

УДК 612.084:16-092.9:615.099.092

ДОСЛІДЖЕННЯ ДОЗОЗАЛЕЖНОСТІ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОГО ЕФЕКТУ ПРЕПАРАТУ «КАПІКОР» ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТУ

Т.С.Жулай, С.К.Шебеко

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: церебропротекторна дія; мельдоній; γ-бутиробетайн; Капикор; гемічна гіпоксія; середня ефективна доза (ED₅₀)

THE STUDY OF THE DOSE-DEPENDENT CEREBROPROTECTIVE EFFECT OF "КАПІКОР" MEDICINE UNDER THE EXPERIMENTAL CONDITIONS

T.S.Zhulay, S.K.Shebeko

National University of Pharmacy

Key words: cerebroprotective action; Meldonium; γ-butyrobetaine; Kapikor; hemic hypoxia; median effective dose (ED₅₀)

The basis of the anti-ischemic therapy is a combination of two complementary concepts – hemodynamic and metabolic. They are implemented due to the different mechanisms of drug actions. "Kapikor" medicine was developed by the Latvian scientists. The medicine is the original regulator of the vascular endothelial function with a binary mechanism of action, which is a combination of Meldonium and γ-butyrobetaine (GBB). The results of the experimental research of the median effective dose (ED₅₀) of "Kapikor" by the cerebroprotective effect, as well as the results of studying its effect on pathologically changed brain tissues on the model of hemic hypoxia caused by introduction of the sodium nitrite (sodium nitrite-induced hypoxia), are presented in the article. On the background of hemic hypoxia in rats "Kapikor" in the doses of 25, 50 and 100 mg/kg had the dose-dependent cerebroprotective effect, which was the most pronounced in the dose of 100 mg/kg. The cerebroprotective effect of "Kapikor" in all doses showed increase in the life expectancy of animals, decrease in the intensity of free radical and destructive processes in the nervous tissue. By the cerebroprotective activity ED₅₀ of "Kapikor" was 56.5 ± 8.5 mg/kg. It is the most optimal dose of "Kapikor" in the experimental study of its cerebroprotective properties. This is the basis for further in-depth pharmacological study of "Kapikor" medicine for the purpose of its introduction into clinical practice as an original medicine with a binary mechanism of action.

Захворювання серцево-судинної системи (ССС) посідають перше місце в Європі та у світі в структурі загальної смертності населення [9, 12, 17]. Так, за даними ВООЗ у 2012 році від кардіоваскулярної патології померло 17,5 млн осіб, що склало 31% від усіх випадків передчасної смерті в світі [11, 17]. З цього числа 6,7 млн осіб померли внаслідок інсульту.

В основі антиішемічної терапії, яка застосовується у сучасній клінічній практиці, лежить взаємодоповнююче поєднання двох концепцій – гемодинамічної та метаболічної, які реалізуються завдяки різним механізмам дії препаратів [1, 3, 16]. У кінцевому підсумку обидва підходи підсилюють адаптацію тканин до функціонування в умо-

вах зниженої доставки кисню і, як наслідок, сприяють збереженню їх структури, цілісності і функціональної активності [1, 3]. Виходячи з даних міркувань, латвійськими вченими був розроблений препарат «Капикор» – оригінальний регулятор функції судинного ендотелію з бінарним механізмом дії, що представляє собою комбінацію мельдонію і γ-бутиробетайну (ГББ) у співвідношенні 3:1 [4, 5].

Усе вищевикладене обумовило доцільність проведення ряду експериментальних досліджень з вивчення фармакологічних властивостей препарату «Капикор» для уточнення середньої ефективної дози за церебропротекторною активністю, а також вивчення характеру його впливу на патологічно змінені

тканини мозку в умовах тотальної гіпоксії організму тварин.

Матеріали та методи

Дослідження середньої ефективної дози (ED₅₀) препарату «Капикор» за церебропротекторною активністю на моделі гемічної гіпоксії було проведено в рамках науково-дослідної роботи «Доклінічне вивчення фармакологічних властивостей препарату «Капикор» на білих нелінійних щурах обох статей. Всі дослідження проводилися відповідно до директиви Ради ЄС 86/609 ЕЕС від 24 листопада 1986 року про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються за експериментальною та іншою науковою метою [6, 7, 12, 13, 14].

Основним зразком даного дослідження став препарат «Капикор» [4] виробництва АТ «Олайн-

Таблиця 1

Вплив Капікору на перебіг гемічної гіпоксії у щурів (n = 50)*

Показник		Інтактний контроль (n = 10)	Контрольна патологія (n = 10)	Капікор, 25 мг/кг (n = 10)	Капікор, 50 мг/кг (n = 10)	Капікор, 100 мг/кг (n = 10)
Маса тіла, г	вихідна	180,5±2,5	178,9±1,7	180,7±2,5	179,5±2,5	178,9±2,2
	10 доба**	184,3±2,4	183,2±2,0	185,3±2,4	185,5±2,5	183,5±2,3
Летальність, %		—	100	100	100	100
Тривалість життя, хв**		—	20,2±1,0	25,8±1,3 ^{2,3,4}	35,7±1,7 ²	38,8±1,9 ²
Маса мозку, г**		1,90±0,06	2,54±0,08 ¹	2,47±0,08 ^{1,3,4}	2,18±0,07 ^{1,2}	2,12±0,07 ^{1,2}
МКМ, %**		1,03±0,03	1,38±0,04 ¹	1,33±0,04 ^{1,3,4}	1,18±0,04 ^{1,2}	1,16±0,04 ^{1,2}

Примітки:

1) * – n – кількість піддослідних тварин на початок експерименту;

2) ¹ – відмінності достовірні щодо інтактних тварин (p < 0,05);

3) ² – відмінності достовірні щодо групи контрольної патології (p < 0,05);

4) ³ – відмінності достовірні щодо тварин, які отримували Капікор у дозі 100 мг/кг (p < 0,05);

5) ⁴ – відмінності достовірні щодо тварин, які отримували Капікор у дозі 50 мг/кг (p < 0,05);

6) ** – день моделювання патології.

фарм» (Латвія) – прозорі капсули з білим порошком для перорального застосування в блистерах. Препарат випускається в картонній упаковці по 60 капсул і має наступний склад (на 1 капсулу):

- мельдонію дигідрат 180 мг;
- γ-бутиробетаїну дигідрат 60 мг.

Дослідження середньої ефективної дози Капікору за церебропротекторною активністю на моделі гемічної гіпоксії було проведено на 50 білих нелінійних щурах обох статей масою 180-200 г, які розподілялися на 5 дослідних груп по 10 тварин у такий спосіб:

- 1 група – інтактний контроль;
- 2 група – контрольна патологія;
- 3 група – тварини з патологією, які отримували Капікор у дозі 25 мг/кг (за сумою діючих речовин), яка відповідає 1/200 ЛД₅₀;
- 4 група – тварини з патологією, які отримували Капікор у дозі 50 мг/кг (за сумою діючих речовин), яка відповідає 1/100 ЛД₅₀;
- 5 група – тварини з патологією, які отримували Капікор у дозі 100 мг/кг (за сумою діючих речовин), яка відповідає 1/50 ЛД₅₀.

Відтворення гемічної гіпоксії проводили шляхом внутрішньошлункового (в/ш) введення 1,5% водного розчину нітриту натрію в дозі 300 мг/кг [2]. Далі розраховували показники активності для всіх доз Капікору для кожного з наступних параметрів: тривалість життя тварин, вміст N-ацетилглюкозаміну (N-ацГА) та реактантів тіобарбітурової кислоти (ТБК-реактантів) у тканині мозку, масовий коефіцієнт мозку (МКМ).

На підставі отриманих даних визначали загальний показник церебропротекторної активності для кожної дози Капікору як середнє арифметичне показників активності впливу на кожен з параметрів. Показник ЕД₅₀ розраховували на підставі залежності церебропротекторної активності препарату методом пробіт-аналізу залежності «доза-активність» [8, 10].

Результати та їх обговорення

До відтворення патології тварини 3, 4 та 5 дослідних груп, починаючи з першого дня експерименту і протягом наступних 10 днів, отримували досліджуваний препарат «Капікор» у відповідних дозах щодня одноразово шляхом в/ш введення

за допомогою зонду у вигляді водних суспензій. Тварини груп інтактного контролю (група 1) і контрольної патології (група 2) у відповідний термін отримували еквівалентний об'єм фізіологічного розчину. Для відтворення гемічної гіпоксії на 10 день експерименту тваринам усіх груп в/ш вводили 5% водний розчин нітриту натрію в дозі 300 мг / кг [2] та протягом 1 години реєстрували зміни досліджуваних показників.

Аналіз показників загального фізичного стану тварин в умовах моделювання гемічної гіпоксії показав, що дана модель характеризується високим ступенем гіпоксичного ураження організму [2], що призводить до неминучої загибелі тварин протягом першої години (табл. 1). Тривалість життя тварин у групі контрольної патології в середньому склала 20,2 хв (табл. 1). При використанні Капікору в усіх дозах цей показник достовірно підвищувався і максимального значення досягав під впливом дози 100 мг/кг – 38,8 хв, що було в 1,9 рази вище, ніж у контрольній групі. Під впливом дози 50 мг/кг Капікор демонстрував недостовірно меншу активність, при цьому середній час життя тварин склав 35,7 хв.

Таблиця 2

Вплив Капікору на біохімічні параметри тканини головного мозку щурів з гемічною гіпоксією (n = 50)*

Піддослідна група	N-ацетилглюкозамін мозку, мг/г	ТБК-реактанти мозку, мкмоль/г
Інтактний контроль (n=10)	0,141±0,005	0,55±0,02
Контрольна патологія (n=10)	0,057±0,002 ¹	1,25±0,04 ¹
Капікор, 25 мг/кг (n=10)	0,073±0,002 ^{1,2,3,4}	1,16±0,04 ^{1,3,4}
Капікор, 50 мг/кг (n=10)	0,107±0,004 ^{1,2}	0,93±0,03 ^{1,2,3}
Капікор, 100 мг/кг (n=10)	0,118±0,004 ^{1,2}	0,75±0,02 ^{1,2}

Примітки:

- 1) * – n – кількість піддослідних тварин на початок експерименту;
- 2) ¹ – відмінності достовірні щодо інтактних тварин (p<0,05);
- 3) ² – відмінності достовірні щодо групи контрольної патології (p<0,05);
- 4) ³ – відмінності достовірні щодо тварин, які отримували Капікор у дозі 100 мг/кг (p<0,05);
- 5) ⁴ – відмінності достовірні щодо тварин, які отримували Капікор у дозі 50 мг/кг (p<0,05).

При використанні дози 25 мг/кг цей показник був достовірно менший і склав 25,8 хв.

Маса мозку тварин групи контрольної патології на тлі розвитку гемічної гіпоксії достовірно збільшувалася в порівнянні з інтактними показниками і в середньому склала 2,54 г, що в 1,3 рази більше, ніж у тварин інтактного контролю (табл. 1). Це призвело до відповідного збільшення показника МКМ, який склав 1,38% (проти 1,03% в інтактній групі). Описана картина свідчить про розвиток запально-деструктивних процесів у головному мозку тварин на тлі розвитку гемічної гіпоксії [2]. Під впливом Капікору у всіх використаних дозах спостерігалася тенденція до нормалізації даних показників різного ступеня вираженості в залежності від використаної дози. Найвищу активність проявив Капікор у дозі 100 мг/кг: під його впливом середня маса мозку тварин достовірно знижувалася до 2,12 г, а показник МКМ – до 1,16%, що на 16% менше, ніж у контрольній групі (табл. 1). Приблизно такий же рівень активності спостерігався і при використанні Капікору в дозі 50 мг/кг: маса мозку склала 2,18 г, а МКМ – 1,18%, без достовірних відмінностей від дози 100 мг/кг. У той же час у дозі 25 мг/кг Капікор не чинив достовірного впливу на дані показники і статистично значимо поступався дозам 50 і 100 мг/кг (табл. 1).

При аналізі біохімічних параметрів тканини головного мозку тварин на тлі розвитку гемічної гіпоксії встановлено, що у тварин групи контрольної патології спостерігалася достовірне зниження у тканині мозку вмісту N-ацГА, який склав 0,057 мг/г, що в 2,5 рази менше, ніж в інтактній групі і свідчить про деструкцію тканин головного мозку [2] (табл. 2).

Найбільш виражений вплив був помітний при використанні Капікору в дозах 50 і 100 мг/кг,

при цьому рівень N-ацГА мозку склав 0,107 і 0,118 мг/г відповідно, що не мало між собою статистичних відмінностей (табл. 2). При використанні дози 25 мг/кг спостерігався менший вплив, а вміст N-ацГА у тканинах мозку склав 0,073 мг/кг, що достовірно менше, ніж у тварин, які отримували Капікор у більш великих дозах (табл. 2).

Крім активізації деструктивних процесів у щурів на тлі розвитку гемічної гіпоксії також відбувалася активізація процесів вільнорадикального окиснення, про що свідчить підвищення в групі контрольної патології вмісту ТБК-реактантів у тканині мозку в 2,3 рази в порівнянні з інтактним рівнем (1,25 проти 0,55 мкмоль/г) (табл. 2). При цьому під впливом Капікору також спостерігалася зниження даного показника, ступінь яко-

го залежав від використаної дози. Так, при використанні Капікору в дозі 100 мг/кг показник ТБК-реактантів мозку знижувався в 1,7 рази в порівнянні з групою контрольної патології і склав 0,75 мкмоль/г. У той же час доза Капікору 50 мг/кг чинила достовірно менший вплив, ніж доза 100 мг/кг, при цьому вміст ТБК-реактантів у тканині мозку знижувався в 1,3 рази до 0,93 мкмоль/г (табл. 2). На відміну від цього при використанні Капікору в дозі 25 мг/кг достовірного зниження даного показника не спостерігалася: рівень ТБК-реактантів знижувався до 1,16 мкмоль/г, що статистично поступалося активності доз 50 і 100 мг/кг (табл. 2).

На наступному етапі дослідження була розрахована церебропротекторна активність Капікору за впливом на показ-

Таблиця 3

Показник церебропротекторної активності Капікору

Показник, %	Доза Капікору, мг/кг		
	25	50	100
Тривалість життя	27,23	76,24	91,58
МКМ	14,46	58,99	65,27
ТБК-реактанти мозку	12,86	45,71	71,43
N-ацетилглюкозамін мозку	19,05	59,52	72,62
Усереднена церебропротекторна активність	18,40	60,12	75,23

ники, що найбільш інформативно відображають перебіг патофізіологічних змін у головному мозку тварин на тлі розвитку гемічної гіпоксії: тривалість життя щурів, вміст ТБК-реактивних і N-ацГА у тканинах мозку та значення МКМ для кожної дози окремо (табл. 3).

Усереднені значення церебропротекторної активності, наведені у табл. 3, були використані для подальших розрахунків показника ЕД₅₀ Капікору при в/ш введенні методом пробіт-аналізу [8, 10]. Встановлено, що за умов розвитку гемічної гі-

поксії значення ЕД₅₀ Капікору за церебропротекторною активністю становить $56,5 \pm 8,5$ мг/кг.

ВИСНОВКИ

1. На тлі розвитку гемічної гіпоксії у щурів, спричиненої введенням нітриту натрію, Капікор у дозах 25, 50 і 100 мг/кг чинить дозозалежну церебропротекторну дію, найбільш виражену у дозі 100 мг/кг.

2. Церебропротекторна дія Капікору в усіх дозах виявляється збільшенням тривалості життя тварин, зниженням інтенсивності вільнорадикальних і деструктивних процесів у нервовій тканині.

3. Значення ЕД₅₀ Капікору за церебропротекторною активністю становить $56,5 \pm 8,5$ мг/кг і є найбільш оптимальною дозою препарату при експериментальному вивченні церебропротекторних властивостей.

4. Вищевикладене є підставою для доцільності подальшого поглибленого фармакологічного вивчення препарату «Капікор» з метою впровадження у клінічну практику як оригінального засобу з бінарним механізмом дії для лікування захворювань, у патогенезі яких провідне місце посідає ішемія.

ЛІТЕРАТУРА

1. Арутюнов Г.П. *Терапевтические аспекты диагностики и лечения заболеваний сердца и сосудов*. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 608 с.
2. *Доклинические исследования лекарственных средств: Метод. рекоменд. / Под ред. А.В. Стефанова*. – К.: Авиценна, 2002. – 528 с.
3. Житникова Л.М. // *Рус. мед. журн.* – 2012. – Т. 20, №4. – С. 137-143.
4. *Інструкція для медичного застосування препарату «Капікор» [Електронний ресурс]*. – Наказ МОЗ України №210 від 15.03.2013 р. – Режим доступу : <http://mozdocs.kiev.ua/likiwiew.php?id=30553>.
5. *Компендиум 2014 – лекарственные препараты / Под ред. В.Н.Коваленко*. – К.: Морион, 2014. – 2448 с.
6. *Настанова СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика (видання офіційне) / О.Стефанов, Т.Бухтіарова, В.Коваленко та ін.* – К.: Моріон, 2009. – С. 37-68.
7. *Настанова СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2014. Лікарські засоби. Доклінічні дослідження безпеки як підґрунтя клінічних випробувань за участю людини та реєстрації лікарських засобів (ІСН МЗ(R2)) / О.Нагорна, Т.Бухтіарова, Т.Талаєва та ін.* – К.: МОЗ України, 2014. – 45 с.
8. *Прозоровский В.Б. Практическое пособие по ускоренному определению средних эффективных доз и концентрации биологически активных веществ*. – С.Пб., 1992. – 42 с.
9. *Руководство по кардиологии / Под ред. В.Н.Коваленко*. – К.: Морион, 2009. – 1348 с.
10. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1.* – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
11. *Cardiovascular diseases (CVDs) [Electronic Resource] // Fact Sheet No. 317.* – WHO, 2015. – Mode of access : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>.
12. *European Detailed Mortality Database [Electronic Resource]*. – WHO, Regional Office for Europe, 2015. – Mode of access : <http://data.euro.who.int/dmdb>.
13. *Good Laboratory Practice / OECD principles and guidance for compliance monitoring.* – OECD, 2005.
14. *Guide for the care and use of laboratory animals.* – 8-th ed. – Washington : The National Academies Press, 2011. – 246 p.
15. *Harrison's principles of internal medicine / Anthony S.Fauci, Eugene Braunwald, Dennis L.Kasper et al.* – New York : McGraw-Hill Medical, 2008. – 2754 p.
16. *New Guide to Medicines & Drugs / J.A.Henry, M.Peters, M.Balic et al.* – London : Dorling Kindersley Limited, 2008. – 512 p.
17. *World Health Statistics 2012.* – Geneva : WHO, 2012. – 176 p.

ДОСЛІДЖЕННЯ ДОЗОЗАЛЕЖНОСТІ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОГО ЕФЕКТУ ПРЕПАРАТУ «КАПІКОР» ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТУ**Т.С.Жулай, С.К.Шебеко****Національний фармацевтичний університет***Ключові слова: церебропротекторна дія; мельдоній; γ-бутиробетайн; Капікор; гемічна гіпоксія; середня ефективна доза (ЕД₅₀)*

В основі антиішемічної терапії лежить взаємодоповнююче поєднання двох концепцій – гемодинамічної та метаболічної, які реалізуються завдяки різним механізмам дії препаратів. Латвійськими вченими був розроблений препарат «Капікор» – оригінальний регулятор функції судинного ендотелію з бінарним механізмом дії, що представляє собою комбінацію мельдонію і γ-бутиробетайну. Наведені результати експериментальних досліджень з вивчення середньої ефективної дози (ЕД₅₀) препарату «Капікор» за церебропротекторною активністю, а також результати вивчення особливості його впливу на патологічно змінені тканини мозку на моделі гемічної гіпоксії, спричиненої введенням нітриту натрію. На тлі розвитку гемічної гіпоксії у щурів Капікор у дозах 25, 50 і 100 мг/кг чинив дозозалежну церебропротекторну дію, найбільш виражену у дозі 100 мг/кг. Церебропротекторна дія Капікору в усіх дозах виявлялась збільшенням тривалості життя тварин, зниженням інтенсивності вільнорадикальних і деструктивних процесів у нервовій тканині. Значення ЕД₅₀ Капікору за церебропротекторною активністю становило 56,5 ± 8,5 мг/кг і є найбільш оптимальною дозою препарату при експериментальному вивченні церебропротекторних властивостей. Вищевикладене є підставою для доцільності подальшого поглибленого фармакологічного вивчення препарату «Капікор» з метою впровадження у клінічну практику як оригінального засобу з бінарним механізмом дії.

ИССЛЕДОВАНИЕ ДОЗОЗАВИСИМОСТИ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОГО ЭФФЕКТА ПРЕПАРАТА «КАПИКОР» В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА**Т.С.Жулай, С.К.Шебеко****Национальный фармацевтический университет***Ключевые слова: церебропротекторное действие; мельдоний; γ-бутиробетайн; Капикор; гемическая гипоксия; средняя эффективная доза (ЕД₅₀)*

В основе антиишемической терапии лежит взаимодополняющее сочетание двух концепций – гемодинамической и метаболической, которые реализуются благодаря различным механизмам действия препаратов. Латвийскими учеными был разработан препарат «Капикор» – оригинальный регулятор функции сосудистого эндотелия с бинарным механизмом действия, представляющий собой комбинацию мельдония и γ-бутиробетайна. В статье представлены результаты проведенных экспериментальных исследований по изучению средней эффективной дозы (ЕД₅₀) препарата «Капикор» по церебропротекторной активности, а также результаты изучения характера его воздействия на патологически измененные ткани мозга на модели гемической гипоксии, вызванной введением нитрита натрия. На фоне развития гемической гипоксии у крыс Капикор в дозах 25, 50 и 100 мг/кг оказывал дозозависимое церебропротекторное действие, наиболее выраженное в дозе 100 мг/кг. Церебропротекторное действие Капикора во всех дозах проявлялось увеличением продолжительности жизни животных, снижением интенсивности свободнорадикальных и деструктивных процессов в нервной ткани. Значение ЕД₅₀ Капикора по церебропротекторной активности составило 56,5 ± 8,5 мг/кг и является наиболее оптимальной дозой препарата при экспериментальном изучении церебропротекторных свойств. Вышеизложенное является основанием для целесообразности дальнейшего углубленного фармакологического изучения препарата «Капикор» с целью внедрения в клиническую практику как оригинального средства с бинарным механизмом действия.

Адреса для листування:
61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 27.
Тел. (57) 706-30-72. E-mail: clinpharm@nuph.edu.ua.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 10.08.2016 р.