 г, отриманих з розплідника Інституту фармакології і токсикології АМН України. Оклюзію коронарних артерій проводили під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг) шляхом накладання шовкової лігатури [4, 5]. Препарат МТ, трианол вводили по 2мг/кг внутрішньоочеревинно за 15 хвилин до накладання лігатури. У експериментальних тварин забирали венозну кров через 15 хв., 60 хв. та 120 хвилин. У сироватці крові визначали активність кардіоспецифічного ізоензиму МВ-КФК (визначали по оптичному тесту Варбурга після хроматографічного розділення) [3, 5].

При коронарооклюзії виникає гостра ішемія, відбувається загибель кардіоміоцитів і вихід у сироватку крові кардіоспецифічного ізоензиму креатинфосфокінази МВ-КФК, про що свідчить підвищення його активності на 17%, 52%, 75%, 102% відповідно на 15, 30, 60, 120 хв. після накладання лігатури.

Таблиця 1

Вплив МТ і препаратів порівняння на активність маркерного ферменту МВ-КФК (мМоль/л/ч) в найгостріший період ішемії міокарда, спричиненої оклюзією коронарної артерії у щурів

Групи спостереження і кількість тварин	Тривалість оклюзії			
	15 хв.	30 хв.	60 хв.	120 хв.
Інтактна n=5	0,04±0,001	0,04±0,002	0,04±0,001	0,04±0,002
Оклюзія (контроль) n=5	0,047±0,001 (+17%)	0,061±0,003 (+52%)	0,070±0,002 (+75%)	0,081±0,002 (+102%)
МТ n=5	0,04±0,001*# (-15%)	0,042±0,002*# (-32%)	0,052±0,002* (-26%)	0,058±0,002* (-28%)
Трианол n=5	0,046±0,001 (-2%)	0,051±0,002* (-17%)	0,058±0,003* (-18%)	0,064±0,002* (-20%)

Примітка: * - достовірність різниці (p<0,05) по відношенню до контрольної групи, # - достовірність відмінностей (p<0,05) по відношенню до групи трианолу

Як видно з даних, наданих у табл. 1, препарат МТ, що заявляється, проявляє виражену кардіопротективну дію при оклюзії лівої коронарної арте-

рії. Так, на 15, 30, 60 і 120 хв. після коронарооклюзії препарат МТ знижував гіперферментемію МВ-КФК на 15%, 32%, 26% и 28%, а трианол - на 2%,

17%, 18% і 20%, відповідно, в порівнянні з контролем.

Перевагою застосування препарату МТ є те, що у нього достовірна кардіопротективна дія виникла вже з 15-ої хвилини після оклюзії з максимально вираженим ефектом на 30-й хвилині оклюзії.

Достовірний ж кардіопротективний ефект трианол проявляв з 30 хвилини після оклюзії, який на 15% був менш виразним, ніж подібний ефект від застосування препарату МТ в цей період часу. Кардіопротективна дія трианолу по силі поступалася дії препарату МТ на 60 и 120 хвилинах спостереження на 8%.

Таким чином, препарат МТ має виражену кардіопротективну дію в умовах найгострішого періоду ішемії міокарда, достовірно перевищуючи дію трианолу не тільки по силі основного ефекту, але й по часу його проявлення, що є основною перевагою препарату, що заявляється.

Приклад 3.

Кардіопротективна, антиоксидантна і протеїнсинтетична активність препарату МТ (розчин для ін'єкцій) при внутрішньоочеревинному введенні

Кардіопротективну, антиоксидантну і протеїнсинтетичну активність препарату МТ вивчали на моделі гострого інфаркту міокарда у щурів лінії Вістар масою 200-230 г, який викликали введенням

ізадрину і пітуїтрину. Дрібновогнищевий інфаркт міокарда моделювали введенням пітуїтрину (1 Од/кг) підшкірно, а потім ізадрину (200 мг/кг) внутрішньом'язово протягом 3 діб [1, 5]. Препарат МТ, трианол і карведилол вводили у дозі 2 мг/кг внутрішньоочеревинно протягом 3 діб, паралельно формуванню інфаркту міокарда. Про зазначені види активності робили висновки за зниженням продукту окислювальної модифікації білка (ОМБ) - карбоксифенілгідроксида (КФГ) (визначали спектрофотометрично по реакції з 2,4-динітрофенілгідроксином) [7]; за вмістом РНК у цитоплазмі кардіоміоцитів і щільності ядер кардіоміоцитів на одиниці площі (після забарвлення зрізів міокарда галоціанін-хромовим галуном за Ейнарсеном) [6] і за результатами морфометричного аналізу на мікроскопі Аxiоскоп. Моделювання інфаркту міокарда призводило до різкого накопичення в тканинах серця маркерного продукту окислювальної модифікації білка КФГ на 213%, який відображував активацію вільно-радикальних процесів; зниження щільності ядер кардіоміоцитів на умовній одиниці площі на 4%, що свідчить про загибель клітин і зменшення в них РНК на 23%, що говорить про порушення процесів протеїнового синтезу.

Таблиця 2

Вплив МТ на показники загибелі кардіоміоцитів, активність процесів протеїнсинтезу та інтенсивність вільно-радикальних процесів при гострому інфаркті міокарда

Групи спостереження і кількість тварин	Показники		
	КФГ, у.о./г білка	РНК, Е оп	Щільність ядер на 1 мм ² площі міокарда
Інтактна (n=5)	12,33±1,78	0,098±0,001	8116±221
Інфаркт (контроль) (n=5)	38,6±2,22 (+213%)	0,076±0,001 (-23%)	7832±285 (-4%)
МТ (n=5)	17,2±1,00*+ [#] (-55,4%)	0,117±0,001*+ [#] (+54%)	9511±166*+ [#] (+21,5%)
Трианол (n=5)	21,4±1,11*+ (-45,4%)	0,115±0,001*+ (+51%)	9326±296*+ (+19%)
Карведилол (n=5)	27,3±1,33* (-29,0%)	0,098±0,001* (+28%)	8706±151* (+11%)

Примітка: * - достовірність різниці (p<0,05) по відношенню до контрольної групи, # - достовірність відмінностей (p<0,05) по відношенню до групи трианолу, + - достовірність відмінностей (p<0,05) по відношенню до групи карведилолу

Як видно з даних, наданих у табл. 2, введення препарату МТ спричиняло виражений антиоксидантний ефект, про що свідчило статистично достовірне зниження накопичення КФГ у міокарді на 55,4%, після моделювання інфаркту у порівнянні з групами порівняння. Введення трианолу мало менш виражений ефект (зниження КФГ на 45,4%), а введення карведилолу знижувало цей показник на 29,0% в порівнянні з контролем. Препарат МТ мав протеїнсинтетичну дію, про що свідчило підвищення РНК у цитоплазмі кардіоміоцитів на 54%; введення препаратів порівняння - трианолу і карведилолу - спричиняло достовірно гірший ефект (підвищення РНК на 51% і 28% відповідно). Введення препарату МТ призводило до зменшення загибелі кардіоміоцитів, про що свідчило підвищення щільності ядер кардіоміоцитів на умовній одиниці площі на 21,5%. Препарати порівняння трианол і карведилол мали менш ви-

ражений ефект (підвищення шуканого показника спостерігалось на 19% і 11% відповідно).

Таким чином, препарат МТ має більш виражену, чим у трианолу і карведилолу, антиоксидантну, кардіопротективну і протеїнсинтетичну дію в умовах гострого періоду інфаркту міокарда, що є явною перевагою використання препарату, що заявляється.

Приклад 4.

Кардіопротективна, протиішемічна і енерготропна активність МТ (розчин для ін'єкцій) при внутрішньоочеревинному введенні

Кардіопротективну, протиішемічну і енерготропну активності препарату МТ вивчали на моделі гострого інфаркту міокарда у щурів лінії Вістар масою 200-230 г, який викликали введенням ізадрину і пітуїтрину. Дрібновогнищевий інфаркт міокарда моделювали введенням пітуїтрину (1Од/кг) підшкірно, а потім ізадрину (200 мг/кг)

внутрішньом'язово протягом 3 діб [1, 5]. Препарат МТ, трианол і карведилол вводили у дозі 2 мг/кг внутрішньоочеревинно на протязі 3 діб, паралельно формуванню інфаркту міокарда. Про зазначені види активності робили висновки за зниженням активності у сироватці крові кардіоспецифічного ізоензиму креатинфосфокінази МВ-КФК (визначали за специфічним тестом

Варбурга після хроматографічного розділення [3, 5]), за зниженням сумарного ступеня зміщення сегменту ST відносно ізолінії ($\Sigma_{\Delta}ST$) (визначали за допомогою електрокардіографії) [1, 5], а також за підвищенням рівня АТФ у міокарді (проводили спектрофотометрію) [3].

Таблиця 3

Вплив препарату МТ і препаратів порівняння на показники ішемії, біоенергетику серцевого м'яза при експериментальному інфаркті міокарда

Групи спостереження і кількість тварин	Показники		
	МВ-КФК, ммоль/л/год	($\Sigma_{\Delta}ST$) (мкВ)	АТФ, мкм/г
Інтактна група n=5	0,05±0,005	0	3,38±0,253
Інфаркт (контроль) n=5	0,22±0,02 (+340%)	225±21	2,30±0,14 (-32%)
МТ n=5	0,068±0,01*+ [#] (-70%)	23±13*+*	3,10±0,14*+ [#] (+34,7%)
Трианол n=5	0,092±0,02*+ (-58%)	34±21*+	2,98±0,14*+ (+29,5%)
Карведилол n=5	0,12±0,02* (-46%)	64±21*	2,68±0,11* (+16,5%)

Примітка: * - достовірність різниці (p<0,05) по відношенню до контрольної групи, # - достовірність відмінностей (p<0,05) по відношенню до групи трианолу, + - достовірність відмінностей (p<0,05) по відношенню до групи карведилолу

Моделювання інфаркту міокарда призводило до розвитку енергодефіциту, про що свідчили зниження рівня АТФ в міокарді на 32%, поява ішемічних змін в тканинах серця, що виражалось у збільшенні сумарного ступеня зміщення сегменту ST відносно ізолінії ($\Sigma_{\Delta}ST$) на електрокардіограмі на 225±21 мкВ і порушенні цілісності мембран кардіоміоцитів, про що свідчило підвищення у сироватці крові активності кардіоспецифічного ізоензиму креатинфосфокінази - МВ-КФК на 340% у порівнянні з інтактною групою. Як видно з даних, наданих у табл. 3, препарат МТ володіє вираженою енерготропною дією, і на тлі моделювання інфаркту міокарда підвищував рівень АТФ в міокарді на 34% (введення препаратів порівняння трианолу і карведилолу призводило до підвищення АТФ на 29,5% і 16,5% відповідно). Введення МТ тваринам в гострий період інфаркту міокарда мало статистично достовірно більш виражений кардіопротективний ефект у порівнянні з препаратами порівняння, про що судили по зниженню МВ-КФК на 70% (препарат порівняння

трианол знижував активність МВ-КФК на 58%, а карведилол - на 46%). Призначення препарату МТ тваринам з інфарктом міокарда в гострому періоді мало виражений протиішемічний ефект, про що свідчило зниження сумарного ступеня зміщення сегменту ST відносно ізолінії ($\Sigma_{\Delta}ST$) до 23±13 мкВ (введення трианолу забезпечувало зниження цього показника ішемії міокарда до 34±21 мкВ, а введення карведилолу - до 64±21 мкВ (p<0,05)).

Приклад 5.

Антигіпертензивна активність препарату МТ (розчин для ін'єкцій) при внутрішньоочеревинно-му введенні

Дослідження антигіпертензивної дії препарату МТ проводили на щурах лінії HICAG зі спонтанною артеріальною гіпертензією масою 260±5г. Препарат МТ, трианол і карведилол вводили внутрішньоочеревинно в однаковій дозі - 30 мг/кг. Артеріальний тиск вимірювали через 30 хв., 1, 3 і 6 годин після введення препаратів на хвостовій артерії за допомогою плетизмографа.

Таблиця 4

Вплив препарату МТ і препаратів порівняння на показники артеріального тиску (АТ) у спонтанно гіпертензивних щурів, мм рт. ст.

Групи спостереження і кількість тварин	Рівень АТ по термінам спостереження				
	АТ вихідний	АТ через 30 хв.	АТ через 1 год.	АТ через 3 год.	АТ через 6 год.
Щури з гіпертензією (контроль) n=5	163±2	167±7	165±5	166±3,1	164±2,5
Щури з гіпертензією+МТ (n=8)	159±1,4	133±2,4*+ (-16,4%)	139±1,8* (-12,6%)	139±1,2* (-12,6%)	156±1,4
Щури з гіпертензією+Карведилол (n=8)	169±3,9	163±3,0 (-3,6%)	155±4,0* (-8,3%)	148±4,7* (-12,5%)	169±4,3

Примітка: * - достовірність різниці (p<0,05) по відношенню до контрольної групи, + - достовірність відмінностей (p<0,05) по відношенню до групи карведилолу

У спонтанно гіпертензивних щурів (контроль) показник АТ практично не змінювався протягом всього експерименту.

Призначення щурам зі спонтанною гіпертензією препарату МТ у дозі 30 мг/кг приводило до достовірного зниження АТ на 16,4% вже через 30 хв. після введення. Причому в цей період спостереження препарат МТ по силі антигіпертензивної дії достовірно перевищував карведилол. Протягом наступних 3 годин препарат МТ забезпечував стійке достовірне зниження АТ на 12,6%, яке по силі перевищувало антигіпертензивну дію карведилолу. Через 6 годин після введення МТ спостерігалось зниження його антигіпертензивної дії. Карведилол незначно знижував АТ через 30 хвилин після введення. Достовірний антигіпертензивний ефект реєстрували через 1 годину після ін'єкції препарату (зниження АТ на 8,3%). Максимальний антигіпертензивний ефект карведилолу, зіставний з дією препарату МТ, спостерігався через 3 години після введення препарату (зниження АТ на 12%). Через 6 годин після введення карведилолу його антигіпертензивний ефект зникає.

Таким чином, препарат МТ, що заявляється, володіє достовірно більш вираженою, ніж у кар-

ведилола, антигіпертензивною дією, максимальне проявлення якої настає швидше, чим у препарата порівняння на 30 хв. після введення щурам лінії N1CAГ і зберігається до 6 ч спостереження.

Приклад 6.

Кардіопротективна, ендотеліопротективна і антиоксидантна активність препарату МТ при пероральному введенні

Дослідження проводили на щурах лінії SHR зі спонтанною артеріальною гіпертензією. Препарат МТ і карведилол вводили перорально за допомогою металевого зонду в однаковій дозі - 30 мг/кг протягом 30 діб на 3-му місяці життя на тлі формування гіпертензії.

Про дані види активності робили висновки за зниженням продукту окислювальної модифікації білка (ОМБ) - карбоксифенілгідратида (КФГ) (визначали спектрофотометрично за реакцією з фенілгідратином) [7], щільності ядер ендотеліоцитів коронарних судин і щільності ядер кардіоцитів (після забарвлення зрізів міокарда галоціанін-хромовим галуном за Ейнарсоном [6] і проведення морфометричного аналізу на мікроскопі Axioskop).

Таблиця 5

Вплив препарату МТ на показники загибелі кардіоцитів, активність процесів протеїнсинтезу та інтенсивність вільно-радикальних процесів у щурів лінії SHR з артеріальною гіпертензією

Група тварин	КФГ, у. о./г білка	Щільність ядер ендотеліоцитів на 1 мм ² площі міокарда	Щільність ядер кардіоцитів, на 1 мм площі міокарда
Інтактна n=5	11,5±0,71	570±10	7230±86
SHR. щури з артеріальною гіпертензією (контроль) n=5	23,3±1,15 (+100%)	402±11 (-30%)	42906±249 (+493%)
SHR щури з артеріальною гіпертензією+МТ n=5	10,7±0,12* (-54%)	547±11*+ (+36%)	7206±86*+ (-83%)
SHR щури з артеріальною гіпертензією+карведилол n=5	17,1±0,18* (-26%)	519±15* (+29,7%)	14082±218* (-67%)

Примітка: * - достовірність відмінності (p<0,05) по відношенню до контрольної групи, + - достовірність відмінностей (p<0,05) по відношенню до групи карведилолу

Розвиток спонтанної гіпертензії у дорослих щурів лінії SHR поєднується з гіпертрофією міокарда. Так, приблизно в 6 разів зростала щільність ядер кардіоцитів на умовній одиниці площі, що свідчило про формування гіпертрофії міокарда у тварин. Одним з важливих показників, які визначають функціональний стан міокарда, є функціональна активність ендотелію коронарних судин, що особливо слід враховувати, коли мова йдеться про судинну патологію, прикладом якої є гіпертонічна хвороба. Так, у щурів з артеріальною гіпертензією мало місце зменшення щільності ендотеліоцитів коронарних артерій на умовній одиниці площі на 30%, що свідчило про формування ендотеліальної дисфункції і ремоделювання міокарда. Артеріальна гіпертензія призводить до розвитку оксидативного стресу в міокарді, про що свідчить підвищення рівня маркера окислювальної модифікації білка КФГ на 100%. Як видно

з даних, наведених у табл. 5, пероральне введення препарату МТ протягом 30 діб щурам з артеріальною гіпертензією спричинювало виражений антиоксидантний ефект, про що свідчило зниження накопичення КФГ в міокарді на 57% у порівнянні з групою контролю. Введення карведилолу знижало цей показник на 26%. Введення препарату МТ спричинювало значний ендотеліопротективний ефект, про що свідчило збільшення щільності розташування ядер ендотеліоцитів на 36%. Введення карведилолу спричинювало достовірно менш виражену дію (збільшення щільності ядер ендотеліоцитів на 29%). Призначення тваринам з артеріальною гіпертензією препарату МТ спричинювало кардіопротективну дію і зменшувало проявлення гіпертрофії міокарда, що проявлялось у зниженні щільності ядер кардіоцитів на 83% у порівнянні з контрольною групою. Призначення карведилолу тваринам з артеріаль-

ною гіпертензією спричинювало достовірно менш виражений ефект у порівнянні з групою тварин, які отримували МТ (зниження щільності ядер кардіоміоцитів на 67%).

Таким чином, препарат МТ при пероральному введенні тваринам з артеріальною гіпертензією має більш виражену антиоксидантну, ендотеліопротективну і кардіопротективну дію, чим карведилол, що є явною перевагою використання препарату, що заявляється.

Узагальнюючи отримані результати застосування препарату МТ, аналога по фармакологічній дії карведилола і прототипу трианолу, можна зробити наступні висновки.

В умовах послідовної оклюзії лівої коронарної артерії у щурів лінії Вістар препарат МТ в дозі 2 мг/кг має достовірний кардіопротективний ефект в умовах найгострішого періоду ішемії міокарда, запобігаючи загибелі кардіоміоцитів і знижуючи рівень гіперферментемії МВ-КФК на 15%, 32%, 26% и 28%, з максимально вираженим ефектом на 30 хв. оклюзії, достовірно перевищуючи дію трианолу не тільки по силі основного ефекту, але й по часу його проявлення.

В умовах моделювання пітуїтрин-ізадринової моделі інфаркту міокарда препарат МТ в дозі 2 мг/кг достовірно зменшував в тканині серця рівень маркерного продукту окислювальної модифікації білка - КФГ, тим самим проявляючи антиоксидантну активність у півтора рази вище, ніж у трианолу, і в два рази вище, ніж у карведилола; мав виражену протиішемічну дію, яка проявлялась в зниженні сумарного ступеня зміщення сегменту ST відносно ізолінії ($\Sigma_{\Delta ST}$) до 23 ± 13 мкВ (введення трианолу забезпечувало зниження цього показника ішемії міокарда лише до 34 ± 21 мкВ, а карведилолу - до 64 ± 21 мкВ ($p < 0,05$); проявляв виражену енерготропну дію, підвищуючи рівень АТФ в міокарді на 34% (введення препаратів порівняння трианолу і карведилолу призводило до підвищення АТФ на 29,5% і 16,5% відповідно); підвищував вміст РНК в цитоплазмі кардіоміоцитів на 54%, проявляючи протейнсинтетичну дію, що достовірно вище, чим після застосування трианолу і карведилолу (підвищення РНК на 51% і 28% відповідно); проявляв максимальний кардіопротективний ефект у порівнянні з аналогами, запобігаючи загибелі кардіоміоцитів, і знижував рівень МВ-КФК на 70% (трианол знижував активність МВ-КФК на 58%, а карведилол - на 46%).

Препарат МТ, що заявляється, в дозі 30 мг/кг володіє достовірно більш вираженою антигіпертензивною дією, ніж у карведилола, максимальний прояв якої настає швидше, ніж у препаратів порівняння на 30-180 хв. після введення спонтанно гіпертензивним щурам лінії НІСАГ. Для трианолу, згідно опису до патенту „Лікарський засіб для лікування інфаркту міокарда та гострої серцевої недостатності” (робоча назва „Трианол”) [Пат. 83587 Україна, МПК (2006) А61К31/41, А61Р9/10 (2008.01). Заявка № а200702731 ; за-

явл. 15.03.07 ; опубл. 25.07.08, Бюл. 14], антигіпертензивний ефект не описано.

Введення препарату МТ у вигляді таблеток у дозі 30 мг/кг перорально щурам зі спонтанною артеріальною гіпертензією спричинювало достовірно виражений антиоксидантний ефект (зниження КФГ на 57%), ендотеліопротективну дію (підвищення щільності ядер ендотеліоцитів на 36%) і кардіопротективну дію, спрямовану на зменшення гіпертрофії міокарду (зниження щільності ядер кардіоцитів на 83%). Ендотеліопротективну дію для препарату трианолу не описано.

Приведені дані про фармакологічні ефекти препарату МТ, трианолу і карведилолу є доказом явної переваги застосування препарату, що заявляється.

Іншою перевагою препарату МТ є його нижча токсичність в порівнянні з трианолом. Так, ЛД₅₀ препарату МТ складає 172 мг/кг при внутрішньочереєвинному введенні щурам, а ЛД₅₀ трианолу - 112 мг/кг.

Як видно з вищенаведених результатів досліджень ефективності, запропонований засіб, що містить бромід 1-(β -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію (препарат МТ) при лікуванні інфаркту міокарда в найгострішому і гострому періодах артеріальної гіпертензії по ефективності використання значно перевершує за всіма показниками ефективність використання з цією ж метою відомих засобів і прототипу.

Це визначає доцільність патентоправової охорони засобу, що заявляється.

Література

1. Стефанов А.В. Доклинические исследования лекарственных средств. - Киев: Авиценна, 2002. - 568 с.
2. Рылова А.К., Розанов А.В. Терапия β -блокаторами в специальных группах пациентов, страдающих ХСН (обзор результатов анализа в подгруппах исследований CIBIS 11, COMET, COPER-NICUS, MERIT HF) // Сердце. - 2003. - №4. - С.190 - 196.
3. Прохорова М.А. Современные методы в биохимии. - Л.: Изд-во ЛГУ, 1986. - 368 с.
4. Ольбинская Л.И., Литвицкий П.Ф. Коронарная и миокардиальная недостаточность. - М.: Медицина, 1986. - 272 с.
5. Каверина Н.В., Чичканов Г.Г. Методические рекомендации по экспериментальному (фармакологическому) изучению препаратов, предлагаемых для клинических испытаний в качестве антиангинальных средств // Руководящие методические материалы по экспериментальному и клиническому изучению новых лекарственных средств. - М., 1982. - С. 61-69.
6. Пирс Э. Гистохимия. - М., 1962. - 962 с.
7. Halliwell B., Gutteridge M.C. Free radicals in biology and medicine. - Oxford: Clarendon Press, 1985. - 347 p.

