

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: **«Застосування моделі експериментальної епілепсії у встановленні  
механізмів дії нового аналгетичного засобу»**

**«The use of experimental epilepsy model in new analgetics action mechanisms»**

Виконав: студент денної форми навчання  
Спеціальності 102 Хімія  
**Бєнет Станіслав Сергійович**

Керівник: к. б. н., доц. Радаєва І.М.  
Рецензент: к. х. н., доц. Менчук В.В.

Рекомендовано до захисту:  
протокол засідання кафедри  
№ \_\_\_\_ від \_\_\_\_\_ 2019 р.

Захищено на засіданні ЕК № \_\_\_\_  
протокол № \_\_\_\_ від « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2019 р.  
Оцінка \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_  
(за національною шкалою/ за шкалою  
ECTS/ бал)

Завідувач кафедри  
\_\_\_\_\_ проф. Грицук О.І.  
(підпис)

Голова ЕК  
\_\_\_\_\_ к. х. н., доц. Чеботарьов О.М.  
(підпис)

**Одеса – 2019**

## Реферат

Врахування механізмів дії лікарських засобів необхідне як для підвищення ефективності фармакотерапевтичного впливу на організм, так й для забезпечення безпеки, як при монотерапії, так й при можливому сумісному застосуванні з іншими лікарськими засобами. Для нових лікарських засобів це набуває ще більшої актуальності, оскільки відсутність інформації про тривале застосування вимагає більш ретельно будувати стратегію їх використання пацієнтами.

Метою роботи було визначення та уточнення аналгетичної дії нового потенційного аналгетичного засобу (пропоксазепам).

За результатами проведеного дослідження було визначено ефективність протиепілептичної дії пропоксазепаму на моделі судом, викликаних прямим (піктороксин) та частковим (коразол) антагоністами ГАМК-рецепторів, а також наявність активності пропоксазепаму на моделі ГАМК-дефіцитних судом на моделі тіосемікарбазид-індукованих судом.

Кваліфікаційна робота викладена на 52 сторінках друкованого тексту та містить: 4 таблиць; 10 рисунків; використано 41 літературне джерело.



## Вступ

Фармакологічний ефект — це клінічний прояв реакції організму на дію лікарського препарату. В основі його виникнення лежить розвиток первинної фармакологічної реакції, яка є наслідком взаємодії лікарського препарату з рецепторами клітини, внаслідок чого посилюються (збуджуються) або пригнічуються (гальмуються) їх функції. В основі однакових фармакологічних ефектів можуть лежати різні первинні фармакологічні реакції. Наприклад, атропін і адреналін розширюють зіницю, перший — за рахунок блокади холінорецепторів, другий — стимуляції адренорецепторів. З іншого боку, різні фармакологічні ефекти можуть бути спричинені однією первинною фармакологічною реакцією. Зокрема, блокада анаприліном  $\beta$ -адренорецепторів супроводжується зниженням АТ, протиаритмічним ефектом і усуненням нападу стенокардії. Ці відомості необхідні лікареві для раціонального, найбільш ефективного і безпечного призначення біологічно-активних сполук, що використовуються у якості лікарських засобів.

З метою аналізу складних і різноманітних явищ у фармакології виділяють декілька видів дії ліків (види фармакологічних ефектів), які поділяються на місцеву, рефлекторну, резорбтивну, опосередковану, селективну (вибіркову), неспецифічну, основну і побічну, оборотну і необоротну.

Способи, за допомогою яких досягаються фармакологічні ефекти лікарських засобів, є механізмом дії.

Спеціальні клітинні структури, що забезпечують взаємодію між лікарською речовиною і організмом, називаються рецепторами. При взаємодії лікарських сполук з рецептором виникають численні ефекти, при цьому відбуваються біохімічні та фізіологічні зміни у багатьох органах і системах. Останні можна звести до типових механізмів взаємодії ліків і рецептора.

1. Лікарський препарат, маючи структурну подібність до метаболіту (медіатора), взаємодіючи з рецептором, спричиняє його збудження (імітуючи дію медіатора). Препарат називають агоністом. Міцність зв'язування ліків з

певними рецепторами обумовлюється їхньою структурою і позначається терміном “афінітет”.

2. Лікарський препарат, подібний до метаболіту, але й не дає можливості метаболіту зв'язуватися з рецептором. Ліки називають антагоністами.

3. Ліки (діючи на рецептори) можуть поєднувати властивості і агоністів, і антагоністів. У такому разі їх називають агоністами-антагоністами.

4. При взаємодії з апостеричним центром рецептора ліки спричиняють конформаційні зміни в структурі рецептора, у тому числі активного центру, змінюючи його чутливість до метаболітів організму – модулюючий ефект.

5. Ефект ліків може реалізуватися за рахунок звільнення метаболітів від зв'язків з білком або іншими субстратами, активації чи інактивації ферментів.

Врахування механізмів дії лікарських засобів необхідне як для підвищення ефективності фармакотерапевтичного впливу на організм, так й для забезпечення безпеки, як при монотерапії, так й при можливому сумісному застосуванні з іншими лікарськими засобами. Для нових лікарських засобів це набуває ще більшої актуальності, оскільки відсутність інформації про тривале застосування вимагає більш ретельно будувати стратегію їх використання пацієнтами. Таким чином, отримання та уточнення знань про механізми дії лікарських засобів є одним з головних пунктів при впровадженні у клінічну практику нових біологічно-активних сполук.

Таким чином, **метою** даної роботи було визначення та уточнення аналгетичної дії нового потенційного аналгетичного засобу (пропоксазепам). Для досягнення цієї мети необхідно було вирішити наступні **завдання**:

- визначити наявність чи відсутність протиепілептичної дії пропоксазепаму на моделі судом, викликаних прямим антагоністом ГАМК-рецептору (пікротоксин);
- дослідити можливу антагоністичну дію пропоксазепаму по відношенню до часткового антагоніста ГАМК-рецептора (коразол);

- визначити наявність активності пропоксазепаму на моделі ГАМК-дефіцитних судом на моделі тіосемікарбазід-індукованих судом.

## Висновки

Отримані дані свідчать, що пропоксазепам переважно взаємодіє з ГАМК-ергічною системою, значно підвищуючи афінітет цих рецепторів до ГАМК та стимулюючи розвиток гальмівної дії. Цей ефект проявляється не тільки в умовах незмінного рівню ендogenousного медіатора, але й на тлі зниження його продукції (ГАМК-дефіциту). Вплив на цю систему можна вважати провідним у розвитку аналгетичної дії пропоксазепаму.

1. На моделі викликаних пікротоксином судом вивчено протисудомну активність 3-пропокси-1,4-бенздіазепін-2-ону (пропоксазепаму). Встановлено, що середня ефективна доза сполуки ( $ED_{50}$ ) складає  $1,67 \pm 0,09$  мг/кг ( $4,1 \pm 0,21$  мкМоль/кг). Міоклонічний компонент (латентний час до розвитку міоклонічних судом та їх кількість) судомного нападу та час до загибелі тварин є більш репрезентативними показниками протисудомної дії пропоксазепаму, що може бути пов'язане з механізмом його конкуренції на рівні  $GAМК_A$ -рецепторів з пікротоксином.

2. По антагонізму з коразолом (пентилентетразолом) пропоксазепам виявляє протисудомну активність, а ефективна доза з урахуванням молярної маси (407,7 г/моль)  $ED_{50}$  сполуки ( $0,92 \pm 0,378$  мг/кг) складає  $2,24 \pm 0,93$  мкмоль/кг. Нахил кривої "доза-ефект"  $s = 0,821$  вказує на високий рівень пропорційності між введеною дозою сполуки та зміною протисудомного ефекту у межах  $ED_{50}$ , що може бути зумовлене концентраційною залежністю конкурентного антагонізму між пропоксазепамом та коразолом у зазначеному інтервалі доз в умовах *in vivo*.

3. Середня ефективна доза захисної дії пропоксазепаму на моделі тіосемікарбазид-індукованих судом складає  $0,18 \pm 0,10$  мг/кг ( $0,31 \pm 0,05$  мкмоль/кг) із кутом нахилу кривої «доза-ефект» 0,6 відповідає швидкому розвитку захисного ефекту та антагоністичній взаємодії на рецепторному рівні. Із підвищенням дози пропоксазепаму збільшується час життя тварин – в дозі 1,0 мг/кг захисний ефект пропоксазепаму на даній моделі сягає майже 100 %.

## Список літератури

- 1 Merskey H.M, Bogduk N, Classification of Chronic Pain, 2nd ed., 1994, IASP Press, Seattle, p.211.
- 2 Bonica J., Loeser J., Charman C., Fordyce W. The Management of Pain / Ed. J. Bonica. – 2-nd Ed. – Philadelphia: Lea & Febiger,1990.
- 3 Loeser JD. Pain and suffering. Clin J Pain. 2000;16(suppl):S2-S6.
- 4 Djouhri L, Lawson SN. Abeta-fiber nociceptive primary afferent neurons: a review of incidence and properties in relation to other afferent A-fiber neurons in mammals. Brain Res Brain Res Rev. 2004 Oct;46(2): 131–145.
- 5 Cervero F (1994) Sensory innervation of the viscera: peripheral basis of visceral pain. Physiol. Rev. 74, 95-138.
- 6 Braz JM, Nassar MA, Wood JN, Basbaum AI. Parallel “pain” pathways arise from subpopulations of primary afferent nociceptor. Neuron.; 2005. 47(6):787–93.
- 7 Rukwied R., Dusch M., Schley M., Forscha E., Schmelza M. Nociceptor sensitization to mechanical and thermal stimuli in pig skin in vivo European Journal of Pain Volume 12, Issue 2, February 2008, P. 242–250.
- 8 Dhaka A, Viswanath V, Patapoutian A. Trp ion channels and temperature sensation. Annu Rev Neurosci. 2006;29:135–61.
- 9 Kostyuk E.P., Kostyuk P.G., Voitenko N.V. Structural and Functional Characteristics of Nociceptive Pathways and Their Alterations under Conditions of Neuropathy Neurophysiology, Volume 33, Number 4, July 2001 , pp. 266–276(11).
- 10 Hofbauer, R.K., Pierre R., Duncan, G.H., Bushnell M.C. Cortical representation of the sensory dimension. of pain. J Neurophysiol 86: 402–411, 2001.
- 11 Hoeger-Bement MK, Skyba DA, Radhakrishnan R, Sluka KA: Review: Central Sensitization and Musculoskeletal Pain Seminars in Pain Medicine, Vol. 1 No. 3 2003, 139–149.

- 12 Nielsen LA, Henriksson KG. Pathophysiological mechanisms in chronic musculoskeletal pain (fibromyalgia): the role of central and peripheral sensitization and pain disinhibition. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2007, Jun;21(3):465-80.
- 13 Schaible HG. Pathophysiology of pain *Orthopade*. 2007 Jan;36(1):8, 10–2, 14–6.
- 14 Baron R, Raja SN. Role of adrenergic transmitters and receptors in nerve and tissue injury related pain. Malmberg AB, Chaplan SR (eds.). *Mechanisms and Mediators of Neuropathic Pain*. 2002, Birkhauser Verlag / Switzerland. 153–174.
- 15 Drummond P.D., P.M. Finch and I. Gibbins, Innervation of hyperalgesic skin in patients with complex regional pain syndrome, *Clin J Pain* 12 (1996), pp. 222–231.
- 16 Yaprak M. Axon reflex. *Neuroanatomy*. 2008; 7: 17–19).
- 17 Zollner C., Shaqura M. A., Bopaian C. P., Mousa S., Stein C., Schafer M.. Painful Inflammation-Induced Increase in  $\mu$ -Opioid Receptor Binding and G-Protein Coupling in Primary Afferent Neurons. *Mol Pharmacol* 64:202–210, 2003.
- 18 Julius D, Basbaum AI. Molecular mechanisms of nociception. *Nature*. 2001 413:203–10.
- 19 Koenig, HG. *Chronic Pain: Biomedical and Spiritual Approaches*. New York: The Haworth Pastoral Press, 2003, 318 pp.
- 20 Ji RR, Kohno T, Moore KA, Woolf CJ. Centralsensitization and LTP: do pain and memory share similar mechanisms? *Trends in Neurosciences* 2003 26:696–705.
- 21 Melzack R., Wall P. On nature of cutaneous sensory mechanisms, *Brain*, 85:331, 1962.
- 22 Harris J. Descending antinociceptive mechanisms in the brainstem: Their role in the animal's defensive system *Journal of Physiology-Paris*, Volume 90, Number 1, 1996 , pp. 15–25(11).

23 Benarroch E, “Descending monoaminergic pain modulation” *Neurology*, 2008;71:217-221.

24 Hohmann AG, Tsou K, Walker JM. Cannabinoid suppression of noxious heat-evoked activity in wide dynamic range neurons in the lumbar dorsal horn of the rat. *J Neurophysiol*. 1999 Feb;81(2):575–83.

25 Tan-No K, Esashi A, Nakagawasai O, Niijima F, Tadano T, Sakurada C, Sakurada T, Bakalkin G, Terenius L, Kisara K. Intrathecally administered big dynorphin, a prodynorphin-derived peptide, produces nociceptive behavior through an N-methyl-D-aspartate receptor mechanism *Brain Research* Volume 952, Issue 1, 11 October 2002, P. 7–14.

26 Conde F., Maire-lepoivre E., Audinat E., Crepel F. Afferent connections of the medial frontal cortex of the rat. II. Cortical and subcortical afferents. *The Journal of Comparative Neurology*, 2004, 352, 4, P. 567–593.

27 Sun Zhang, Jing-Shi Tang\*, Bin Yuan and Hong Jia Involvement of the frontal ventrolateral orbital cortex in descending inhibition of nociception mediated by the

periaqueductal gray in rats. *Neuroscience Letters*, 1997, 224, 2, 14, 142–146.

28 Rittner H. L., Brack A., Stein C. Pain and the immune system *British Journal of Anaesthesia* 2008 101(1):40–44).

29 Vlastelica M. Emotional stress as a trigger in sudden cardiac death. *Psychiatr Danub*. 2008 Sep;20(3):411-414.

30 Martelli, M.F., et al., Psychological, neuropsychological, and medical considerations in assessment and management of pain. *J Head Trauma Rehabil*, 2004. 19(1): p. 10-28.

31 Морган-мл., Едвард Дж. Клінічна анестезіологія. Книга перша: Пер. з англ. За ред. акад. РАМН А.А. Бунятяна. — М.: Біном, Спб.: Невський Діалект, 1998 — 430 с.

32 Болевой синдром/Под ред. В.А. Михайловича и Ю.Д. Игнатова. — Л.: Медицина, 1990. — 334 с.

33 Осипова Н.А., Ветшева М.С., Решетов И.В. и др. Анестезиология и реаниматология. — 2001. — № 5. — С. 10–16.

34 . Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських ЗАСОБІВ. Методичні рекомендації / Стефанов О.В. // Київ: МОЗ України. Державний фармакологічний центр. – 2001. – 527 с.

35. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel Киев: Морион, 2001. — 408 с. — ISBN 966-7632-33-4.

36. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. – М. : Практика, 1999. – 334 с.

37 Н. Я. Головенко, В. Г. Зиньковский, О. В. Жук и др. “Оптимизация метода инфузии обратных агонистов ГАМК-рецепторного комплекса при анализе быстрообратимых эффектов транквилизаторов и этанола”, Бюлл. эксперим. биол. и мед., 123, № 5, 551-554 (1997).

38 С. Гланц Медико-биологическая статистика, Практика, Москва (1999).

39 Panosyan E.H., Lin H.J., Koster J., Lasky J.L. 3rd. In search of druggable targets for GBM amino acid metabolism. //BMC Cancer, 2017. – V.17(1. – P. 162-171

40 Ben-Menachem E. Mechanism of action of vigabatrin: correcting misperceptions.//Acta Neurol Scand Suppl., 2011.-V.192.-P.5-15.

41 Головенко М.Я., Ларіонов В.Б., Редер А.С., Валіводзь І.П., Олійник К.В. Метаболізм та екскреція похідного 3-пропілокси-1,4-бенздіазепіну при одноразовому та курсовому введеннях. //Одеський медичний журнал, 2019.-№6 (158). – С.9-15.