

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: **«Обґрунтування результатів скринінгових методів дослідження  
при аналізі потенційних лікарських засобів»**

Виконала: студентка заочної форми навчання  
Спеціальності 102 Хімія

**Халаїм Вікторія Олександрівна**

Керівник: к. б. н., доц. Кобернік А.О.

Рецензент: д. б. н., с.н.с. 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. Марцинка О.Е.  
(підпис)

**Одеса – 2020**

## Реферат

Кваліфікаційну роботу «Обґрунтування результатів скринінгових методів дослідження при аналізі потенційних лікарських засобів» присвячено актуальному фармакологічному дослідженню.

В роботі проаналізовано різні методи скринінгових досліджень для виявлення анксиолітичної активності та здійснено практичну частину роботи – дослідження анксиолітичної активності афобазолу на моделі «Чорно-біла камера» при його пероральному введенні мишам в дозах 10 та 20 мг/кг.

В ході виконання дипломної роботи було детально проаналізовано поведінкову методику «Чорно-біла камера», виділено характеристики поведінки лабораторних тварин, які підлягають обліку та вказано їх кореляцію з психо-емоційним станом.

Найвищі показники анксиолітичної активності відмічені через 6 годин після введення Афобазолу в дозі 20 мг/кг.

Кваліфікаційну роботу викладено на 45 сторінках друкованого тексту, вона включає 5 таблиць та 4 рисунки. В роботі наведено посилання на 49 літературних джерел.

**ЗМІСТ**

ВСТУП .....	4
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ .....	7
1.1. Характеристика депресивних розладів .....	7
1.2. Етіопатогенез депресії .....	9
1.3. Загальна характеристика транквілізаторів .....	12
1.4. Етапи дослідження нових антидепресантів.....	16
1.5. Безрецептурний препарат як альтернатива транквілізаторів .....	18
1.6. Вибір методів дослідження при аналізі анксиолітичного ефекту.....	21
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	26
2.1. Матеріали.....	26
2.2. Методи.....	26
2.2.1. Методика «Чорно-біла камера».....	26
2.2.2. Статистична обробка результатів дослідження.....	28
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ .....	30
3.1. Визначення анксиолітичної активності Афобазолу в тесті «Чорно-біла камера» при пероральному його введенні в різних дозах	31
УЗАГАЛЬНЕННЯ .....	38
ВИСНОВКИ.....	40
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	41

## ВСТУП

Протягом кількох останніх десятиліть проблема тривожних станів та депресивних розладів набуває особливого значення. Тривога та депресія суттєво порушують фізичне, психічне та соціальне благополуччя населення і спричиняє підвищення ризику передчасної смерті. Ці захворювання утруднюють задоволення базових потреб людини і негативно впливають на її повсякденну життєву активність, призводячи до значного зниження якості життя.

Однією з основних груп психотропних препаратів, що використовуються для лікування тривожних станів ендogenous і екзогенного походження, є анксиолітики. Пошук і дослідження потенційних анксиолітичних засобів ґрунтується на їх фармакологічних властивостях, що виражається в здатності цих сполук відновлювати нейротрансмісію.

Доклінічне вивчення речовин, що можуть рекомендуватися в якості анксиолітиків, повинне виявити: специфічну фармакологічну активність (анксиолітичну), відсутність токсичних властивостей і позитивні відмінності нових сполук у порівнянні з класичними препаратами. Переваги потенційних анксиолітичних засобів оцінюють за наявністю якісних і/або кількісних відмінностей у фармакологічних ефектах і за особливостями механізму дії. Таким чином, невпинно зростає необхідність створення ефективних засобів для лікування тривожних розладів. Існує багато поведінкових методів дослідження для встановлення наявності того чи іншого фармакологічного ефекту. Всі вони можуть бути умовно розділені на прямі та опосередковані та/або супутні стосовно кожного виду фармакологічного ефекту.

Повноцінна картина спектру фармакологічної активності може бути визначена лише у випадку використання і прямих, і опосередкованих методів дослідження [1], оскільки це дає змогу встановити рівень

основного фармакологічного ефекту досліджуваної сполуки, а також визначити супутні ефекти (протисудомний, міорелаксантий, седативний та ін) та їх вплив, оскільки вони можуть бути як бажаними, так і побічними. Від цього, в свою чергу, залежить чи буде надалі даний препарат розглядатись як перспективний для впровадження в медичну практику та які будуть надані рекомендації та застереження щодо його використання.

Безрецептурних транквілізаторів, включених до міжнародної системи класифікації лікарських засобів дуже мало. Один з таких препаратів, що належать до останнього покоління, - «Афобазол». Це унікальна альтернатива транквілізаторів при тривожних станах, різних соматичних захворюваннях, при порушеннях сну, алкогольному абстинентному синдромі, при відмові від куріння і виникненні синдрому відміни.

Афобазол - небензодіазепіновий анксиолітик і при його прийомі не виникає звикання. Він надає протитривожну і легку стимулюючу дію, не викликає сонливості і загальмованості, а значить, може застосовуватися в робочий час.

Тому проведення моніторингу з метою підбору підходів, методичних прийомів та методів дослідження дозволяє визначити стратегію цілеспрямованого доклінічного дослідження потенційних анксиолітичних засобів.

З огляду на вищенаведене пропонується аналіз скринінгових досліджень з експериментального встановлення анксиолітичної активності.

**Метою роботи** був аналіз методів дослідження анксиолітичної активності та встановлення анксиолітичної активності афобазолу на моделі чорно-білої камери при пероральному введенні у мишей.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Проаналізувати методи дослідження анксиолітичної активності.
2. Охарактеризувати методику чорно-білої камери та компоненти, що встановлюються при її здійсненні.
3. Вивчити профіль розвитку ефектів залежно від часу після перорального введення афобазолу на моделі чорно-білої камери.

## УЗАГАЛЬНЕННЯ

В результаті проведених досліджень, було проаналізовано методи, що використовуються для скринінгових досліджень сполук, що можуть володіти анксиолітичною активністю. На основі літературних даних обґрунтовано доцільність здійснення комплексних досліджень спрямованих на визначення повного спектру фармакологічної активності досліджуваної сполуки, серед яких проведення методик для виявлення прямих ефектів (бажано декілька тестів), в даному випадку анксиолітичного, а також проведення серії дослідів з метою виявлення супутніх ефектів досліджуваної сполуки, та їх подальше розмежування на бажані та побічні. Слід зауважити, що поняття «побічний ефект» наразі нестійке, оскільки залежить від вимог, що висуваються в процесі застосування препарату, та можуть бути чи не індивідуальними в залежності від генезу, ступеню складності, форми (гостра, хронічна) патологічного стану.

В ході виконання курсової роботи було детально проаналізовано поведінкову методику «Чорно-біла камера», виділено характеристики поведінки лабораторних тварин, які підлягають обліку та вказано їх кореляцію з психо-емоційним станом.

Практична частина роботи полягала у дослідженні та порівнянні анксиолітичної активності афобазолу при пероральному введенні в дозах 10 та 20 мг/кг на моделі «Чорно-біла камера».

Показано, що афобазол в дозах 10 і 20 мг/кг збільшує дослідницьку активність тварин в перші 30-60 хвилин експерименту, в подальшому відзначається її зниження, особливо чітко вона виражена для другої групи, якій афобазол вводили в дозі 20 мг/кг.

Встановлено, що рухова активність достовірно збільшується лише через 30 хв після введення афобазолу. Після чого спостерігається її

помірне та різке зниження для груп, яким вводили афобазол в дозі 10 та 20 мг/кг, відповідно. Нормалізація рухової активності спостерігається через 6 год для групи, яка отримувала афобазол в дозі 10 мг/кг, та через 24 год для групи, яка отримувала афобазол в дозі 20 мг/кг.

Найкращі показники анксиолітичної активності відзначені через 6 годин після введення Афобазолу в дозі 20 мг/кг, - миші практично протягом усього часу експерименту знаходилися в світлому відсіку, а їх перебування в темному відсіку за часом становило всього лише 13% від контролю.

## ВИСНОВКИ

1. Було проаналізовано методи скринінгових досліджень для виявлення анксиолітичної активності та обґрунтовано доцільність здійснення комплексних досліджень спрямованих на визначення повного спектру фармакологічної активності досліджуваної сполуки (прямих та супутніх ефектів).

2. Проаналізовано поведінкову методику «Чорно-біла камера», виділено характеристики поведінки лабораторних тварин, які підлягають обліку та вказано їх кореляцію з психо-емоційним станом.

3. Експериментально встановлено, що афобазол в дозі 10 мг/кг в перші 30-60 хвилин експерименту збільшує дослідницьку та рухову активність тварин. В дозі 20 мг/кг аналогічний результат спостерігається лише через 30 хвилин. Надалі відзначається помірне та різке зниження дослідницької та рухової активності для груп, яким вводили афобазол в дозах 10 та 20 мг/кг, відповідно. Показано, що нормалізація дослідницької та рухової активності до рівня контрольної групи відбувається через 6 і 9 год для групи, якій вводили 10 афобазолу, та через 24 години для тварин, які отримували 20 мг/кг афобазолу.

4. Показано, що максимальний анксиолітичний ефект відзначений через 6 год для групи тварин, якій вводили афобазол в дозі 20 мг/кг, час перебування в темному відсіку становив лише 13% від контролю.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Лапин И. Г. Модели тревоги на мышах: оценка в эксперименте и критика методики // Экспер. клин. фармакол. — 2000. — Т. 63, № 3. — С. 58-62.
2. The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010 / H.-U Wittchen, F. Jacobi, J. Rehm [et all.]. *European Neuropsychopharmacology*. — 2011. - №21. P. 655-679.
3. Maternal depression and the quality of marital relationship: a 14-year prospective study / A. A. Mamun, A. M. Clavarino, J. M. Najman [etal.] // *J Womens Health (Larchmt)*. — 2009. — Vol. 18(12). — P. 2023-2031.
4. Blazer D. G. Perception of Unmet Basic Needs as a Predictor of Depressive Symptoms Among Community-Dwelling Older Adults / D. G. Blazer, N. Sachs-Ericsson, C. F. Hybels // *Journal of Gerontology: Medical Sciences*. — 2007. — №62. — P. 191-195
5. Смулевич А.Б. Депрессии при соматических заболеваниях / А.Б. Смулевич – М.: Медицинское информационное агентство, 2003. – 432 с.
6. Марута Н.О. Особливості потребово-емоційної сфери у хворих похилого віку на тривожно-депресивні розлади з суїцидальним ризиком / Н.О. Марута, І.О. Явдак, О.С. Череднякова // *Український вісник психоневрології* – 2011. – Т. 19, вип. 3 №68 – С. 50-53
7. Кеннеди С. Ограничения современной терапии антидепрессантами / С. Кеннеди // *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова*. – 2007. – Т.107, № 12. – С. 87-93.
8. Лем Р.В. Расстройства сна и депрессия в аспекте действия антидепрессантов / Р.В. Лем // *Журнал неврологии и психиатрии имени С. С. Корсакова* – 2008. – Т.108, №12. – С. 75-78.
9. Montgomery S. Why do we need new and better antidepressants? / S. Montgomery // *Medicographia* – 2005. - №27 (3). – P. 213-216.

10. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey replication (NCS-R) / Kessler RC, Berglund P, Demler O [et al.] // JAMA – 2003. №289. – P. 3095–3105
11. Versaveel C. Affective dependency and psychiatry: A discord. / C. Versaveel // Encephale – 2011. – Vol.37(1). – P. 25-32.
12. Stein D.J. Serotonergic neurocircuitry in mood and anxiety disorders / D.J. Stein // Martin Dunitz Ltd. – 2003. – 82 p.
13. Best J. Models of Dopaminergic and Serotonergic / J. Best, M. Reed, H. F. Nijhout // Pharmacopsychiatry – 2010, – Vol. 43, №1, – P. 61–66.  
47
14. Janet A.B. Homeostatic mechanisms in dopamine synthesis and release: a mathematical model / A. B. Janet, H. F. Nijhout, C.R. Michael // Theoretical Biology and Medical Modelling – 2009. – Vol.6, №21. – P. 46 – 50
15. Амон М. Перспективы в изучении патогенеза и терапии аффективных расстройств: роль мелатонина и серотонина / М. Амон, П.-А. Буде, Е. Моке // Журнал неврологии и психиатрии имени С. С. Корсакова. – 2007. – Т.107, - № 11. – С. 77-83. 3
16. Арушанян Э.Б. Антидепрессанты / Э.Б. Арушанян. - Ставрополь, 2002. - 331с.
17. Машковский М.Д. Лекарственные средства - М.: Новая волна, 2006.-1206 с.
18. Калуев А.В. Принципы экспериментального моделирования тревожно-депрессивного патогенеза / А.В. Калуев // Нейронауки. – 2006. - №1 (3). – С. 34-56
19. Calatayud F. Emotional reactivity in mice, a case of nongenetic heredity / F.Calatayud, C.Belzung // Physiol. Behav. – 2001. – V. 74. – P. 355-362.
- 20 Koch. Anxiolytic Profiles / Koch, S. Gershon, A. Elison // J Clin Psychiatry V. – 44 (11, Sec. 2). –1983. – P. 45–56.

21. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / [Верстакова О.Л., Арзамасцев Е.В., Бабаян Э. А. и др.]. под ред. Р. У. Хабриева. – [2-е изд. ]. – М.: ОАО “Издательство “Медицина”. – 2005. – 832 с.

22. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / [Літвінова Н.В., Філоненко - Патрушева М.А., Французова С. Б. та ін.] : під ред. О.В. Стефанова. – К.: Авицена. – 2001. – 528с.

23. Гельман В.Я. Медицинская информатика: практикум / Гельман В. Я. – СПб: 2001. – 480 с.

24. Серединин С.Б. Фармакогенетическая концепция анксиоселективного эффекта / С.Б. Серединин, Т.А. Воронина, Г.Г. Незнамов. – М.: Вестн. РАМН. – 11. –1998. – С. 3–9.

25 Воронина Т.А., Серединин С.Б. Перспективы поиска новых анксиолитиков / Т.А. Воронина, С.Б. Серединин // Эксперимент. и клин. фармакол. – Т.5. –2002. – С.4–17.

26. Незнамов Г.Г. Результаты клинического изучения селективного анксиолитика афобазол / Г.Г. Незнамов, С.А. Сюняков, Д.В. Чумаков, В.К. Бочкарев, С.Б. Серединин // Эксперимент. и клин фармакол. – Т. 64 (2). – 2001. – С. 15–29.

27. Чумаков Д.В. Клинико-фармакологическая характеристика нового анксиолитика афобазола. Дис. ... канд. мед. наук. М. – 2004.

28. Соловьева И.К. Новый селективный анксиолитик афобазол / И.К.Соловьева // РМЖ. – 2006. – т. 14. – №5. – с. 385–388.

29. Ловягин А.Н. Современный фармацевтический справочник / А.Н. Ловягин. – Д. – 2011. – с.457.

30. Bremer JD. SPECT [I-123] Iomazenil Measurement of the Benzodiazepine Receptor in Panic Disorder / JD Bremer, RB Innis, T White // Society Biol Psychiat. –V.47. –2000. – P. 96–106.

31. Brouette TE, Goddart AW. Pathogenesis of Generalized Anxiety Disorder. In Textbook of anxiety disorders. Ed. By Stein DJ, Hollander E. American Psychiatry publishing inc. Washington DC, London, England. 2002. – p. 119–34.
32. Nutt D. Imaging receptors in human anxiety / D. Nutt // Internat J Neuropsychopharmacol. – V. 7 (suppl. 1). –2004. – p. 17.
33. Schlegerl S. Decreased benzodiazepine receptor binding in panic disorder measured by iomazenil-SPECT: a preliminary report / S Schlegerl, H Steinert, A Bockisch //Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. – V. 244. –1994. – P. 49–51.
34. Weizman R. Alteration of platelet benzodiazepine receptors by stress of war / R Weizman, N Laor, L Karp // Am J Psychiatry. – V. 151. –1994. –P. 766–7.
35. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Перспективы поиска новых анксиолитиков / Т.А. Воронина, С.Б. Середенин // Эксперимент. и клин. фармакол. – Т.5. –2002. – С.4–17.
36. Незнамов Г.Г. Новый селективный анксиолитик афобазол / Г.Г. Незнамов, С.А. Сюняков, Д.В. Чумаков, Л.Э. Маметова // Журн. неврол. и психиат. им С.С.Корсакова. – 105 (4). –2005. – С. 35–40.
37. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / О.В. Стефанов. – Київ: МОЗ України. Державний фармакологічний центр. – 2001. – 527 с.
38. Калуев А. В. Стресс, тревожность и поведение: актуальные проблемы моделирования тревожного поведения у животных / А. В. Калуев. – К. : CSF, 1998. – 98 с.
39. Prut L. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review / L. Prut, C. Belzung // Europ. J. Pharm. – 2003. – № 463. – С. 3–33

40. Лапин И. Г. Уменьшение частоты выглядываний из темного отсека — единственный постоянный показатель влияния анксиогенов на поведение мышей в камере «светтемнота» // Журнал ВНД им. И. П. Павлова. — 1999. — Т. 49, № 3. — С. 521-526.

41. 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.

42. J. Harro. Measurement of exploratory behavior in rodents: In: Methods in Neurosciences (V. 14, Paradigms for the Study of Behavior), Ed. P.M.Conn, Academic Press, San Diego, New York. — 1993. — P. 359-377.

43. Calatayud F. Emotional reactivity in mice, a case of nongenetic heredity / F.Calatayud, C.Belzung // Physiol. Behav. — 2001. — V. 74. — P. 355-362.

44. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному изучению новых фармакологических веществ. — Москва. — 2005.

45. Crawley J.N. Exploratory behavior models of anxiety in mice / J.N.Crawley // Neurosci. Biobehav. Revs. — 1985. - N 9. — P. 33-44.

46. J. Harro. Measurement of exploratory behavior in rodents: In: Methods in Neurosciences (V. 14, Paradigms for the Study of Behavior), Ed. P.M.Conn, Academic Press, San Diego, New York. — 1993. — P. 359-377.

47. Crawley J.N. Exploratory behavior models of anxiety in mice / J.N.Crawley // Neurosci. Biobehav. Revs. — 1985. - N 9. — P. 33-44.

48. File S.E. Factors controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse / S.E. File // Behav. Brain Res. — 2001. — V. 125. — P. 151-157.

49. Смулевич А.Б. Клинические эффекты бензодиазепиновых транквилизаторов в психиатрии и общей медицине / А.Б. Смулевич, М.Ю. Дробижев, С.В. Иванов. — М.: Медиа Сфера. — 2005.