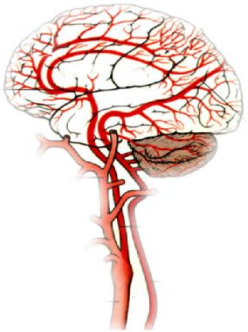


МОЗ України
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова

РОЗРОБКА ТА СТВОРЕННЯ НОВОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ НА ОСНОВІ ПОХІДНОГО АДАМАНТАНУ ДЛЯ ТЕРАПІЇ ГОСТРОЇ ІШЕМІЇ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА СЕРЦЯ

Ходаківський Олексій Анатолійович

доктор медичних наук, завідувач Навчально-науково-дослідної лабораторії з доклінічної оцінки лікарських засобів та біологічно-активних речовин «Фармадар», професор кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова

Вінниця 2017

Актуальність проблеми

- Серце та головний мозок є взаємозв'язаними органами-мішенями судинної патології, клінічні варіанти якої (ішемічна хвороба серця та мозковий інсульт) – лідери в структурі смертності населення багатьох країн і, зокрема, України (Трошин В. Д., Бровков Н. Н., 2010; Анацкая А. Н., 2011; AHA/ASA, 2008; ESO 2008).
- У 20-40% хворих після перенесеної гострої судинної катастрофи відмічається зниження соціальної активності і вони потребують сторонньої допомоги (Зозуля Ю. П., 2006; Катушкина Э. А., Парфенов В. А., 2011). У підсумку це призводить до великих економічних витрат, які складають до 6% бюджету охорони здоров’я країни (Бокерия Л. А., Алекян Б. Г., Бузиашвили Ю. И., 2012).
- Обидві групи захворювань об’єднує значна кількість спільних факторів ризику та подібність патогенезу.
- Згідно засад доказової медицини та міжнародних рекомендацій стосовно терапії інсульту, транзиторних ішемічних атак, інфаркту міокарда та гострого коронарного синдрому на сьогодні не існує еталонного кардіо- і церебропротектора із доведеною ефективністю для лікування гострої ішемії (AHA/ASA, 2008; Davalos A. et al., 2012; ESO 2008).

Саме тому актуальним завданням сучасної фармакологічної кардіоневрології є пошук біологічно активних речовин із цитопротекторною дією на ішемізований головний мозок та міокард, які є перспективними для створення нового лікарського засобу із даними властивостями .

Адамантани володіють широким спектром фармакологічних властивостей. Зокрема, наявність противірусної, антигіпоксичної, протиішемічної, анксіолітичної, адаптогенної, нейро-, акто- та термопротекторної дії (Лозинський М. О., та інш., 2002; Короткий Ю. В. та ін., 2003; Драчук О. П., 2008), дає всі підстави сподіватись на можливе виявлення серед цих речовин сполуки із захисною дією на головний мозок і серце в умовах їх ішемічного ураження, придатну для створення нового препарату.

Перспективним є те, що речовини цього ряду, зокрема сполука ЮК-1 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (адемол) має елементи структурної схожості з пропранололом, їй притаманні антихолінестеразні, гангліо- та β-адреноблокуючі властивості, утеротонічний, аналгетичний, транквілізуючий антиамнестичний та антигіпоксичний ефекти (Короткий Ю.В. та ін., 2005; Драчук О. П. та ін., 2008).

Мета і задачі дослідження

- ***Метою роботи*** **є експериментальне обґрунтування можливості підвищення ефективності первинної церебро- і кардіопротекції при гострій ішемії головного мозку та міокарда шляхом доклінічної оцінки цих видів фармакологічної активності у 1,0 % ампульного розчину, що в якості діючої речовини містить 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (умовна назва ЮК-1, адемол), якому одночасно притаманна NMDA-модулювальна та неселективна β-адреноблокуюча дії, а також встановити додаткові внутрішньоклітинні механізми цитопротективних ефектів нового лікарського засобу**

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі *задачі:*

1. **Провести скринінг церебро- та кардіопротекторної активності 1,0 % ампульного розчину, який в якості діючої речовини містить 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид (умовна назва ЮК-1, адемол) для подальшого дослідження його органопротекторних властивостей.**
2. **В умовах ішемії головного мозку двох видів тварин із різними анатомо-фізіологічними особливостями мозкового кровообігу (монгольські піщанки, щури) дослідити вплив адемолу на динаміку показника летальності (виживаності).**
3. **Охарактеризувати вплив 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) за критерієм впливу на функціональну активність NMDA-рецепторів ізольованих нейронів гіппокампу.**
4. **Визначити вплив адемолу на мозковий кровообіг, неврологічний статус та стан пам’яті у тварин з гострим порушенням мозкового кровобігу.**

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше **з використанням єдиного комплексного підходу у дослідах in vivo та in vitro була протестовано сполука під шифром сполука ЮК-1 (1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлорид), яка стала основою для створення нового лікарського засобу з церебро- та кардіопротекторними властивостями (адемол), яка виявляє якості модулятора NMDA-рецепторів і має найбільш виражені, порівняно із вітчизняними та закордонними референсними препаратами аналогічної спрямованності, нейропротективні і кардіопротективні властивості.** ***Вперше*** **встановлено широкий спектр нейро- і кардіопротективної дії адемолу на різних рівнях (від молекулярних і морфологічних змін в нейронах та кардіоміоцитах до формування поведінкових і неврологічних функцій).** ***Вперше*** **виявлені молекулярно-біохімічні каскадні механізми, за допомогою яких реалізується його захисна дія на ішемізований головний мозок та міокард.** ***Вперше*** **встановлено, що курсове лікувальне введення адемолу в умовах гострого порушення мозкового кровотоку та інфаркту міокарда, як і цитиколіну, мексидолу та корвітину, супроводжується відновлювальним впливом на енергетичні процеси, показники оксидантно-антиоксидантного балансу, окисної модифікації білків, кислотно-лужної рівноваги, обміну монооксиду азоту та цитоархітектоніку соматосесорної кори головного мозку та міокарда. За зазначеними властивостями адемол не поступається або перевершує референс-препарати.** ***Вперше*** **встановлено, що адемолу в умовно-ефективних дозах притаманна стимулювальна дія на кровопостачання каротидного та вінцевого басейнів головного мозку і міокарда без наявного негативного впливу на серцевий викид та центральну гемодинаміку. Вперше доведено, що покращання морфологічних показників сомато-сенсорної кори головного мозку та міокарда корелює із зменшенням активності раннього маркера ушкодження мембран нейронів нейронспецифічної енолази та пригніченням процесів нейро- та кардіоапоптозу. Наукову новизну підтверджено 2 патентами України, які пройшли кваліфікаційну експертизу, та 2 патентами України на корисну модель.**

Практичне значення одержаних результатів. **Результати роботи експериментальн обґрунтовують доцільність створення та клінічного випробування лікарського препарату н основі 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (ЮК-1, адемол) ін'єкційній формі для лікування гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК) т інфаркту міокарда (ІМ). Наявні цитопротекторні властивості адемолу в умовах гостро церебральної та кардіальної ішемії є головними, оскільки, враховуючи можливіст парентерального введення та наявність впливу на первинні патогенетичні ланки ішемічного каскаду, є всі підстави для його можливого призначення хворим у ранні строки судинно катастрофи. Отримані в дисертаційній роботі дані значно розширюють уявлення пр механізми нейропротекторної і кардіопротекторної дії модуляторів NMDA-рецепторів т дадуть можливість проводити цілеспрямований синтез сполук вказаного ряду із зазначено дією. За матеріалами роботи *видано* два інформаційних листа про нововведення в систем охорони здоров'я № 465-2012 та № 3-2013. Результати проведеного дослідження *впроваджено* навчальний та науковий процес кафедр фармакології і біологічної та загальної хімії ВНМУ імен М.І. Пирогова, кафедри фармакології Буковинського державного медичного університет кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету, кафедр експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗ «Українська медична стоматологічна академія».**

Економічний ефект від впровадження – створено новий, вітчизняний більш ефективний церебро- та кардіопротекторний засіб (адемол) конкурентоспроможний із вітчизняними та закордонними цитопротекторами, що дозволить знизти показники летальності та інвалідизації хворих з ішемічним інсультом і інфарктом міокарда, покращуючи їх якість та тривалість життя.

Особистий внесок автора розробки. Автором самостійно проведено літературний і патентний пошуки за темою наукової роботи, опановано методи і виконано експериментальну програму дослідження, здійснено статистичну обробку отриманих результатів, самостійно сформульовано мету й задачі, основні наукові положення та висновки, написано Текст роботи. У працях, опублікованих у співавторстві, внесок д.мед.н., проф. Ходаківського О.А. є визначальним.

Кількість публікацій: За темою дослідження загалом опубліковано 33 роботи, у т.ч., 16 статей у фахових наукових виданнях (з яких 2 в наукометричних індекс-цитованих виданнях, що входять до бази Scopus), 4 статті у зарубіжних виданнях. Згідно бази даних Google Shcolar загальна кількість посилань – складає 115, h-індекс (за роботою) = 6 та i10-індекс = 3. Новизну та конкурентоспроможність технічних рішень захищено 2 патентами України, які пройшли кваліфікаційну експертизу (патент на винахід), 2 патентами України на корисну модель, видано 2 інформаційні листи МОЗ України та 6 тез доповідей на міжнародних конференціях, з'їздах та конгресах. За даною тематикою захищена одна дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук

Здійснено впровадження адемолу у виробництво ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» як лікарського засобу з церебро- та кардіопротекторними властивостями (наказ по ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» № 1/2164 від 23.09.2013 р.).

ФАРМАЦЕВТИЧНА ФІРМА **Дарниця**

ПрАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця"
вул. Бориспільська, 13, Київ 02093, Україна
Код ЄДРПОУ: 00481212
р/р 2600630510401 в ПАТ "Банк Кредит Дніпро"
МФО 305749

Тел.: (+380 44) 566-68-78 (приймальня)
Факс: (+380 44) 568-32-10
(+380 44) 207-73-10
(+380 44) 207-73-18 (відділ управління продажами)
(+380 44) 207-73-19

http://www.darnitsa.ua

№ 1/2164 від 23.09.2013

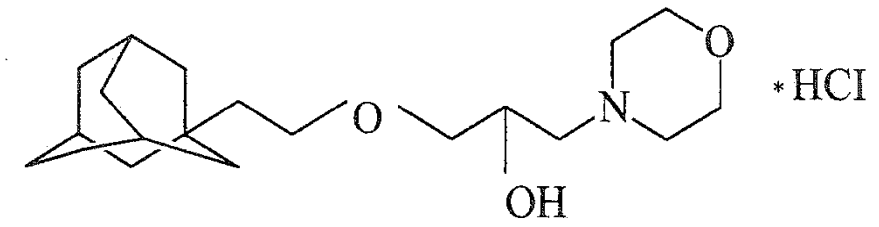
на № _____ від _____

ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» займається впровадженням лікарського засобу «АДЕМОЛ», розчин для ін'єкцій у промислове виробництво з метою застосування в якості церебропротекторного та кардіопротекторного лікарського засобу.

Генеральний директор Загорій Г.В.

ПРЕПАРАТИ ПОРІВНЯННЯ

Адемол
Сполука ЮК-1

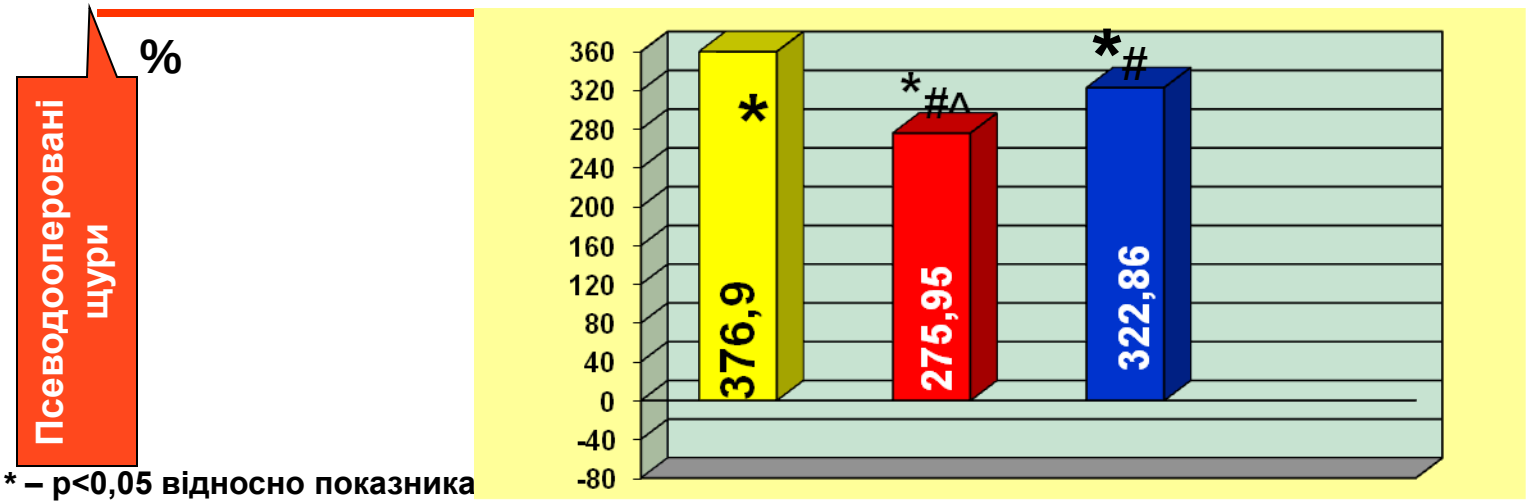


МЕКСИДОЛ («Мексидол», НВК Фармасофт, Росія), 100 мг/кг;
ЦИТИКОЛІН («Сомазіна» Ferrer Snternational, S.A., Іспанія), 250 мг/кг;
АКТОВЕГІН («Актовегін», Nycomed, Австрія), 16 мг/кг;
ПІРАЦЕТАМ («Пірацетам» Дарниця, Україна), 400 мг/кг;
ВІНПОЦЕТИН («Кавінтон», Richter Gedeon Ltd, Угорщина), 5 мг/кг;
ПЕРЛІНГАНІТ («Перлінганіт» Schwarz Pharma, Німеччина), 10 мкг/кг/хв;
ТІОТРИАЗОЛІН («Тіотриазолін» ТОВ Галичфарм, Україна) 100 мкг/кг;
КОРДАРОН («Аміодарон» KRKA, Словенія) 10 мг/кг;
КОРВІТИН («Корвітин», Борщагівський ХФЗ, Україна), 100 мг/кг.

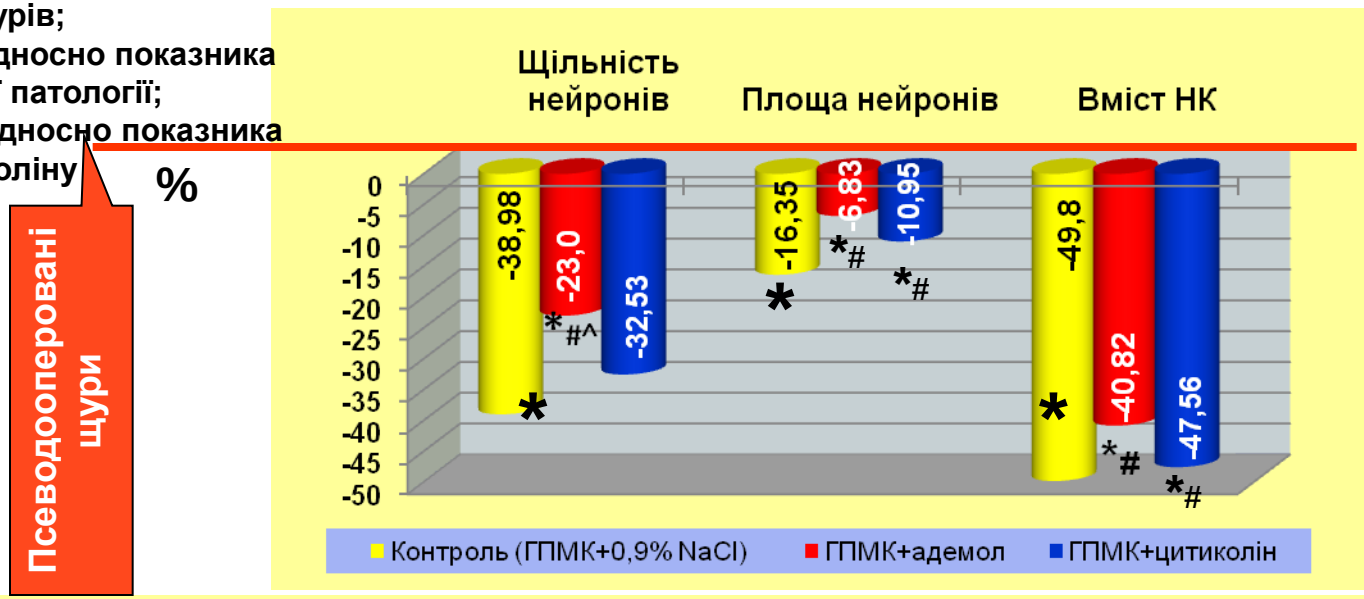
Вплив окремої курсової терапії адемолом, мексидолом та пірацетамом на перебіг гострої церебральної ішемії у гербел

Висновок: найбільш ефективною церебропротекторною дозою адемолу є 2 мг/кг (не поступається ефекту мексидолу в дозі 100 мг/кг вірогідно перевершує пірацетам (400 мг/кг в/о)

Зміни мікроморфометричних показників соматосенсорної кори головного мозку щурів на 4-ту добу гострої церебральної ішемії (шар IV-V) на тлі окремого лікувального введення адемолу та цитиколіну (у % до рівня псевдооперованих щурів) (n=10)

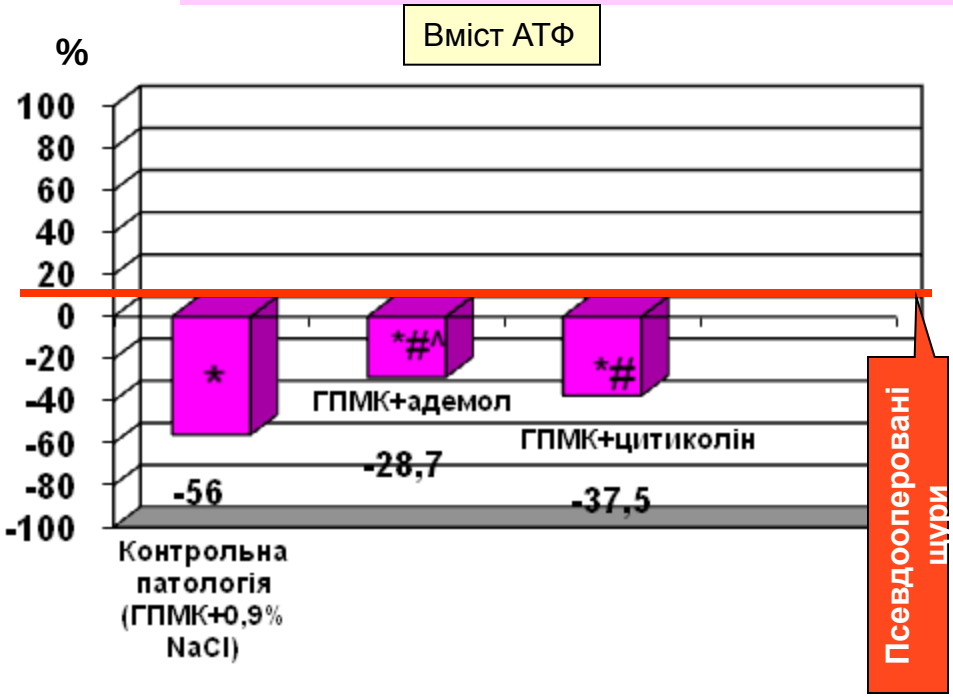


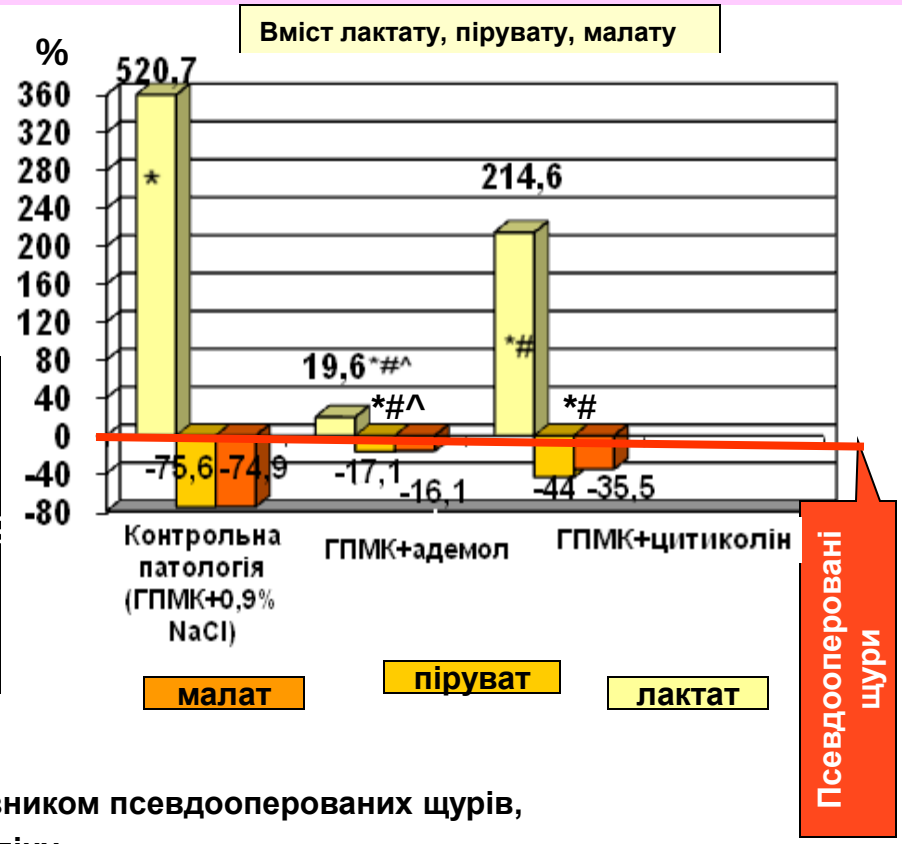
* – p<0,05 відносно показника інтактних щурів;
# – p<0,05 відносно показника контрольної патології;
^ – p<0,05 відносно показника групи цитиколіну



Висновок: адемол при ГПМК вірогідно переважав цитиколін за здатністю зберігати кількість морфофункціонально непошкоджених нейронів.

Вплив адемолу та цитиколіну на енергетичний обмін у головному мозку щурів із ГПМК (4-та доба, зміни у % до рівня псевдооперованих щурів, n=10)

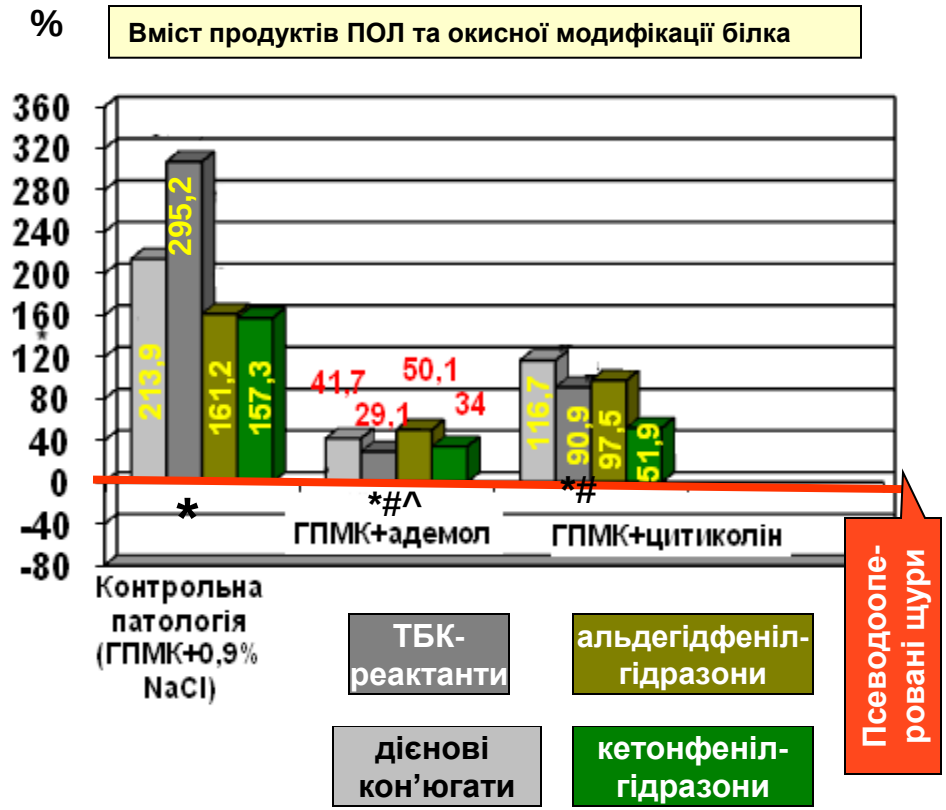


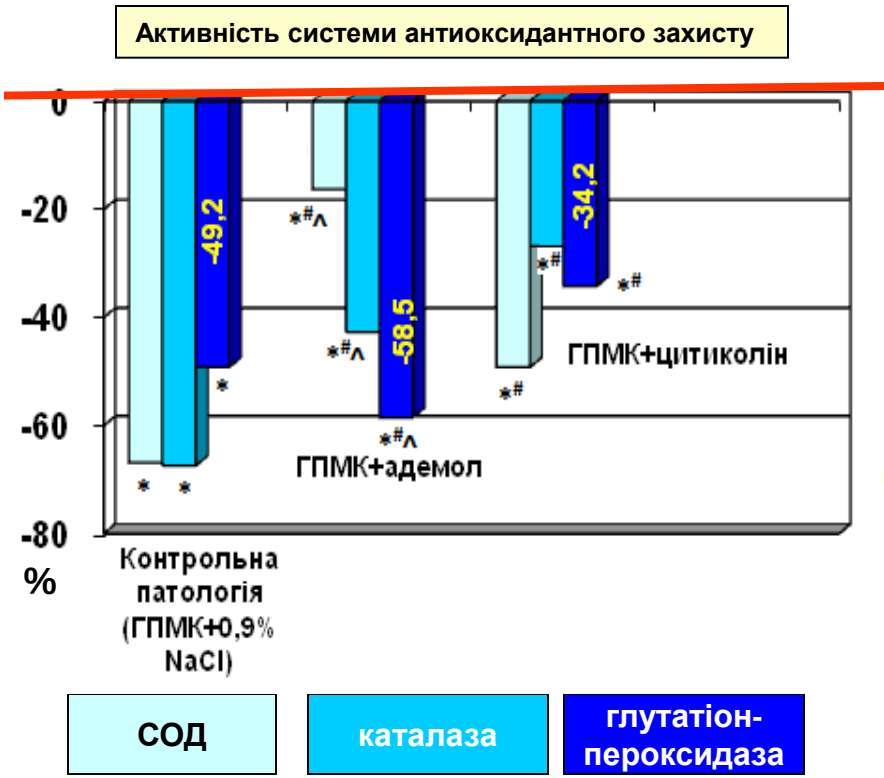


Статистично значущі відмінності (p<0,05): * – із показником псевдооперованих щурів, # – із контрольною патологією, ^ – з ефектом цитиколіну

Висновок: адемол при ГПМК переважає цитиколін за здатністю нормалізовувати енергетичний обмін в ішемізованому головному мозку

Вплив адемолу та цитиколіну прооксидантно-антиоксидантний баланс у головному мозку щурів із ГПМК (4-та доба) (зміни у % до рівня псевдооперованих щурів, n=10)





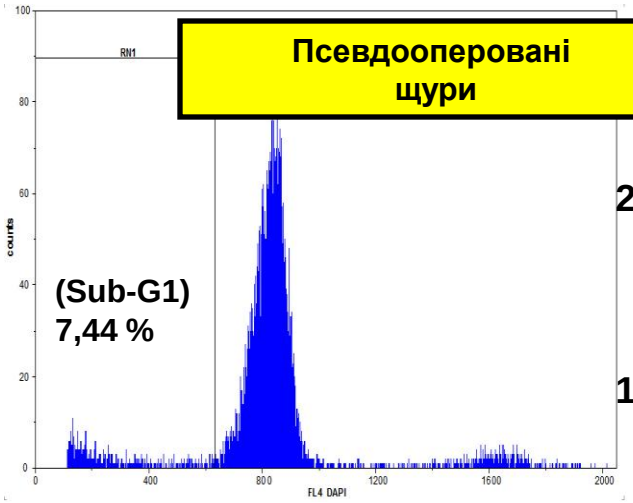
Статистично значущі відмінності (p<0,05): * – із показником псевдооперованих щурів, # – із контрольною патологією, ^ – з ефектом цитиколіну

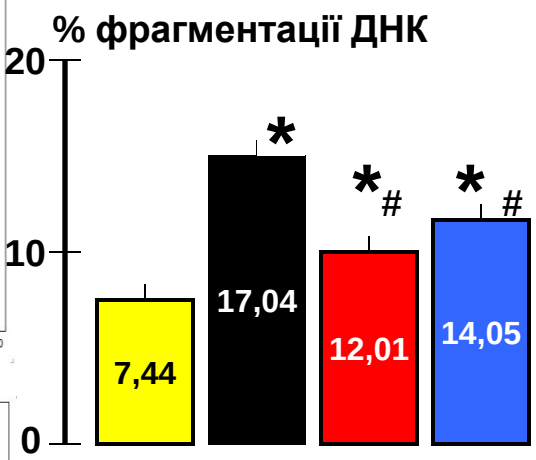
Висновок: адемол при ГПМК переважає цитиколін за здатністю нормалізовувати прооксидантно-антиоксидантний баланс

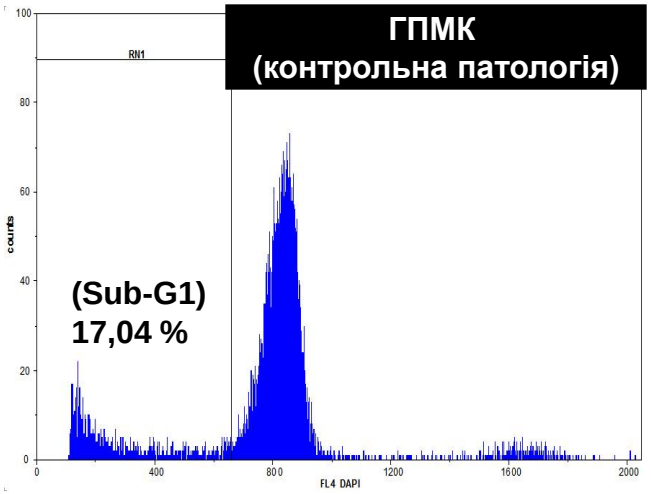
Вплив адемолу та цитиколіну на фрагментацію ДНК (%) в ядрах кортикальних нейронів щурів на 72 год ГПМК; проточна ДНК-цитометрія (M±m, n=8)

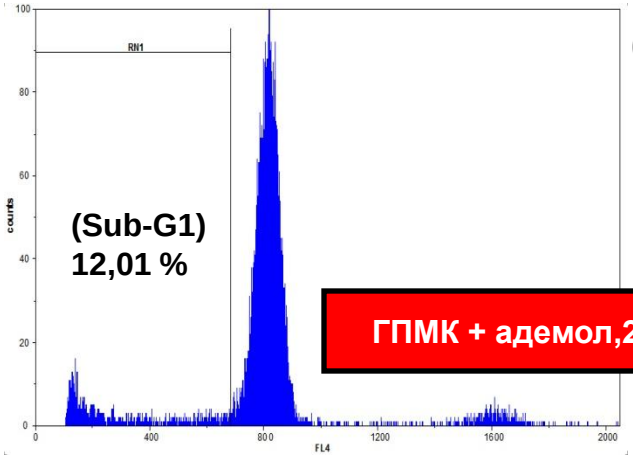
*** - p<0,05 відносно псевдооперованих тварин;**

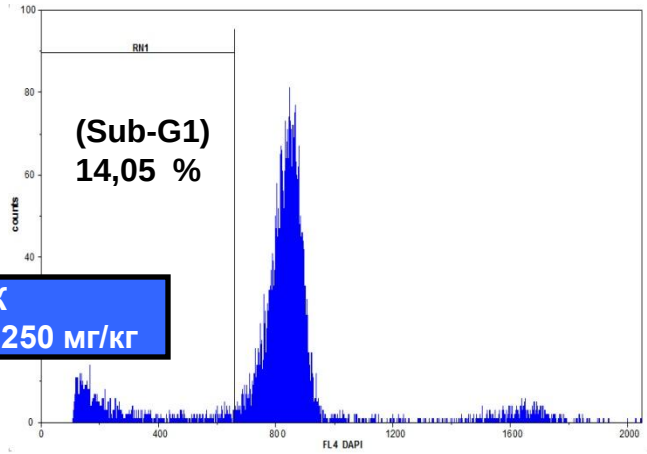
 # - p<0,05 відносно контрольної патології;





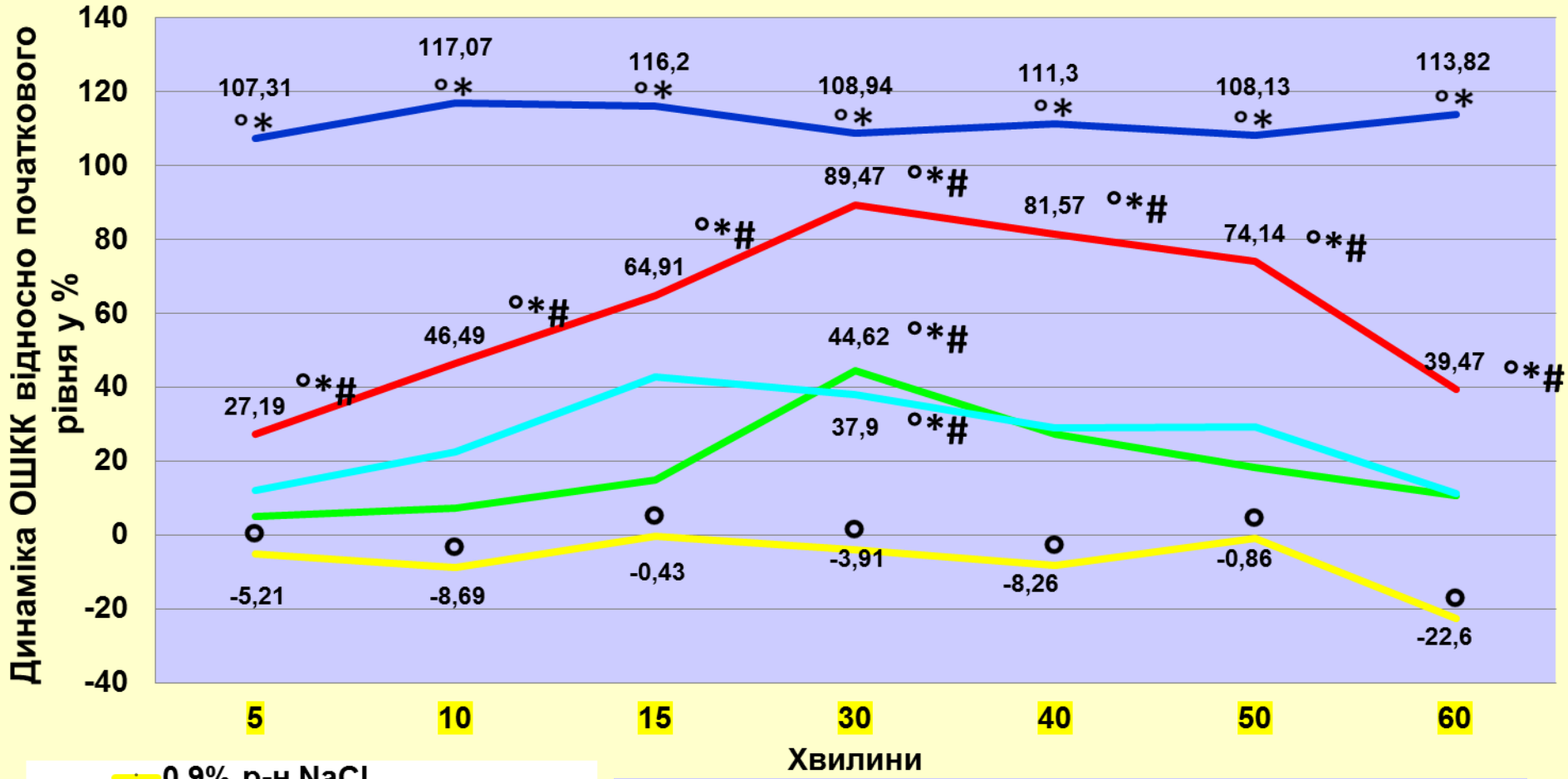






Висновок: адемол зменшує нейроапоптоз у головному мозку щурів із ГПМК вірогідно краще цитиколіну

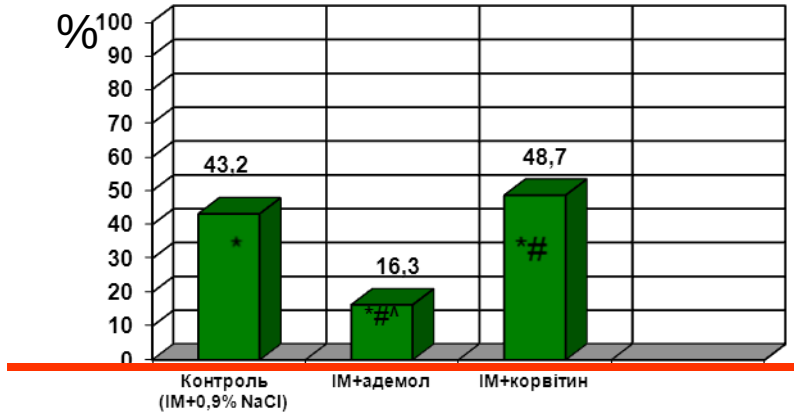
Вплив внутрішньовенного введення 0,9% розчину NaCl, адемолу (сполуки ЮК-1) та 0,1% розчину перлінганіту на динаміку вінцевого кровобігу у наркотизованих котів, n=7



- 0,9% р-н NaCl
- адемол (ЮК-1) 2 мг/кг
- адемол (ЮК-1) 5 мг/кг
- адемол (ЮК-1) 10 мг/кг
- перлінганіт

° - p<0,05 відносно початкового рівня;
*- p<0,05 відносно контролю;
#- p<0,05 відносно перлінганіту (5 мг/кг в/в).

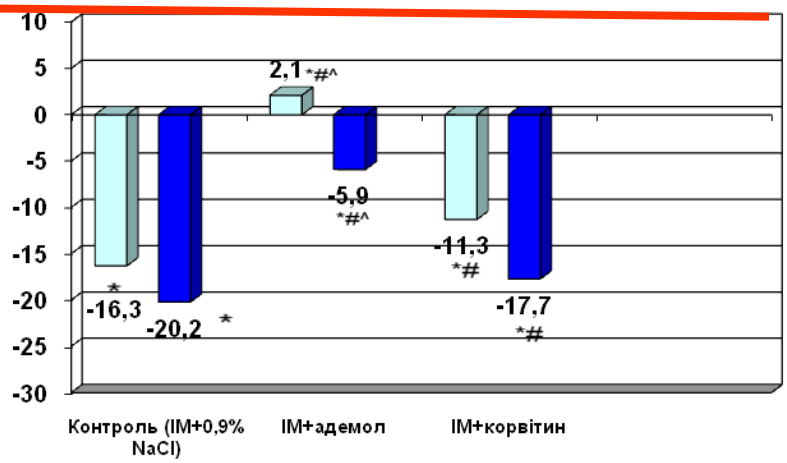
Морфофункціональна характеристика кардіоміоцитів при експериментальному інфаркті міокарда (4-та доба) на тлі лікувального введення адемолу (10 мг/кг) та корвітину (10 мг/кг), n=10 (у % відносно відповідних показників у інтактних щурів)



Площа ядер кардіміооцитів

Статистично значущі відмінності (p≤0,05): * – із показником псевдооперованих щурів, # – із контрольною патологією, ^ –з ефектом корвітину

Інтактні щури



Інтактні щури

Щільність ядер

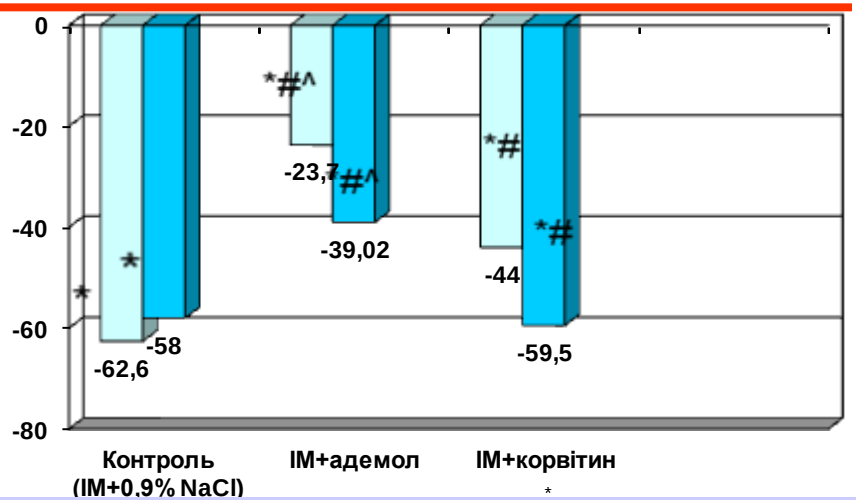
Вміст НК

Висновок: адемол при ГПМК вірогідно переважав корвітин за здатністю зберігати кількість морфофункціонально непошкоджених кардіоміоцитів.

Вплив адемолу (10 мг/кг) та корвітину (10 мг/кг) на показники метаболізму NO в міокарді при експериментальному інфаркті 4-та доба, n=10 (зміни у % до рівня псевдооперованих щурів)

Псевдооперовані щури

%



Активність NOS

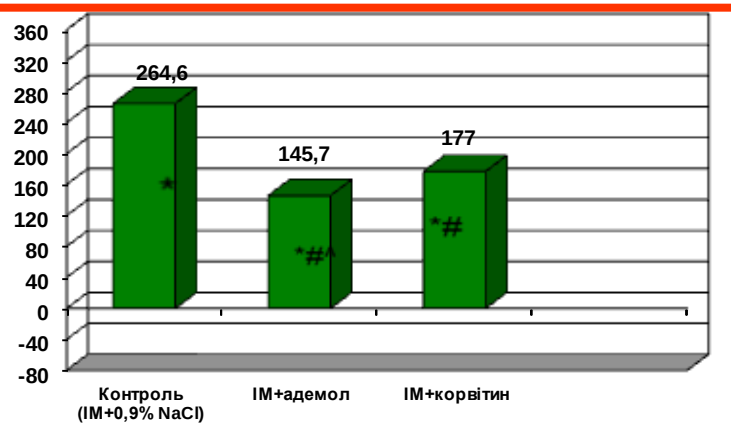
Метаболіти NO (нітрати)

ІМ – інфаркт міокарда;
* – p<0,05 відносно відповідного показника інтактних щурів;
# – p<0,05 відносно відповідного показника групи контрольної патології (ІМ + 0,9 % NaCl);
^ – p<0,05 відносно відповідного показника групи корвітину.

Вміст в міокарді нітротирозину

Псевдооперовані щури

%



Висновок: адемол при ІМ вірогідно переважав корвітин за спроможністю перешкоджати розвитку нітрозуючого стресу та ендотеліальної дисфункції

Складові церебро- та кардіопротекторної дії адемолу

ВИСНОВКИ

- У роботі наведене теоретичне узагальнення вирішення актуальної наукової проблеми фармакології, що виявляється у підвищенні ефективності фармакотерапії порушень мозкового кровообігу та інфаркту міокарда шляхом застосування модулятора активності NMDA-рецепторів 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанол гідрохлориду (ЮК-1 – адемол), який, завдяки коригувальній дії на формування глутаматної ексайтотоксичності та впливу на ключові внутрішньоклітинні ланки патобіохімічного каскаду в нейронах та кардіоміоцитах, включаючи апоптотичні програми, сприяє реалізації засад первинної церебро- та кардіопротекції.

1. Фармацевтична композиція 1,0 % розчину, яка містить у своєму складі в якості діючої речовини 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанол гідрохлорид (сполука ЮК-1 – адемол), яку піддавали скринінгу на церебро- та кардіопротекторні властивості, збільшує виживаність на моделі білатеральної каротидної оклюзії у щурів та виявляє кардіопротекторну дію на моделях гострої адреналінової кардіопатії і діатермокоануляційного некрозу міокарда. Максимальний церебро- та кардіопротекторний ефект адемолу забезпечує умовно ефективна доза 2 та 10 мг/кг внутрішньоочеревинно.
2. У монгольських піщанок із моделлю гострої церебральної ішемії за курсового лікувального введення сполука ЮК-1 (адемол) умовно ефективною дозою 2 мг/кг подібно до цитиколіну (250 мг/кг) створює стовідсотковий захист головного мозку гербел в умовах гострого порушення мозкового кровообігу увпродовж перших 8 год. За спроможністю підвищувати виживаність щурів з БКО впродовж 96 год спостереженя ЮК-1 (адемол) переважає мексидол (100 мг/кг в/о), цитиколін (250 мг/кг в/о), актовегін (16 мг/кг в/о) та пірацетам (400 мг/кг в/о).
3. Сполука ЮК-1 (адемол) має властивості активатора NMDA-рецепторно-іонофорного комплексу пірамідних нейронів гіпокампа із швидкою блокадою/деблокадою NMDA-рецепторів, що робить ЮК-1 сполукою-лідером за церебропротекторною дією. демол (2 мг/кг) покращує кровообіг в каротидному басейні на рівні вінпоцетину (5 мг/кг) не тільки в умовах наркозу, а й при гострому порушенні мозкового кровообігу. Експериментальна курсова терапія щурів адемолом умовно ефективною дозою 2 мг/кг ефективніше за цитиколін (250 мг/кг) зменшує виразність неврологічних порушень, що супроводжується покращанням мнестичних функцій у тварин із гострим порушенням мозкового кровообігу на 21-шу добу.
4. Лікувальне введення ЮК-1 зменшує нейродеструктивні процеси в ішемізованому головного мозку, що доводиться вірогідним зниженням на 4-ту добу ішемії активності нейронспецифічної енолази в крові відносно групи контрольної патології та тварин, лікованих мексидолом, у середньому відповідно в 2,2 та 1,7 рази ($p<0,05$).

5. Терапія адемолом щурів з модельним ішемічним інсультом краще цитиколіну протидіє зменшенню у сомато-сенсорній корі головного мозку щурів на 4-ту добу гострого порушення мозкового кровообігу площі тіл нейронів та вмісту в них нуклеїнових кислот у середньому на 7,3 та 13,4 %, переважаючи референс-препарат цитиколін за здатністю зменшувати щільність деструктивно-змінених нейронів у 1,14 рази.
6. Біохімічні складові механізму церебропротекторної дії сполуки ЮК-1 (адемолу) при гострій церебральній ішемії характеризуються відновленням енергопостачання головного мозку (збільшення вмісту АТФ, малату та пірувату), зменшенням вмісту лактату та усуненням декомпенсованого метаболічного ацидозу (нормалізація pH крові, що відтікає від мозку, та інших показників кислотно-лужної рівноваги), коригувальним впливом на активність NOS та вміст стабільних метаболітів монооксиду азоту, зниженням інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів і окисної модифікації білків, активацією ферментативної ланки антиоксидантного захисту мозку (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза). За цими властивостями адемол перевершує цитиколін та мексидол ($p<0,05$).
7. Сполука ЮК-1 (адемол) покращує кровопостачання міокарда без негативного впливу на серцевий викид та центральну гемодинаміку. В умовах пітуїтрин-ізадринового інфаркту міокарда лікувальне введення адемолу, як і референс-препарату корвітину, вірогідно сприяє зменшенню амплітуди сегменту ST, збереженню щільності ядер, нормалізації їх площі та підвищенню вмісту в них нуклеїнових кислот. За цими показниками адемол вірогідно ($p<0,05$) переважає корвітин у середньому відповідно на 15,5, 15,1, 21,8 та 14,3 %.
8. Біохімічні складові механізму кардіопротекторної дії сполуки ЮК-1 (адемолу) при інфаркті міокарда характеризуються відновленням енергопостачання міокарда (збільшення вмісту АТФ, малату та пірувату), зменшенням вмісту лактату, модулювальним впливом на обмін мооксиду азота, зниженням інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів і окисної модифікації білків, активацією ферментативної ланки антиоксидантного захисту мозку (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза). За зазначеними властивостями адемол не поступається або перевершує корвітин.
9. В умовах гострого порушення мозкового кровообігу та інфаркту міокарда адемол чинить модувальний вплив на експресію в серці та головному мозку генів раннього реагування c-fos та bcl-2, що гальмує експансію ділянки тотальної ішемії, «переключаючи» некротичний тип смерті нейронів та кардіоміоцитів на більш сприятливий апоптотичний, що дозволяє зберегти цитоархітектоніку тканини. У постреперфузійному періоді гострої церебральної ішемії адемол вірогідно краще за цитиколін (у середньому на 14,5 %, $p<0,05$) зменшує інтенсивність фрагментації ДНК (маркеру нейроапоптозу) в ядрах кортикальних нейронів, що свідчить про антиапоптотичні властивості досліджуваної сполуки.
10. Комплексний механізм церебро- та кардіопротекторної дії фармацевтичної композиції 1,0 % розчину, яка містить у своєму складі в якості діючої речовини 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанол гідрохлорид (сполука ЮК-1 – адемол) в умовах гострого порушення мозкового кровообігу та інфаркту міокарда пов'язаний з модулювальним впливом на активність NMDA-рецепторів, стимуляцією кровопостачання головного мозку та серця, усуненням енергодефіциту, метаболічного ацидозу, оксидативного ушкодження нейронів та кардіоміоцитів, коригувальним впливом на обмін монооксиду азоту, збереженням цитоархітектоніки обох органів, у тому числі, за рахунок зменшення апоптозу.
11. Зважаючи на отримані фармакодинамічні дані стосовно безпечності (адемол є малотоксичною речовиною, його DL_{50} становить 320 мг/кг внутрышньоочеревинно), церебро- та кардіопротекторної дії фармацевтичної композиції 1,0 % розчину, яка містить у своєму складі в якості діючої речовини 1-адамантилетилокси-3-морфоліно-2-пропанол гідрохлорид (сполука ЮК-1 – адемол), її можна рекомендувати для проведення повномаштабних клінічних досліджень ефективносты при інсульті та інфаркті міокарда