



УКРАЇНА

(19) UA (11) 94528 (13) C2  
(51) МПК  
A61K 31/7008 (2006.01)  
A61P 9/10 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЗАСТОСУВАННЯ ПОХІДНИХ ГЛЮКОЗАМІНУ ЯК ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНИХ ЗАСОБІВ

1

(21) a201003364  
(22) 23.03.2010  
(24) 10.05.2011  
(46) 10.05.2011, Бюл.№ 9, 2011 р.  
(72) ЗУПАНЕЦЬ ІГОР АЛЬБЕРТОВИЧ, ПОПОВ  
СЕРГІЙ БОРИСОВИЧ, ГРІНЦОВА ОЛЬГА ЄВГЕ-  
НІВНА, ГРІНЦОВ ЄВГЕН ФЕДОРОВИЧ  
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-  
ВЕРСИТЕТ  
(56) RU2133597 C1, 27.07.1999.  
EP1362096 B1, 19.08.2009.  
EP 1165097 B1, 02.05.2007.  
EP 1059304 B1, 26.04.2006.  
Shah I.M., Macrae M., Di Napoli M.  
Neuroinflammation and neuroprotective strategies in  
acute ischaemic stroke - from bench to bedside //  
Curr. Mol. Med. - 2009. - № 9. - P. 336-354.  
Lakhan S.E., Kirchgessner A., Hofer M. Inflammatory  
mechanisms in ischemic stroke: therapeutic  
approaches // J. Transl. Med. - 2009. - № 17. - P. 7-  
97.  
Vangsness C.T. Jr., Spiker W., Erickson J. A review  
of evidence-based medicine for glucosamine and  
chondroitin sulfate use in knee osteoarthritis //  
Arthroscopy. - 2009. - № 25 (1). - P. 86-94.  
Herrero-Beaumont G., Ivorra J.A., Del Carmen  
Trabado M. et al. Glucosamine sulfate in the

2

treatment of knee osteoarthritis symptoms: a  
randomized, double-blind, placebo-controlled study  
using acetaminophen as a side comparator // Arthritis  
Rheum. - 2007. - № 56. - P. 555 -567.  
Верткин А.Л., Наумов А.В., Шауилова М.М. и др.  
Нейропротективная терапия в остром периоде  
инсульта: шаг вперед // Международный неврологи-  
ческий журнал. - 2007. - № 4 (14). - С. 53-58.  
Свободнорадикальное окисление и антиоксидант-  
ная защита при патологии головного мозга / Зозу-  
ля Ю.А., Барабой В.А., Сутковой Д.А. - М. Медици-  
на. - 2000. - С. 87-96.  
Поварова О.В., Каленикова Е.И., Городецкая Е.И. и  
др. Антиоксиданты и нейропротекторы при ише-  
мическом инсульте // Экспер. и клиническая фар-  
макология. - 2003. - Т. 66, № 3. - С. 69-73.  
Туляков В.О., Зупанець К.О., Шебеко С.К. Фарма-  
кологічні властивості глюкозаміну: мембраностабі-  
лізуючі, протизапальні, антиоксидантні і імунотро-  
пні // Фармакологія та лікарська токсикологія. -  
2009. - № 2. - С. 3-6.  
Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов  
при парентеральных способах введения // Токси-  
кология новых промышленных химических ве-  
ществ. - 1973. - Вып. 13. - С. 47-51.  
(57) Застосування похідних глюкозаміну як цереб-  
ропротекторних засобів.

Винахід належить до фармації та медицини, а  
саме до засобів з церебропротекторною дією і  
може бути використаний у комплексній терапії  
хворих на судинні захворювання головного мозку,  
зокрема для лікування та профілактики ішемії го-  
ловного мозку.

Ішемія головного мозку розвивається внаслі-  
док зниження мозкового кровопостачання і змен-  
шення доставки кисню у клітини мозку [1]. Послаб-  
лення, а тим більше, зупинка доставки кисню  
мозковій тканині призводить до глибоких порушень  
її функціональної активності та перебігу біохіміч-  
них процесів, внаслідок чого страждає перш за все  
біосинтез макроергів. Дефіцит макроергів "розпо-  
чинає" патобіохімічний каскад, що призводить до

накопичення внутрішньоклітинного кальцію, що, у  
свою чергу, веде до перенавантаження мітохонд-  
рій з розходженням окислювального фосфорилю-  
вання та підсилення катаболічних процесів [2].  
Дефіцит енергії супроводжується відчиненням  
іонних каналів, через які всередину клітини надхо-  
дить не тільки велика кількість кальцію, але й на-  
трію, що призводить до набряку клітини. За таких  
умов прогресуючого характеру набуває активація  
перекисного окиснення ліпідів, зрушення обміну  
нейромедіаторів та електролітів, що в решті решт  
завершується некробіозом нейронів [3].

Саме тому сучасна фармакотерапія церебра-  
льної ішемії передбачає корекцію основних ланок  
каскаду патологічних гемодинамічних і метаболіч-

(13) C2  
(11) 94528  
(19) UA

них зрушень. Останнє може забезпечуватися застосуванням препаратів метаболічної дії [4, 5, 6].

Як метаболічні засоби широко застосовуються у сучасній клінічній практиці рибоксин (інозин), предуктал (триметазидин), мілдронат (триметилгідрозинію пропіонат), АТФ-лонг. Дані препарати призначають у комплексній терапії ішемічної хвороби серця та головного мозку [7].

Проте зазначені засоби, як і більшість засобів синтетичного походження, мають негативну побічну дію. Так, рибоксин, як пуриновий нуклеозид, викликає підвищення вмісту сечової кислоти у крові. Прийом АТФ-лонг може супроводжуватися гіперкаліємією і гіпермагніємією. Предуктал іноді викликає диспепсичні явища (нудоту, блювоту). У деяких пацієнтів позначається індивідуальна непереносимість триметилгідрозинію пропіонату (мілдронату), про що свідчать свербіж шкіри, диспепсія, тахікардія. Загальним недоліком усіх вище перерахованих засобів є односпрямованість їх дії, тоді як багатокомпонентність змін, що спостерігаються при ішемічних процесах, передбачає застосування політропних метаболічних засобів, які впливають одночасно на різні системи та органи [8, 9].

Таким чином, пошук метаболітотропних препаратів, що мають високу ефективність та добре переносяться, є одним із стратегічних напрямів сучасної фармакології [5].

Відомі похідні аміноцукру глюкозаміну - гідрохлорид та сульфат (2-дезоксид-2-аміно-D(+)-глюкози гідрохлорид та сульфат), які належать до природних аміноцукрів, входять до складу полісахаридів, глюкозаміногліканів, глікопротеїнів, ліпополісахаридів, до структури біологічних мембран, міжклітинної речовини, матриксу суглобового хряща та інших елементів сполучнотканинного походження живих організмів, таким чином виконуючи пластичну функцію [10]. Вони є природними метаболітами людини, практично безпечними для організму, добре засвоюються, не викликаючи суттєвих побічних ефектів. За класифікацією К.К. Сидорова похідні глюкозаміну належать до групи практично нетоксичних речовин [11]. Вони проявляють протизапальну активність, а також мають виражену мембранопротекторну, антиоксидантну [12] та хондропротекторну [13] дію і можуть ефективно використовуватись як гастро- та гепатопротектори, кардіопротектори, нефропротектори [10].

У сучасній клінічній практиці похідні глюкозаміну застосовуються як хондропротектори у лікуванні обмінно-дистрофічних захворювань суглобів [14, 15].

З джерел інформації невідома церебропротекторна дія похідних глюкозаміну.

Задачею винаходу є виявлення нових засобів церебропротекторної дії, які мають широкий спектр фармакологічних активностей, є нетоксичними та не мають шкідливого побічного впливу на організм.

Поставлена задача вирішується шляхом застосування похідних глюкозаміну як церебропротекторних засобів.

Авторами вперше було досліджено невідому церебропротекторну дію похідних глюкозаміну.

Дослідним шляхом було доведено церебропротекторну дію похідних глюкозаміну у її різних аспектах: наявність антиамнестичного ефекту, вплив на перебіг гострого порушення мозкового кровообігу, на показники вуглеводного обміну та стан антиоксидантної системи у тканинах мозку.

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1.

Наявність церебропротекторної дії похідних глюкозаміну вивчали шляхом оцінки їх властивості виявляти антиамнестичну активність на моделі амнезії у дослідних щурів, викликаній введенням атропіну (40 мг/кг) [16]. Глюкозаміну гідрохлорид вводили у дозі 50 мг/кг, 100 мг/кг, 200 мг/кг. Глюкозаміну сульфат вводили у дозі 50 мг/кг.

У всіх інтактних щурів до проведення експерименту розвивали умовний рефлекс пасивного уникнення (УРПУ) та реєстрували його відтворення через 24 години після навчання [16]. Визначали латентний період (ЛП) переходу тварин зі світлого відсіку камери у темний. Дослідження показали, що введення атропіну після навчання УРПУ викликає забування навички у контрольних тварин при відтворенні через 24 години після навчання.

Було сформовано дослідні групи по 10 щурів у кожній: група інтактного контролю (без амнезії), група контрольної патології (тварини, що не отримували лікування), групи тварин, що одержували глюкозаміну гідрохлорид у дозах 50 мг/кг, 100 мг/кг, 200 мг/кг, та група, що отримувала глюкозаміну сульфат після відтворення модельної амнезії. Результати дослідження наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Антиамнестична активність глюкозаміну гідрохлориду, відтворення через 24 години (n=60)

Досліджувана група	Латентний період рефлексу при відтворенні УРПУ, сек.
Інтактний контроль (без амнезії)	195,6±12,6
Контрольна патологія	25,2±2,1**
Глюкозаміну гідрохлорид (50 мг/кг)	86±3,3*
Глюкозаміну гідрохлорид (100 мг/кг)	70,6±4,3*
Глюкозаміну гідрохлорид (200 мг/кг)	64,1±3,2*
Глюкозаміну сульфат (50 мг/кг)	80±2,1*.

Примітка: \* -  $p < 0,05$  відносно контрольної патології.

\*\* -  $p < 0,05$  відносно групи інтактного контролю.

Застосування глюкозаміну гідрохлориду та глюкозаміну сульфату в дозі 50 мг/кг викликало значне збільшення ЛП порівняно з контрольними тваринами. Дози 100 та 200 мг/кг виявились менш ефективними.

Аналіз даних Таблиці 1 свідчить, що застосування похідних глюкозаміну обумовило значне збільшення ЛП у порівнянні з групою контрольної патології, що свідчить про наявність у похідних глюкозаміну вираженої антиамнестичної активнос-

ті. Дещо більш виражену антиамнестичну активність серед похідних глюкозаміну має глюкозаміну гідрохлорид у дозі 50 мг/кг.

У групах, у яких показник ЛП був найбільшим, а саме у групах тварин, що отримували похідні глюкозаміну у дозах 50 мг/кг, було вивчено їх антиамнестичну активність на тлі довготривалого застосування. Дані дослідження на 18 добу експерименту наведені у Таблиці 2.

Таблиця 2

Антиамнестична активність похідних глюкозаміну при відтворенні УРПУ, на 18-ту добу ішемії (n=40)

Досліджувана група	Латентний період рефлексу при відтворенні УРПУ, сек.
Інтактний контроль	210,3±14,8
Контрольна патологія	32±1,1**
Глюкозаміну гідрохлорид (50 мг/кг)	76,7±10,3*
Глюкозаміну сульфат (50 мг/кг)	72,4±8,1*

Примітка: \* -  $p < 0,05$  відносно контрольної патології.

\*\* -  $p < 0,05$  відносно групи інтактного контролю.

Застосування методики УРПУ на моделі гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК) на 18-ту добу виявило, що глюкозаміну гідрохлорид та глюкозаміну сульфат в дозі 50 мг/кг більше ніж удвічі збільшують латентний період заходу тварин у темний відсік у порівнянні з групою контрольної патології.

Проведені дослідження доводять наявність у похідних глюкозаміну антиамнестичної активності. Дещо більш вираженою антиамнестичною активністю серед похідних глюкозаміну володіє глюкозаміну гідрохлорид.

Приклад 2.

Було вивчено вплив похідних глюкозаміну на перебіг гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК) у щурів. ГПМК моделювали двосторонньою перев'язкою загальних сонних артерій, яку виконували під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг) з використанням хірургічного доступу шляхом виділення сонних артерій та одномоментного

накладання на них шовкової лігатури [16]. Референтним препаратом був вибраний сучасний метаболітний препарат мексидол, що має протиішемічну та антиоксидантну дію та широко застосовується у сучасній медицині [8]. Глюкозаміну гідрохлорид і глюкозаміну сульфат вводили щурам внутрішньошлунково у дозах 50 мг/кг на тлі модельної патології 1 раз на добу одразу після перев'язки артерій та ще протягом 3-х діб. Мексидол вводили внутрішньошлунково у дозі 100 мг/кг за такою ж схемою.

Двостороння перев'язка загальних сонних артерій викликала важкі неврологічні зміни у тварин: паралічі, парези, птоз, з максимальним проявом на 4-ту добу. Ступінь тяжкості неврологічних змін оцінювали у балах за шкалою С.Р. McGraw [16]. Як інший критерій оцінки церебропротекторної дії досліджуваних засобів вибрано кількість тварин, що вижили на 4-ту добу досліду. Дані експерименту наведені у Таблиці 3.

Таблиця 3

Вплив досліджуваних речовин на виживаність та розвиток неврологічного дефіциту у тварин у різні строки після ГПМК (n=80)

Досліджувана група	Середній бал за шкалою С.Р. McGraw		Кількість тварин, що вижили на 4-ту добу	
	Через 1 добу	4-та доба	%	n
Контрольна патологія	10,1±1,41	17,66±2,02	30	6
Глюкозаміну гідрохлорид	7,45±0,88	5,62±0,59*	70	14
Глюкозаміну сульфат	7,38±0,76	5,8±0,45*	70	14
Мексидол	7,75±1,22	6,71±0,47*	70	14

Примітка: \* -  $p < 0,05$  відносно контролю.

Таким чином, проведеними дослідженнями встановлено, що введення похідних глюкозаміну збільшує виживаність тварин з ГПМК (у 2,5 разу у порівнянні з контрольною патологією) та сприяє

регресу неврологічного дефіциту у гострому періоді - протягом перших 4-х діб.

Похідні глюкозаміну виявили церебропротекторну дію на рівні мексидолу, але перевершили

його за здатністю знижувати ступінь неврологічної симптоматики.

Приклад 3.

У ході досліджень був вивчений вплив похідних глюкозаміну на показники вуглеводно-енергетичного обміну у тканинах мозку щурів на 4-ту добу після білатеральної перев'язки загальних сонних артерій (продовження експерименту, наведеного у Прикладі 2).

Дослідження проводили у 5-ти групах: група інтактних тварин та групи тварин, що вижили (Табл. 3): контрольна група з ГПМК, групи тварин з

ГПМК, що отримували відповідно глюкозаміну гідрохлорид, глюкозаміну сульфат та мексидол.

Однією з перших реакцій на зниження мозкового кровотоку внаслідок перев'язки загальних сонних артерій є енергетичний дефіцит, порушення вуглеводного обміну та, як наслідок, розвиток лактат-ацидозу. Це проявляється у зниженні вмісту аденозинтрифосфату (АТФ) та аденозиндифосфату (АДФ) у головному мозку на тлі збільшення концентрації аденозинмонофосфату (АМФ). Вплив досліджуваних засобів на зазначені показники на 4-ту добу дослідів наведені у Таблиці 4.

Таблиця 4

Вплив досліджуваних речовин на показники енергетичного обміну у головному мозку на 4-ту добу після ГПМК

Досліджувана група	Показники енергетичного обміну (мкмоль/г)		
	АТФ	АДФ	АМФ
Інтактний контроль	2,86±0,06	0,46±0,01	0,132±0,004
Контрольна патологія	0,89±0,05***	0,26±0,02***	0,215±0,008***
Глюкозаміну гідрохлорид	2,59±0,06**	0,36±0,02**	0,137±0,007*
Глюкозаміну сульфат	2,47±0,04**	0,32±0,01**	0,139±0,009**
Мексидол	2,12±0,08*	0,28±0,02	0,156±0,007.*

Примітка: \* -  $p < 0,05$  відносно контролю.

\*\* -  $p < 0,05$  відносно мексидолу.

\*\*\* -  $p < 0,05$  відносно групи інтактного контролю.

Дослідження проводились на тканинах мозку дослідних тварин, виведених з експерименту на 4-ту добу дослідів. Як свідчать отримані дані, двобічна перев'язка загальних сонних артерій супроводжувалась вираженим порушенням енергетичного обміну у клітинах мозку.

У групі контрольної патології на 4 добу експерименту рівень АТФ знизився у 3,2 разу (0,89±0,05 мкмоль/г при 2,86±0,06 мкмоль/г у інтакту), а АДФ майже у 1,8 разу (0,26±0,02 мкмоль/г при 0,46±0,01 мкмоль/г у інтактних тварин). Зміни показників достовірні ( $p < 0,05$ ). У той же час встановлено збільшення концентрації АМФ до 0,215±0,008 мкмоль/г, у порівнянні з 0,132±0,004 мкмоль/г у групі інтактних щурів ( $p < 0,05$ ). Зсуви у вмісті аденілових нуклеотидів свідчать про формування значного енергодефіцитного стану.

На тлі застосування референтного препарату мексидол також відбувались зміни рівня нуклеотидів. Концентрація АТФ склала 2,12±0,08 мкмоль/г, що було достовірно ( $p < 0,05$ ) нижче, ніж у інтактних тварин, але в той же час, статистично значуще ( $p < 0,05$ ) перевищувало показник контрольної групи. Рівень АДФ достовірно знизився (до 0,28±0,02 мкмоль/г) порівняно до інтакту та статистично значуще не відрізнявся від контрольної групи ( $p > 0,05$ ). Концентрація АМФ (0,156±0,007 мкмоль/г) була

вище, ніж у інтактних тварин, проте достовірно менше ( $p < 0,05$ ), ніж у контролі.

У групі тварин, що отримували глюкозаміну гідрохлорид, зниження вмісту АТФ було найменше вираженим - 2,59±0,06 мкмоль/г, причому показник був достовірно більше ( $p < 0,05$ ), ніж у контролі та групі щурів, що отримували мексидол. Рівень АДФ склав 0,36±0,02 мкмоль/г (достовірно більше порівняно до мексидолу та контролю), а концентрація АМФ - 0,137±0,007 мкмоль/г, що достовірно менше ( $p < 0,05$ ), ніж у контролі.

На тлі застосування глюкозаміну сульфату динаміка показників енергетичного обміну мала однакову тенденцію з групою глюкозаміну гідрохлориду. Вміст АТФ на 4 добу дослідження склав 2,47±0,04 мкмоль/г, що достовірно більше ( $p < 0,05$ ), ніж у контролі та у групі референтного препарату. Рівень АДФ склав 0,32±0,01 мкмоль/г, що достовірно менше ( $p < 0,05$ ), порівняно до контролю та мексидолу. Концентрація АМФ досягла 0,139±0,009 мкмоль/г, що достовірно нижче, ніж у контролі.

Аналогічним чином на тканинах мозку експериментальних тварин вивчали зміни стану вуглеводного обміну за показниками: піруват, лактат, малат. Результати наведені у Таблиці 5.

Таблиця 5

Вплив досліджуваних речовин на показники вуглеводного обміну у головному мозку на 4 добу після ГПМК

Досліджувана група	Показники вуглеводного обміну (мкмоль/г)		
	Піруват	Лактат	Малат
Інтактний контроль	0,48±0,008	2,61±0,08	0,26±0,007
Контрольна патологія	0,22±0,01***	8,46±0,29***	0,105±0,002***
Глюкозаміну гідрохлорид	0,4±0,009**	5,05±0,15**	0,17±0,002**
Глюкозаміну сульфат	0,38±0,007**	5,1±0,13**	0,18±0,001**
Мексидол	0,26±0,007*	6,28±0,15*	0,118±0,002*

Примітка: \* -  $p < 0,05$  відносно контролю.

\*\* -  $p < 0,05$  відносно мексидолу.

\*\*\* -  $p < 0,05$  відносно групи інтактного контролю.

Порушення енергетичного метаболізму при ГПМК призводить до компенсаторної активації анаеробного гліколізу. На четверту добу після ГПМК у групі контрольної патології відзначалось збільшення концентрації лактату в 3,2 разу, у порівнянні з інтактними тваринами (8,46±0,29 мкмоль/г та 2,61±0,08 мкмоль/г відповідно) при зниженні вмісту пірувату у 2,2 разу (0,22±0,01 мкмоль/г при 0,48±0,008 мкмоль/г у інтакту) та малату у 2,6 разу (0,10±0,002 мкмоль/г при 0,26±0,007 мкмоль/г у інтакту). Зсуви усіх показників достовірні ( $p < 0,05$ ). Виявлені зміни свідчили про активацію анаеробного шляху утворення енергії у клітинах мозку.

У групі тварин, що отримували мексидол, рівень лактату підвищився у 2,4 разу (до 6,28±0,15 мкмоль/г) у порівнянні з інтактним контролем ( $p < 0,05$ ), однак він був достовірно менше ( $p < 0,05$ ), ніж у контрольній групі. Ступінь зниження рівнів пірувату (до 0,26±0,007 мкмоль/г) та малату (до 0,12±0,002 мкмоль/г) статистично значно ( $p < 0,05$ ) був менше, ніж у контролі.

На тлі застосування глюкозаміну гідрохлориду, вміст лактату збільшився у 1,9 разу (до 5,05±0,15) мкмоль/г, але був достовірно ( $p < 0,05$ ) нижче, ніж у контролі та у тварин, що отримували мексидол. Концентрація пірувату склала 0,4±0,009 мкмоль/г, а малату - 0,17±0,002 мкмоль/г. Показники були достовірно ( $p < 0,05$ ) вище, ніж у контролі та групі тварин, що отримували мексидол.

У групі щурів, що отримували глюкозаміну сульфат, динаміка показників вуглеводного обміну мала однакоvu тенденцію з такою у групі тварин, що отримували глюкозаміну гідрохлорид. Рівень

лактату склав 5,1±0,13 мкмоль/г, що достовірно нижче, ніж у контролі та у групі тварин, що отримували референтний препарат. Рівні пірувату та малату склали 0,38±0,007 мкмоль/г та 0,18±0,001 мкмоль/г відповідно, що достовірно ( $p < 0,05$ ) вище, ніж у контролі та групі тварин, що отримували мексидол.

Наведені дані свідчать про те, що похідні глюкозаміну мають властивість оптимізувати процеси енергоутворіння у головному мозку, чим забезпечується церебропротекторний ефект.

Приклад 4.

Було досліджено вплив похідних глюкозаміну на показники окисної модифікації білків, пероксидного окиснення ліпідів та стан антиоксидантної системи у тканинах мозку лабораторних тварин (продовження експерименту, наведеного у Прикладі 2). Дослідження проводили у 5-ти групах: група інтактних тварин та групи тварин, що вижили: контрольна група з ГПМК, групи тварин з ГПМК, що отримували відповідно глюкозаміну гідрохлорид, глюкозаміну сульфат та мексидол.

Перекисне окиснення ліпідів є одним з механізмів вільнорадикального ушкодження тканин мозку, про активність якого свідчить рівень його проміжних та кінцевих продуктів - дієнових кон'югатів (ДК), триєнкетонів (ТК) та ТБК-реактивів [7]. За даними літератури в умовах ГПМК, внаслідок активації процесів ВРО, відбувається підвищення маркерів ПОЛ - ТБК-реактивів, ДК та ТК, що підтвердилось результатами й власних досліджень, (Таблиця 7).

Таблиця 7

Вплив досліджуваних речовин на активність процесів ПОЛ у головному мозку тварин на 4-ту добу

Досліджувана група	Маркери ПОЛ (мкмоль/г)		
	ТБК-реактанти	ДК	ТК
Інтактний контроль	0,53±0,02	1,22±0,09	0,47±0,01
Контрольна патологія	1,23±0,04***	2,56±0,18***	1,26±0,09***
Глюкозаміну гідрохлорид	0,72±0,05**	1,73±0,11*	0,57±0,03**

Продовження таблиці 7

Глюкозаміну сульфат	0,70±0,08*	1,68±0,12*	0,52±0,04**
Мексидол	0,86±0,03*	1,95±0,13*	0,74±0,06*.

Примітка: \* -  $p < 0,05$  відносно контролю.\*\* -  $p < 0,05$  відносно мексидолу.\*\*\*  $p < 0,05$  відносно групи інтактного контролю.

У контрольній групі на 4 добу після перев'язки сонних артерій концентрація ТБК-реактивів підвищилась майже у 2,5 разу - до  $1,23 \pm 0,04$  мкмоль/г (при  $0,53 \pm 0,02$  мкмоль/г у інтактних тварин), ДК у 2 рази -  $2,56 \pm 0,18$  мкмоль/г ( $1,22 \pm 0,09$  мкмоль/г в групі інтактного контролю), ТК у 2,5 разу -  $1,26 \pm 0,09$  мкмоль/г ( $0,47 \pm 0,01$  мкмоль/г в групі інтактного контролю). Усі зсуви показників вірогідні ( $p < 0,05$ ).

У групі тварин, що отримували мексидол на четверту добу рівень ТБК-реактивів склав  $0,86 \pm 0,03$  мкмоль/г, ДК  $1,95 \pm 0,13$  мкмоль/г та ТК  $0,74 \pm 0,06$  мкмоль/г, що було достовірно вище ( $p < 0,05$ ), ніж у групі інтактних тварин, однак вираженість змін показників була достовірно ( $p < 0,05$ ) менше, ніж у контролі.

Введення похідних глюкозаміну також гальмувало розвиток ВРО.

У групі тварин, що отримували глюкозаміну гідрохлорид, на 4-ту добу після ГПМК концентрація ТБК-реактивів склала  $0,72 \pm 0,05$  мкмоль/г, ТК  $0,57 \pm 0,03$ , що було достовірно нижче ( $p < 0,05$ ), у порівнянні як з контрольною групою, так і з групою

тварин, що отримували мексидол. Концентрація ДК склала  $1,73 \pm 0,11$  мкмоль/г, що достовірно нижче порівняно до контрольної групи.

У групі глюкозаміну сульфату на 4 добу дослідження рівень ТБК-реактивів склав  $0,70 \pm 0,08$  мкмоль/г, ТК  $0,52 \pm 0,04$  мкмоль/г, що було достовірно нижче ( $p < 0,05$ ) порівняно до контролю та референтного препарату. Рівень ДК склав  $1,68 \pm 0,12$  мкмоль/г, що достовірно ( $p < 0,05$ ) нижче, ніж у групі контрольної патології.

Таким чином, встановлена наявність у похідних глюкозаміну властивості в умовах ГПМК гальмувати розвиток ПОЛ, що виражається у зниженні концентрації маркерів ПОЛ на 4 добу спостереження.

Вільнорадикальне окиснення - процес, що охоплює не тільки ліпідну фракцію тканин мозку, але й торкається також протеїнів мозкової тканини, про що свідчили зміни концентрації маркерів окиснювальної модифікації білків альдегідфенілгідрозону (АФГ) та кетонфенілгідрозону (КФГ) у тканинах мозку дослідних тварин (Табл. 8).

Таблиця 8

Вплив досліджуваних речовин на концентрацію маркерів ОМБ в умовах ГПМК на 4-ту добу

Досліджувана група	Маркери ОМБ (у.о./г/білка)	
	АФГ	КФГ
Інтактний контроль	0,86±0,11	0,56±0,05
Контрольна патологія	2,41±0,17***	1,89±0,16***
Глюкозаміну гідрохлорид	1,2±0,14**	0,68±0,11*
Глюкозаміну сульфат	1,21±0,2**	0,68±0,16*
Мексидол	1,72±0,12*	0,73±0,09*.

Примітка: \* -  $p < 0,05$  відносно контролю.\*\* -  $p < 0,05$  відносно мексидолу.\*\*\* -  $p < 0,05$  відносно групи інтактного контролю.

В умовах моделі патології та активізації ВРО на четверту добу експерименту відбувалось достовірне ( $p < 0,05$ ) підвищення концентрації АФГ до  $2,41 \pm 0,17$  у.о./г/білка у порівнянні з  $0,86 \pm 0,11$  у.о./г/білка у інтактних тварин та КФГ до  $1,89 \pm 0,16$  у.о./г/білка ( $0,56 \pm 0,05$  у.о./г/білка в групі інтактного контролю).

На 4 добу спостереження у групі тварин, що отримували референтний препарат мексидол, рівень АФГ склав  $1,72 \pm 0,12$  у.о./г/білка, а КФГ  $0,73 \pm 0,09$  у.о./г/білка. Хоча показники були достовірно ( $p < 0,05$ ) вище, ніж у інтактних тварин, але в той же час, вони достовірно ( $p < 0,05$ ) менше, ніж у групі контрольної патології.

На тлі застосування глюкозаміну гідрохлориду також відмічалось збільшення концентрації маркерів окиснювальної модифікації білків - АФГ до  $1,2 \pm 0,14$  у.о./г/білка та КФГ до  $0,68 \pm 0,11$  у.о./г/білка, однак вираженість цих зсувів була достовірно менше ( $p < 0,05$ ), ніж у групі контрольної патології.

У групі глюкозаміну сульфату також динаміка маркерів окиснювальної модифікації білків мала схожу тенденцію з групою глюкозаміну гідрохлориду - рівень АФГ склав  $1,21 \pm 0,2$  та КФГ до  $0,68 \pm 0,16$ , проте вираженість цих зсувів була достовірно менше ( $p < 0,05$ ), ніж у групі контрольної патології.

Таким чином, виявлено гальмівну дію похідних глюкозаміну на окисну модифікацію білків, що проявлялась достовірно нижчим рівнем її маркерів на 4 добу експерименту.

Активация антиоксидантної системи головного мозку є одним з захисних механізмів за умов ішемії. Але у випадку ГПМК, викликаної двобічною

оклюзією загальних сонних артерій, можливості власної антиоксидантної системи обмежені, що відобразилось у різкому зниженні рівня антиоксидантних ферментів каталази (КТ) та супероксиддисмутази (СОД) у тканинах мозку дослідних тварин (Табл. 9).

Таблиця 9

Активність антиоксидантної системи у тканинах головного мозку експериментальних тварин на 4-ту добу після білатеральної перев'язки загальних сонних артерій

Досліджувана група	Антиоксидантні ферменти	
	Каталаза (нмоль/л)	СОД (у.о./мг білка/хв)
Інтактний контроль	7,7±0,23	208,44±9,99
Контрольна патологія	2,59±0,22***	75,51±3,85***
Глюкозаміну гідрохлорид	4,62±0,2**	145,78±13,24**
Глюкозаміну сульфат	4,58±0,5*	144,5±10,4**
Мексидол	3,64±0,13*	110,48±2,52*

Примітка: \* -  $p < 0,05$  відносно контролю.

\*\* -  $p < 0,05$  відносно мексидолу.

\*\*\* -  $p < 0,05$  відносно групи інтактного контролю.

Дані Таблиці 9 свідчать, що у групі контрольної патології на 4-ту добу експерименту концентрація КТ склала 2,59±0,22 нмоль/л, що було у 3 рази менше у порівнянні з інтактним контролем (7,7±0,23 нмоль/л), а СОД у 1,5 разу менше: 75,51±3,85 проти 208,44±9,99.

У групі тварин, що отримували мексидол, відзначалось зниження концентрації як КТ (до 3,64±0,13 нмоль/л), так і СОД (до 110,48±2,52). Однак, зсуви показників були менш виражені та достовірно ( $p < 0,05$ ) відрізнялись від контролю.

На тлі введення глюкозаміну гідрохлориду рівень антиоксидантних ферментів знижувався (КТ до 4,62±0,2 нмоль/л та СОД до 145,78±13,24) достовірно ( $p < 0,05$ ) менш виражено, як у порівнянні з контролем, так і у порівнянні з тваринами, що отримували мексидол.

У групі тварин, що отримували глюкозаміну сульфат, рівень КТ склав 4,58±0,5 нмоль/л, що було достовірно ( $p < 0,05$ ) більше, ніж у групі контрольної патології. Рівень СОД досягав 144,5±10,4 у.о./мг білка/хв, що достовірно ( $p < 0,05$ ) перевищувало рівень СОД як у групі контролю, так і у групі референтного препарату.

Таким чином, встановлено властивість похідних глюкозаміну підвищувати активність антиоксидантного захисту організму, реалізуючи свою дію через каталазу та супероксиддисмутазу.

Наведені у прикладах дані свідчать про те, що похідні глюкозаміну в умовах ГПМК чинять гальмівний вплив на процеси ВРО у тканинах головного мозку. Про це свідчить зниження концентрації кінцевих продуктів ПОЛ та маркерів окислювальної модифікації білків. Похідні глюкозаміну також мають властивість активізувати антиоксидантні ферменти - каталазу та супероксиддисмутази - у головному мозку в умовах ішемії. Нормалізуючий вплив на ВРО може лежати в основі церебропротекторного ефекту похідних глюкозаміну.

Особливості механізму церебропротекторної дії похідних глюкозаміну, на думку авторів, можуть бути також пояснені тим, що глюкозамін (у ацетилованій та сульфатованій формах) входячи до складу глюкозаміногліканів, які вкривають поверхню базальної мембрани нейроцитів, не тільки виконує захисну (мембранопротекторну) функцію, а й сприяє утворенню негативного заряду на базальній мембрані, що перешкоджає масованому проникненню крізь неї кальцію та натрію, тобто гальмує розвиток важких біохімічних зрушень в умовах ГПМК. Таким чином, винахід розширює арсенал церебропротекторних засобів за рахунок застосування похідних глюкозаміну (гідрохлориду та сульфату) як засобів з церебропротекторною дією. Такі засоби мають ефективну терапевтичну дію, добре засвоюються, є нетоксичними, не викликають побічних ефектів, додатково мають широкий спектр фармакологічних активностей, здійснюючи багатоспрямований позитивний вплив на організм.

Джерела інформації:

1. Pharmacology of cerebral ischaemia / Kreglstein J., Oberpichler-Schwenk H. - Stuttgart, Germany: Wissenschaftliche Verlags Gesellschaft. - 2002. - P. 15-26.
2. Ишемия головного мозга / Гусев Е.И., Скворцова В.И. - М.: Медицина, 2001. - С. 42-58.
3. Muir K.W., Tyrrell P., Sattar N. et al. Inflammation and ischaemic stroke // Curr. Opin. Neurol. - 2007. - № 20. - P. 334-342.
4. Верткин А.Л., Наумов А.В., Шауилова М.М. и др. Нейропротективная терапия в остром периоде инсульта: шаг вперед // Международный неврологический журнал. - 2007. - № 4 (14). - с. 53-58.
5. De la Ossa N.P., Davalos A. Neuroprotection in cerebral infarction: the opportunity of new studies // Cerebrovasc. Dis. - 2007. - № 24. - P. 153-156.
6. Shah I.M., Macrae M., Di Napoli M. Neuroinflammation and neuroprotective strategies in

acute ischaemic stroke - from bench to bedside // Curr. Mol. Med. - 2009. - № 9. - P. 336-354.

7. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга / Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковой Д.А. - М. Медицина. - 2000. - с. 87-96.

8. Компендиум 2008 - лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. В двух томах. - К.: МОРИОН, 2008. - Т. 2. - С. 144.

9. Поварова О.В., Каленикова Е.И., Городецкая Е.И. и др. Антиоксиданты и нейропротекторы при ишемическом инсульте // Экспер. и клиническая фармакология. - 2003. - Т. 66, № 3. - С. 69-73.

10. Туляков В.О., Зупанець К.О., Шебеко С.К. Фармакологічні властивості глюкозаміну: мембраностабілізуючі, протизапальні, антиоксидантні і імунотропні // Фармакологія та лікарська токсикологія. - 2009. - № 2. - С. 3-6.

11. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения // Токсикология новых промышленных химических веществ. - 1973. - Вып. 13. - С. 47-51.

12. Meininger C.J., Kelly K.A., Li H et al. Glucosamine inhibit inducible nitric oxide synthesis // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 2000. - № 279. - P. 234-239.

13. Lakhan S.E., Kirchgessner A., Hofer M. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: therapeutic approaches // J. Transl. Med. - 2009. - № 17. - P. 7-97.

14. Vangsness C.T. Jr., Spiker W., Erickson J. A review of evidence-based medicine for glucosamine and chondroitin sulfate use in knee osteoarthritis // Arthroscopy. - 2009. - № 25 (1). - P. 86-94.

15. Herrero-Beaumont G., Ivorra J.A., Del Carmen Trabado M. et al. Glucosamine sulfate in the treatment of knee osteoarthritis symptoms: a randomized, double-blind, placebo-controlled study using acetaminophen as a side comparator // Arthritis Rheum. - 2007. - № 56. - P. 555-567.

16. Буреш Я., Бурешова О., Дж.Н. Хьюстон. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. - Высшая школа, Москва. - 1991 - С. 135-240.