

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені І.І. МЕЧНИКОВА

Біологічний факультет

Кафедра фізіології людини та тварин

**Дипломна робота
спеціаліста**

на тему: **«Спектр фармакотерапевтичної активності
5-етокси-2-[2-(морфоліно)-етилтіо]-бензімідазола дигідрохлориду»**

«The range of pharmacotherapeutic activity 5-ethoxy-2- [2- (morpholino) -etyltio] -
benzimidazola dihydrochloride»

Виконала: студентка денної форми
навчання
спеціальність 091 Біологія
Минаскурта Світлана Вікторівна

Науковий керівник
кандидат біологічних наук, доцент
Сьомік Лідія Іванівна

Рецензент
кандидат біологічних наук, доцент
Чернадчук Сніжана Сергіївна

Рекомендовано до захисту:

Протокол засідання кафедри

№ _____ від «___» _____ р.

Захищено на засіданні ЕК № _____

Протокол № _____ від «___» _____ р.

Оцінка _____ / _____ / _____

(за національною шкалою, шкалою ECTS, бал)

В.о. завідувача кафедри

(підпис)

Сьомік Л. І.

Голова ЕК

(підпис)

Філіпова Т. О.

Одеса – 2017

АНОТАЦІЯ

Вивчення фармакологічна активність 5-етокси-2-[2-(морфоліно)-етилтіо]-бензімідазола дигідрохлориду при пероральному введенні у мишей.

Визначено наявність протисудомного ефекту при пероральному введенні афобазолу. При введенні афобазолу в різних дозах, які збільшуються в ряду від 10 до 25 мг/кг, не відзначено залежності фармакологічного ефекту від концентрації афобазолу. Встановлено наявність анксиолітичного ефекту афобазолу на тлі відсутності седативного впливу в тесті «Відкрите поле» і «Чорно-біла камера». За результатами проведених досліджень, встановлено, що афобазол не володіє міорелаксантаю дією в дозах 10, 15, 20 і 25 мг/кг.

Дипломну роботу викладено на 44 сторінках друкованого тексту, вона включає 1 схему, 9 рисунків і 8 таблиць. В роботі наведено посилання на 23 публікацій кирилицею та 24 латиницею.

Ключові слова: *афобазол, анксиолітик, епілєсія.*

Study of pharmacological activity of 5-ethoxy-2- [2- (morpholino) -etyltio] -benzimidazola dihydrochloride oral administration in mice.

Determined availability anticonvulsant effect after oral administration fabomotizole. When you enter fabomotizole in various doses, which increased in number from 10 to 25 mg / kg, observed pharmacological effect depending on the concentration fabomotizole. The presence fabomotizole anxiolytic effect on the background of absence of sedative impact test in "open field" and "Black and white camera." The results of the studies found that fabomotizole miorelaksantnoyu has no effect at doses of 10, 15, 20 and 25 mg / kg.

THESIS contained 44 pages of printed text, it includes 1 circuit 9 figures and 8 tables. The work of the referenced publications is 23 Cyrillic and 24 Latin.

Keywords: *fabomotizole, anxiolytic, epilepsy.*

ЗМІСТ

ВСТУП	5
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1. Епідеміологічні аспекти вивчення епілепсії	7
1.1.2. Епілептичний нападок з нейрофізіологічної точки зору	9
1.1.3. Виникнення та розповсюдження епілептичної активності	10
1.2. Протисудомні засоби	12
1.2.1. Загальна характеристика протисудомних засобів	12
1.2.2. Протисудомні засоби: механізм дії	12
1.3. Новий селективний анксіолітик 5-етокси-2-[2-(морфоліно)-етилтіо]-бензімідазолу дигідрохлориду	14
1.3.1. Передумови пошуку нових анксіолітиків	14
1.3.2. Загальна характеристика похідних 2-[2-(3-оксоморфолін-4-іл)етилтіо]бензімідазолів	14
1.3.3. Переваги афобазолу і механізм фармакологічної дії	15
2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	18
2.1. Методика визначення протисудомної дії	18
2.2. Методика «Відкрите поле»	18
2.3. Методика визначення міорелаксантиї дії	19
2.4. Методика «Чорно-біла камера»	20
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	22
3.1. Протисудомна активність афобазолу	22
3.2. Вивчення анксіолітичної активності афобазолу	26
3.3. Дослідження наявності міорелаксантиї дії афобазолу	35
УЗАГАЛЬНЕННЯ	37
ВИСНОВКИ	39
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ	40
ДОДАТОК	45

ПЕРЕЛІК ТЕРМІНІВ, УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

ЦНС – центральна нервова система

ГАМК – гамма-аміномасляна кислота

ЕЕГ – електроенцефалограма

LD₅₀ – це величина, яка означає дозу речовини, летальну для 50% експериментальних тварин.

ED₅₀ – це доза речовини, яка викликає потрібний терапевтичний ефект у 50% хворих

ГТР – генералізовані тривожні розлади

ПТСР – посттравматичні стресові розлади

МОЗ України – міністерство охорони здоров'я України

ВА – вертикальна рухова активність

ГА – горизонтальна рухова активність

ДП – дослідницька поведінка

ДКТС – дози коразолу, що викликають клоніко-тонічні судоми

ДТЕ – дози, що викликають тонічну екстензію

КТС – клоніко-тонічні судоми

ТЕ – тонічна екстензія

ВСТУП

Вивченню патогенетичних механізмів епілепсії традиційно надається велике значення у зв'язку з їх поліморфізмом, відсутністю єдиних підходів до розуміння етіопатогенезу епілептизації головного мозку, особливо на тлі органічних захворювань [6].

Чинником, що сприяє виникненню епілептичних нападів, є наявність органічних ушкоджень мозку, які клінічно проявляються у вигляді різних варіантів енцефалопатії. Проведені в останні роки клініко-нейровізуалізаційні дослідження і порівняння отриманих даних у пацієнтів з пароксизмальними розладами свідомості свідчать про тісний взаємозв'язок функціональних і структурних порушень, що запускають епілептогенез [5, 8].

У наш час медицина має безліч різноманітних засобів лікування епілептичних нападів і корекції емоційно-стресових станів, які, найчастіше, і є причиною їх виникнення. Однак, поряд з основним протисудомним ефектом, їх застосування в спектрі фармакологічної активності супроводжується також седативною, гіпнотичною, міорелаксантною і амнезуючою дією, що істотно обмежує їх практичне застосування.

Найбільш важливою ця проблема є при використанні даних протисудомних препаратів для лікування хворих з неглибоким рівнем патології та корекції емоційно-стресових реакцій у здорових людей, для яких принципово важливим є збереження високого рівня працездатності.

Враховуючи сучасні тенденції до забезпечення високого рівня якості життя, при терапевтичному впливі, цілком обґрунтованою є актуальність пошуку нових «ідеальних» протисудомних засобів. Основними властивостями ідеального препарату повинні бути безпека, надійність і ефективність, здатність селективно зменшувати епілептичні напади, не викликаючи седації. Також обов'язковими вимогами є відсутність негативного впливу на психомоторні та когнітивні функції, та здатності викликати фізичну або психологічну залежність, а також відсутність

синдрому відміни, токсичності та взаємодії з речовинами, що пригнічують ЦНС [10, 21]. Тому, актуальним є проведення фармакологічного дослідження нового похідного 2-[2-(3-оксоморфолін-4-іл)етилтіо]бензімідазолів, орієнтованого на аналіз спектра його дії.

У зв'язку з цим метою роботи було вивчення фармакологічної активності 5-етокси-2-[2-(морфоліно)-етилтіо]-бензімідазола дигідрохлориду при пероральному введенні у мишей. Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Визначити наявність і рівень протисудомної активності при пероральному застосуванні 5-етокси-2-[2-(морфоліно)-етилтіо]-бензімідазола дигідрохлориду (у різних дозах), через 6 годин після його введення мишам.

2. Встановити наявність міорелаксації у дослідних тварин при пероральному введенні 5-етокси-2-[2-(морфоліно)-етилтіо]-бензімідазола дигідрохлориду в різних дозах.

3. Дослідити анксиолітичну активність 5-етокси-2-[2-(морфоліно)-етилтіо]-бензімідазола дигідрохлориду в дозі 10мг/кг на протязі 24 годин

4. Встановити наявність седації у дослідних тварин при пероральному введенні 5-етокси-2-[2-(морфоліно)-етилтіо]-бензімідазола дигідрохлориду в дозі 10 мг/кг на протязі 24 годин.

Об'єкт досліджень: фармакотерапевтична активність сполук бензімідазолу дигідрохлориду.

Предмет досліджень: фармацевтична дія 5-етокси-2-[2-(морфоліно)-етилтіо]-бензімідазолу дигідрохлориду при пероральному введенні.

Науковим консультантом при виконанні дипломної роботи був старший науковий співробітник відділу, д.б.н. Ларіонов Віталій Борисович.

УЗАГАЛЬНЕННЯ

Завданням застосування протисудомних засобів є зниження підвищеної збудливості в корі головного мозку. Цій меті відповідає і використання деяких седативних, снодійних засобів та нейролептиків. Однак, у зв'язку з необхідністю тривалого прийому протисудомних засобів і важливістю збереження психічної, фізичної активності та працездатності хворих на епілепсію, слід обирати лікарські засоби з відсутністю або мінімізацією проявів небажаних ефектів, серед яких: седативний, снодійний і міорелаксантий. При проведенні дослідження на спектр фармакотерапевтичної дії афобазолу нами було встановлено наявність анксиолітичного ефекту афобазолу на тлі відсутності седативного впливу в тесті «Відкрите поле» і «Чорно-біла камера». При цьому анксиолітична (протитривожна) властивість є найбільш важливою особливістю заспокійливих засобів, яке проявляється у зменшенні страху, тривоги, неспокою, зниженні емоційної напруги. В експерименті показано, що афобазол в дозі 10 мг/кг збільшує дослідницьку та рухову активність тварин в перші 30-60 хвилин експерименту, надалі відзначається деяке їх зниження.

За допомогою методики «Обертовий стрижень» отримали результати що афобазол не володіє міорелаксантиною дією в дозах 10, 15, 20 і 25 мг/кг. Так як міорелаксація виявляється загальною слабкістю і слабкість в різних групах м'язів це показує, що афобазол має ще один плюс при використанні.

Отримані дані при вивченні спектру фармакотерапевтичної активності 5-етокси-2-[2-(морфоліно)-етилтіо]-бензімідазола дигідрохлориду свідчать про наявність протисудомного ефекту при його пероральному введенні у мишей в дозах від 10 до 25 мг/кг. Така властивість афобазолу нами була встановлена вперше. Було відзначено збільшення показників ДКТС і ДТЕ майже в два рази в порівнянні з контрольними величинами.

При введенні афобазолу в різних дозах, які збільшуються в ряду від 10 до 25 мг/кг, не відзначено залежності фармакологічного ефекту від концентрації афобазолу. Можна сказати, що афобазол володіє властивостями ідеального анксиолітика. Він є надійним, безпечним і ефективним, здатний селективно зменшувати тривогу, не викликаючи седатії і міорелаксації.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено наявність протисудомного ефекту при пероральному введенні афобазолу. Показники ДКТС і ДТЕ збільшились майже в два рази в порівнянні з контрольними величинами. Показано, що рівень протисудомної активності афобазолу не є дозозалежним в ряду від 10 до 25 мг/кг маси тварини.

2. Встановлено, що афобазол в дозах 10 мг/кг в перші 30-60 хвилин експерименту збільшує дослідницьку та рухову активність тварин. Максимальний анксиолітичний ефект відзначений через 6 год.

3. Відзначено відсутність седативного ефекту 5-етокси-2-[2-(морфоліно)-етилтіо]-бензімідазола дигідрохлориду протягом усього періоду дослідження.

4. Встановлено, що афобазол в дозах 10, 15, 20 і 25 мг/кг не володіє міорелаксантною дією.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Воронина Т. А., Середенин С. Б.* Перспективы поиска новых анксиолитиков / Эксперимент. и клин. фармакол. – Т.5. – 2002. – С. 4-17.
2. *Гехт А. Б.* Эпидемиология и фармакоэкономические аспекты эпилепсии // Эпилепсия: медико-социальные аспекты, диагностика и лечение: мат-лы Междун. конф. [под ред. Е. И. Гусева и А. Б. Гехт]. – 2004. – С. 129-134.
3. *Гехт А. Б., Мильчакова Л. Ю., Чурилин Ю. Ю.* и др. Эпидемиология эпилепсии в России // Журн. неврол. и психиатрии. – 2006. – №1. – С. 3-7
4. *Головенко Н. Я., Зиньковский В. Г.* Анализ компонентов судорожного действия коразола в условиях введения мышам сулазепама и его метаболитов // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1976. – №9. – С. 27-32.
5. *Карлов В. А.* Пароксизмальные состояния в неврологии: Материалы пленума Всесоюзного общества невропатологов и Научного совета по неврологии АМН СССР (19-21.06.91). – Киев, – 1991. – 50 с.
6. *Корнева Е. А., Григорьев В. А., Клименко В. М., Столяров И. Д.* Электрофизиологические феномены головного мозга при иммунных реакциях – Л.: Наука, 1990. – 148 с.
7. *Крыжановский Г. Н., Магаева С. В., Макаров С. В., Сепиашвили Р. И.* Нейроиммунопатология: Руководство. – М.: Изд-во НИИ общей патологии и патофизиологии, 2003. – 438 с.
8. *Лапин И. Г.* Модели тревоги на мышах: оценка в эксперименте и критика методики // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2000. – Т. 63, № 3. – С. 58-62.
9. *Липатова Л. В., Громов С. А.* Нейроиммунологические механизмы эпилепсии // Контролируемая эпилепсия. – СПб., 2004. – С. 46-88.
10. *Ловягин А. Н.* Современный фармацевтический справочник. – Д. – 2011. – 457 с.

11. *Малашиха Ю. А.* Иммуный барьер мозга. – М.: Медицина, 1990. – 256 с.
12. *Незнамов Г. Г., Сюняков С. А., Чумаков Д. В., Маметова Л. Э.* Новый селективный анксиолитик афобазол // Журн. неврол. и психиат. им С.С.Корсакова. – 105 (4). – 2005. – С. 35-40.
13. *Незнамов Г. Г., Сюняков С. А., Чумаков Д. В., Бочкарев В. К., Середенин С. Б.* Результаты клинического изучения селективного анксиолитика афобазол // Эксперимент. и клин фармакол. – Т. 64 (2). – 2001. – С. 15-29.
14. *Сбруева С. Р.* Социально-демографические характеристики больных эпилепсией // Клинические и биологические проблемы общей и судебной психиатрии: сб. науч. тр. – М., 1988. – С. 60-65.
15. *Семьянов А. В.* ГАМК-эргическое торможение в ЦНС: типы ГАМК-рецепторов и механизмы тонического ГАМК-опосредованного тормозного действия. 2002. – С. 82-92.
16. *Семьянов А. В., Годухин О. В.* Клеточно-молекулярные механизмы фокального эпилептогенеза // Усп. Физиол. Наук. 2001. – С. – 60-78.
17. *Сергеев П. В., Шимановский Н. Л., Петров В. И.* Рецепторы физиологически активных веществ. – М. : Медицина. – 1999. – 396с.
18. *Серединин С. Б., Воронина Т. А., Незнамов Г. Г.* Фармакогенетическая концепция анксиоселективного. – М.: Вестн. РАМН. – 11. – 1998. – С. 3-9.
19. *Смулевич А. Б., Дробижев М. Ю., Иванов С. В.* Клинические эффекты бензодиазепиновых транквилизаторов в психиатрии и общей медицине. – М.: Медиа Сфера. – 2005. – С. 28-30.
20. *Соловьева И. К.* Новый селективный анксиолитик афобазол // РМЖ. – 2006. – т. 14. – №5. – С. 385-388.
21. *Стефанов О. В.* Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. – Київ: МОЗ України. Державний фармакологічний центр. – 2001. – 527 с.

22. *Петрухин А. С.* Эпилептология детского возраста. – М.: Медицина, 2000. – 622 с.
23. *Чумаков Д. В.* Клинико-фармакологическая характеристика нового анксиолитика афобазола. Дис. канд. мед. наук. М. – 2004. – 50 с.
24. *Aarli J. A.* Immunological aspects of neurological diseases. – Basel, Karger, 1980. – 189 p.
25. *Bai D., Zhu G., Pennefather P. et al.* Distinct functional and pharmacological properties of tonic and quantal inhibitory postsynaptic currents mediated by gamma-aminobutyric acid(A) receptors in hippocampal neurons // *Mol Pharmacol.* – 2001. – V.59, N4. – P. 814-824.
26. *Bremer JD, Innis RB, White T.* SPECT [I-123] Iomazenil Measurement of the Benzodiazepine Receptor in Panic Disorder / *Society Biol Psychiat.* – V.47. – 2000. – P. 96–106.
27. *Brouette TE, Goddard 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.
28. *Calatayud F., Belzung C.* Emotional reactivity in mice, a case of nongenetic heredity / *Physiol. Behav.* – 2001. – V. 74. – P. 355-362.
29. *Cossart R., Tyzio R., Dinocourt C. et al.* Presynaptic kainate receptors that enhance the release of GABA on CA1 hippocampal interneurons // *Neuron.* – 2001. – V.29, N2. – P. 497-508.
30. *Crawley J. N.* Exploratory behavior models of anxiety in mice / *Neurosci. Biobehav. Revs.* – 1985. – N 9. – P. 33-44.
31. *Dalby N. O., Mody I.* The process of epileptogenesis: a pathophysiological approach // *Curr Opin Neurol.* – 2001. – V.14, N2. – P. 187-192.
32. *Forsgren L., Beghi E., Oun A. et al.* The epidemiology of epilepsy in Europe – a systematic review // *European Journal of Neurology.* – 2005. – №12. – P. 245-253.

33. *File S. E.* Factors controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse / *Behav. Brain Res.* – 2001. – V. 125. – P. 151-157.
34. *Harro J.* 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.
35. *Koch. Gershon S., . Elison A.* Anxiolytic Profiles / *J Clin Psychiatry* V. – 44 (11, Sec. 2). –1983. – P. 45-56.
36. *Kullmann D. M., Semyanov A.* Glutamatergic modulation of GABAergic signaling among hippocampal interneurons: novel mechanisms regulating hippocampal excitability // *Epilepsia.* – 2002. – V.43, Suppl 5. – P. 174-178.
37. *Kwan M. D., Brodie M. J.* Early identification of refractory epilepsy. *NEJM.* – 2000. – Vol. 342, №5. – P. 314-319.
38. *Lerma J., Paternain A. V., Naranjo J. R., Mellstrom B.* Functional kainate-selective glutamate receptors in cultured hippocampal neurons // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1993. – V.90, N24. – P. 188-192.
39. *Mehta A. K., Ticku M. K.* An update on GABA(A) receptors // *Brain Res. Brain Res. Rev.* – 1999. – V.29, N23. – P. 196-217.
40. *Nusser Z., Mody I.* Selective modulation of tonic and phasic inhibitions in dentate gyrus granule cells // *J. Neurophysiol.* – 2002. – V.87, N5. – P. 2624-2628.
41. *Nutt D.* Imaging receptors in human anxiety / *Internat J Neuropsychopharmacol.* – V. 7 (suppl. 1). – 2004. – P. 17.
42. *Sah P., Hestrin S., Nicoll R. A.* Tonic activation of NMDA receptors by ambient glutamate enhances excitability of neurons // *Science.* – 1989. – V.246, N4931. – P. 815-818.
43. *Schlegel S., Steinert H., Bockisch A.* Decreased benzodiazepine receptor binding in panic disorder measured by iomazenil-SPECT: a preliminary report / *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* – V. 244. –1994. – P. 49-51.

44. *Semyanov A., Kullmann D. M.* Kainate receptor-dependent axonal depolarization and action potential initiation in interneurons // *Nat. Neurosci.* – 2001. – V.4, N7. – P. 718-723.
45. *Shigemoto R., Kinoshita A., Wada E.* et al. Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus // *J. Neurosci.* – 1997. – V.17, N19. – P. 503-522.
46. *Stell B. M., Mody I.* Receptors with different affinities mediate phasic and tonic GABA(A) conductances in hippocampal neurons // *J. Neurosci.* – 2002. – V.22, N10. – P. 223-225.
47. *Weizman R, Laor N, Karp L.* Alteration of platelet benzodiazepine receptors by stress of war /*Am J Psychiatry.* – V. 151. – 1994. – P. 76 p.