

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова

Факультет хімії та фармації

Кафедра фармакології та технології ліків

Д и п л о м н а р о б о т а

на здобуття ступеня вищої освіти «магістр»

на тему: **«Методологія дослідження залежності «Доза-ефект» при аналізі потенційних лікарських засобів».**

Виконала: студентка заочної форми навчання
спеціальності 102 «Хімія»

Платовська Ірина Вікторівна

Керівник: д.мед. н., проф. Грицук О.І. _____
(підпис)

Рецензент: д.б. н., снс. Ларіонов В.Б.

Рекомендовано до захисту:
протокол засідання кафедри
№ ____ від _____ 2020 р.

Захищено на засіданні ЕК № ____
протокол № ____ від «____» _____ 2020 р.
Оцінка _____ / _____ / _____
(за національною шкалою/ за шкалою ECTS/ бал)

Завідувач кафедри
_____ проф. Грицук О.І.
(підпис)

Голова ЕК
_____ д. х.н., проф. Марцинко О.Е.
(підпис)

Одеса – 2020

Реферат

Кваліфікаційна робота присвячена дослідженню залежності «доза-ефект» для сполуки – похідної алкілпіперазину з норборненовим фрагментом.

Метою роботи було встановлення залежності «доза-фармакологічний ефект» для похідного арилпіперазину з норборненовим фрагментом на моделях «Конфліктної ситуації» та «Відкритого поля».

Показано, що дієва доза досліджуваної сполуки складає 3 та 5 мг/кг. в дозі 3 мг/кг її анксиолітичний ефект в 2,5 рази перевищував рівень контролю, але був нижчим від рівня буспірону в дозі 10 мг/кг на 43%, а в дозі 5 мг/кг анксиолітичний ефект сполуки максимальний, - кількість ноцицептивних актів взяття води перевищував рівень контролю на 280% і достовірно не відрізнявся від рівня буспірону в дозі 10 мг/кг.

Кваліфікаційну роботу «Методологія дослідження залежності «Доза-ефект» при аналізі потенційних лікарських засобів» викладено на 49 сторінках друкованого тексту, вона включає 11 рисунків та 1 таблицю. В роботі наведено посилання на 37 публікацій.

СПИСОК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ФАР	– фармакологічно активні речовини
АФІ	– активний фармакологічний інгредієнт
LD ₅₀	– доза, що викликає загибель у 50% досліджуваної вибірки
TD ₅₀	– доза, що обумовлює терапевтичний ефект у 50% досліджуваної вибірки
БАР	– біологічно активна речовина
ЛП	– лікарський препарат
ОД	– одиниці вимірювання
ВНД	– вища нервова діяльність
НМД	– надмалі дози

ЗМІСТ

ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	8
1.1. Розвиток фармакологічного ефекту як відповідь організму	8
1.2. Питання дозування.....	10
1.3. Призначення та роль досліджень залежності «доза–ефект»	14
1.3.1. Використання відомостей про залежність «доза-ефект» при виборі доз.....	15
1.3.2. Використання результатів дослідження залежності «концентрація-ефект».....	16
1.3.3. Труднощі, обумовлені використанням різних дизайнів для підбору дози.....	18
1.3.4. Взаємодія між залежністю «доза-ефект» та часом.....	19
1.4. Характеристика «парадоксальної» залежності «Доза-ефект».....	20
1.4.1. Історія дослідження «парадоксальної» токсичності	20
1.4.2. Механізми «парадоксальних» ефектів.....	25
1.4.3. Прогнозування «парадоксальних» ефектів.	28
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	31
2.1. Матеріали.....	31
2.2. Методи.....	32
2.2.1 Методика визначення орієнтовно-дослідницької поведінки за методом "Відкрите поле" в дослідях <i>in vivo</i> на щурах.....	32
2.2.2. Методика "Конфліктна ситуація " Вогеля (модифікація Вороніної) в дослідях <i>in vivo</i> на щурах при внутрішньоочеревному введенні.....	33
2.2.3. Статистична обробка результатів дослідження.....	34
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	35
3.1. Встановлення залежності рівня анксиолітичної активності від дози введеної сполуки на прикладі похідного з норборненовим фрагментом	37

3.2. Встановлення залежності «доза-анксиолітичний ефект»	41
ВИСНОВКИ.....	44
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	45

ВСТУП

На сьогодні фармакологія – одна з найважливіших галузей досліджень, що пов'язано з необхідністю пошуку нових безпечних та ефективних терапевтичних засобів для усунення як причин, так і небажаних симптомів захворювань.

Фармакологія тісно пов'язана з фармацевтичною хімією – наукою про хімічну будову і фізико-хімічні властивості лікарських речовин, фармакогнозією – наукою про сировину рослинного і тваринного походження для отримання лікарських засобів, технологією лікарських форм.

Паралельно зі створенням новітніх лікарських засобів чимало уваги приділяють оптимізації терапевтичної дії медикаментів, а саме врахуванню окремих ланок їх фармакокінетики, особливостям процесів транспорту та метаболізму[1].

Розробка режиму дозування потенційного лікарського засобу на стадії його доклінічного дослідження є ключовим, трудомістким та відповідальним етапом роботи, який гарантує проведення науково-обґрунтованої ефективної та безпечної фармакотерапії [2].

На сучасному етапі розвитку фармакологічної науки для рішення даної проблеми найраціональнішим вважають використання математичного моделювання залежності виживання тварин від часу введення та дози потенційного лікарського засобу [3, 4, 5, 6]. Це, насамперед, дозволяє на основі аналізу математичної моделі суттєво скоротити час дослідження. Статистичний аналіз кривої «доза–ефект» зазвичай виконують методами математичної статистики, такими як пробіт-аналіз, логітаналіз, метод Спірмена-Кербера [7].

Як правило, віддають перевагу моделям, у яких використовують нелінійну апроксимацію порівняно з лінійними або лінеаризованими, навіть якщо емпірична залежність виглядає лінійною в досліджуваному інтервалі доз. Таке дослідження виконують, виходячи з того, що в переважній більшості випадків залежності «доза-ефект» механізми розвитку ефекту є

нелінійними, але розподіл експериментальних даних може виглядати лінійним при деяких специфічних обставинах та/або в деяких інтервалах доз [7, 8, 9].

Для встановлення наявності того чи іншого фармакологічного ефекту використовуються поведінкові методи дослідження [10].

Однією з основних груп психотропних препаратів, що використовуються для лікування тривожних станів ендogenous і екзогенного походження, є анксиолітики. Пошук і дослідження потенційних анксиолітичних засобів, а також підбір оптимальних умов їх використання, зокрема, дозування є актуальною задачею.

Метою роботи було встановлення залежності «доза-фармакологічний ефект» для похідного арилпіперазину з норборненовим фрагментом на моделях «Конфліктної ситуації» та «Відкритого поля».

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Встановити рівень седативних властивостей досліджуваної сполуки в дозі 10 мг/кг за методом «Відкрите поле».
2. Встановити рівень анксиолітичних властивостей досліджуваної сполуки в дозі 10 мг/кг за методом «Конфліктна ситуація».
3. Вивчити профіль анксиолітичного ефекту залежно від дози досліджуваної сполуки на моделі «Конфліктна ситуація».

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що в дозі 10 мг/кг сполука має виражені седативні властивості, оскільки рівень ЗРА складає лише 8,5 % проти контролю

2. Доведено, що досліджувана сполука не лише не володіє анксиолітичною активністю в дозі 10 мг/кг, а, навіть, навпаки призводить до розвитку анксиогенного ефекту, оскільки кількість актів взяття води з поїлки становила лише 13 % від показників контрольної групи тварин.

3. Показано, що дієва доза досліджуваної сполуки складає 3 та 5 мг/кг, в дозі 3 мг/кг її анксиолітичний ефект в 2,5 рази перевищував рівень контролю, але був нижчим від рівня буспірону в дозі 10 мг/кг на 43%, а в дозі 5 мг/кг анксиолітичний ефект сполуки максимальний, - кількість ноцицептивних актів взяття води перевищував рівень контролю на 280% і достовірно не відрізнявся від рівня буспірону в дозі 10 мг/кг.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бондаренко Я.С. Посібник до вивчення курсу «Фармакологія і фармакокінетика» / Я.С. Бондаренко. – Д.: РВВ ДНУ, 2014. – 36 с.
2. Нековаль І.В. Н47 Фармакологія: підручник / І.В. Нековаль, Т.В. Казанюк. — 4-е вид., виправл. — К.: ВСВ «Медицина». - 2011.— 520 с.
3. Криштопенко Д. С. Непараметрический статистический анализ в зависимости доза-эффект / Д. С. Криштопенко, М. С. Тихов // Сборник тезисов: XIV Международной конференции «Математика. Компьютер. Образование».– Пушино, М.– Иж.: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика».– в. 14–2007.– С. 142.
4. U. S. EPA Benchmark Dose Software (BMDS) Version 2.1 User's Manual Version 2.0, DRAFT. Doc No.: 53-BMDS-RPT-0028. — Washington, DC: Office of Environmental Information., 2009.
5. Altshuler B. Modeling of Dose-Response Relationships / B. Altshuler // Environ Health Perspect.– 1981. –V. 42. –P. 23–27.
6. Антомонов М. Ю. Построение зависимости «доза (уровень фактора) – время – эффект» с использованием экспоненциальных функций / Антомонов М. Ю., Русакова Л. Т. // Гигиена и санитария.– 1988.– № 6.– С. 42–44.
7. Martin A. Hamilton. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays / Martin A. Hamilton; Rosemarie C. Russo, Robert V. Thurston // Environ. Sci. Technol.– 1977. V. 11 (7).– P. 714–719.
8. Лук'янчук В. Д. Дослідження фармакометричних показників режиму дозування антигіпоксанта ВІТАГЕРМ-3 / В. Д. Лук'янчук, К. О. Шебалдова, Д. С. Кравець, Л. С. Бобкова // Фармакологія та лікарська токсикологія, № 4–5 (35). – 2013. – с. 66-69.

9. Величко О. М. Основи метрології та метрологічна діяльність. Навчальний посібник / О. М. Величко, А. М. Коцюба, В. М. Новіков.— К.: Вид.— во НаУКМА, 2000.— 228 с.
10. Лапин И. Г. Модели тревоги на мышах: оценка в эксперименте и критика методики // Экспер. клин. фармакол. — 2000. — Т. 63, № 3. — С. 58-62.
11. Дроговоз С.М. Фармакология на ладонях. — Х.: Плеяда, 2007. — 122 с.
12. Фармакология. Рецепттура. Практические занятия / Под ред. И.С. Чекмана. — К.: ООО «Рада», 2009. — 832 с.
13. Шаповалов, В. А. Физико-химические методы анализа лекарственных средств : учеб. пособие для студ. вузов / В.А. Шаповалов, В.П. Черных, С.Н. Коваленко. — Х.: Изд-во НФаУ; Оригинал, 2006. — 256 с.
14. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — М.: Медицина, 2010. — 1-2 т. — 1200 с.
15. Компендиум (Лекарственные препараты 2009) / Под ред. проф. В.Н. Коваленко и проф. А.П. Викторова. — В 2-х т. — К.: МОРИОН, 2009.
16. Иваненко Н.В. Экологическая токсикология: Учебное пособие / Н.В. Иваненко. — Владивосток: Изд-во ВГУЭС, 2006. — 108 с.
17. Криштопенко С.В. Парадоксальная токсичность / С.В.Криштопенко, М.С. Тихов, Е.Б. Попова.— Н.Новгород: [б.и.], 2001. — 163 с.
18. Schatz A. The occurrence and importance of paradoxal effects in biological systems / A. Schatz, E. Schalscha, V. Schatz // Comp. Sci. — 1964.— V.5, №1.— P.26-31.
19. Проблема малых и сверхмалых доз в токсикологии. Фундаментальные и прикладные аспекты / В.В.Булатов, Т.Х. Хохоев, В.В. Дикий [и др.] // Рос.хим.ж. (Ж.Рос.хим.об-ва им.Д.И.Менделеева).— 2002.— Т. XLVI.— №6.— С.58–62.

20. Schumacher B. Transcription-blocking DNA damage in aging: a mechanism for hormesis / B.Schumacher // J. Bioessays.– 2009, Dec.– Volume 31.– Issue 12. – P. 1347-1356.

21. К обоснованию гормезиса как фундаментальной биомедицинской парадигмы (обзор литературы и результатов собственных исследований) / Л.М. Шафран, А.В. Мокиенко, Н.Ф. Петренко [та інш.] // Современные проблемы токсикологии.– 2010. – №2–3. – С.13–23.

22. Zoladz P.R. Linear and non-linear dose-response functions reveal a hormetic relationship between stress and learning./ P . R. Zoladz, D.M. Diamond // Dose Response. – 2009.– №7. –P.132-148.

23. Структурные изменения в мембранах эндоплазматического ретикулума при действии сверхмалых доз тиролиберина *in vitro* / В.Е. Жерновков, Н.Г . Богданова, Т .В. Лелекова, Н.П. Пальмина // Биологические мембраны.– 2005.– Т.22, №5. – С. 388-395.

24. Голубев А.А. К токсикологии некоторых сложных эфиров винилового спирта, применяемых в производстве пластмасс / А.А. Голубев // Материалы по токсикологии веществ, применяемых в производстве пластмасс и синтетических каучуков. –Л., 1957. – С. 66–75.

25. Радиоавтографическое исследование взаимоотношений между частотой действия раздражителя и темпом репаративной регенерации печени / Д.С. Саркисов, Л.Д. Крымский, К.В.Боцманов [и др.] // Арх. Патол.– 1969.– №31(3). – С.22–31.

26. Точилкина Л.П. Феномен сверхмалых доз, гомеопатия и ФОВ. / Л.П. Точилкина //ж. Химическая и биологическая безопасность.– 2007.– №1, (31).– С.4–14.

27. Бурлакова Е. Б. Действие сверхмалых доз биологически активных веществ и низкоинтенсивных физических факторов / Е. Б. Бурлакова, А. А. Конрадов, Е. Л. Мальцева // Проблемы регуляции в биологических системах /

Под общей ред. А. Б. Рубина. – М.– Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», 2006. – 480 с.

28. Голденков В.А. Феномен множественной химической чувствительности как следствие воздействия сверхмалых доз веществ / В.А. Голденков, В.В Дикий, Г .В. Лизунова // Российский Химический Журнал.– Том XLVI.– 2002.– № 6.– С.39–45

29. Онкологическая заболеваемость и смертность среди участников ликвидации последствий Чернобыльской катастрофы: оценка радиационных рисков / В.К. Иванов, Е.М.Растопчин, С.Ю.Чекин, В.Б.Рывкин // Радиация и риск.– 1995.– вып.6.– С.123–155.

30. Славецкая М.Б. Сверхмалые дозы биологически активнх веществ как основа лекарственных препаратов / М.Б. Славецкая, Н.А Капай. / Ред. Квасова Е.А. Науч.рец. акад.РАСХН Панин А.Н., проф.. Булаев В.М.– Москва, 2011, С.168.

31. Жмінько О.П. Вплив деяких похідних N–оксид піридину на ріст популяції інфузорій *Tetrahymena pyriformis* W. / О.П.Жмінько, М.Г Проданчук. // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – №2. – С.33–37.

32. Жмінько О.П. Токсичність тримана для інфузорій *Tetrahymena pyriformis* W / О.П.Жмінько // 1 з'їзд Токсикологів України, 11–13 жовт. 2001 р.: тези доп.– Київ.– Х., 2001.– С.19.

33. БІОЕТИЧНА ЕКСПЕРТИЗА ДОКЛІНІЧНИХ ТА ІНШИХ НАУКОВИХ ДОСЛІДЖЕНЬ, ЩО ВИКОНУЮТЬСЯ НА ТВАРИНАХ / Резніков О.Г., Соловйов А.І. , Добреля Н.В., Стефанов О.В // Метод. реком. – Київ. – 2006. – 28с.

34. Вихляев Ю. И., Воронина Т. А. // Фармакология феназепама,- Экспрессинформ/ВНИИМИ Сер. Новые лекарственные препараты. – 1978.- С. 2 – 6.

35. Воронина Т. А., Вихляев Ю. И., Неробкова Л. Н., и др. Характеристика фармакологических свойств феназепама // В. кн. Феназепам. - Киев, 1983. – С. 87 – 180.

36. Воронина Т. А., Вихляев Ю. И., Неробкова Л. Н., и др. Характеристика фармакологических свойств феназепама // В. кн. Феназепам. -Киев, 1983. – С. 87 – 180.

37. Luedtke R. R., Mach R. H. Progress in developing D3 dopamine receptor ligands as potential therapeutic agents for neurologic and neuropsychiatric disorders // Curr. Pharm. Des. – 2003 –9. – P. 643 – 671.