

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**Шатілова Ольга Андріївна**

**УДК 615.214.32: 615.214:615.272.3: 615.225**

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНИХ  
ТА ПСИХОТРОПНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ДІАКАМФУ**

**14.03.05 – фармакологія**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
**дисертації на здобуття наукового ступеня**  
**кандидата фармацевтичних наук**

**Харків 2010**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Національному фармацевтичному університеті МОЗ України, м. Харків.

Науковий керівник – доктор медичних наук, професор  
**Штриголь Сергій Юрійович**,  
Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів  
фармації Національного фармацевтичного  
університету, професор кафедри технології ліків  
та клінічної фармакології з фармацевтичною опікою

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор  
**Дев'яткіна Тетяна Олексіївна**,  
Вищий навчальний заклад України «Українська  
медична стоматологічна академія», професор  
кафедри експериментальної та клінічної  
фармакології

доктор медичних наук, професор  
**Киричок Людмила Трохимівна**,  
Харківський національний медичний університет,  
професор кафедри фармакології та медичної  
рецептури

Захист відбудеться «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2010 р. о \_\_\_ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 у Національному фармацевтичному університеті МОЗ України за адресою: 61002, м.Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету за адресою: 61168, м. Харків, вул. Блюхера 4.

.

Автореферат розісланий «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2010 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради,  
доктор фармацевтичних наук, доцент

Т.С. Сахарова

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Цукровий діабет (ЦД) є одним із найбільш розповсюджених захворювань сучасності. Його поширеність набула епідемічного характеру: за даними різних авторів на теперішній час у світі нараховують понад 160 млн. хворих (О.В.Земляницина, 2008). У структурі захворюваності переважає ЦД II типу (S.S.Daskalopoulou, 2004).

Медико-соціальне значення ЦД обумовлено високим ризиком інвалідизації, смертності та наявністю численних ускладнень, що обтяжують перебіг захворювання, погіршують його прогноз та вимагають додаткових зусиль при лікуванні (И.И.Дедов, 1998; N.N.Abourisk, 1996). ЦД змінює звичний життєвий стереотип хворих, впливає на рівень їх соціальної адаптації та погіршує якість життя, тому є актуальним визначення взаємозв'язку між особливостями метаболізму та психічного стану хворих (Б.Б.Салтыков, 2003). Останнім часом зросла кількість хворих на цереброваскулярні та психічні захворювання, серед яких значно частіше, ніж у загальній популяції, зустрічаються порушення вуглеводного обміну (Y.Hong, 2007). Це може бути пов'язано як із побічною дією психотропних препаратів, так і з первинними змінами в головному мозку (Н.А.Кравчун, 2005). Поширеність психічних розладів у хворих на ЦД перевищує популяційні показники в 2-3 рази (Н.В.Местер, 2007). Психічні порушення погіршують якість життя хворих і вимагають додаткових витрат на їх лікування та догляд.

Складність, різноманітність та взаємозв'язок патогенетичних механізмів ЦД призвели до того, що для лікування призначається одночасно значна кількість препаратів (від 5 до 11 і більше). В таких умовах лікарю складно врахувати результати взаємодії між ліками, що збільшує ризик побічних реакцій, які розвиваються в 4-29% хворих на ЦД II типу (Т.Г.Перцева, 2008). До того ж фармакотерапія ЦД та його ускладнень є дуже витратною. Тому, якщо протидіабетичний препарат окрім основної функції – нормалізації вуглеводного обміну – чинить додатковий органопротекторний ефект, це зменшує кількість лікарських засобів, витрати на лікування і знижує розвиток небажаних реакцій. Розробка нейропротекторної терапії протидіабетичними засобами сприятиме не тільки подовженню тривалості життя пацієнтів із ЦД, але й збереженню когнітивних функцій, поліпшенню психічного та неврологічного статусу, що є необхідним для підвищення якості життя. Діакамф створено та зареєстровано в Україні як протидіабетичний засіб. Він зменшує інсулінорезистентність (Т.В.Соколюк та ін., 2009), яка є складовою патогенезу не тільки ЦД, але й хвороби Альцгеймера (S.M.De la Monte, 2006). За хімічною будовою діакамф є похідним бензімідазолу. Ці сполуки виявляють різноманітні види фармакологічної активності, в тому числі психотропну (А.А.Спасов, 1995). Тому діакамф можна вважати перспективним для майбутніх досліджень, які мають розширити уявлення про спектр його біологічної активності.

**Зв'язок роботи із науковими програмами, планами, темами.** Дисертацію виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету МОЗ України у рамках теми

«Хімічний синтез і аналіз біологічно активних речовин та лікарських засобів синтетичного походження», державний реєстраційний номер 0103U000475.

**Мета роботи** – експериментально обґрунтувати доцільність створення лікарських препаратів церебропротекторної та психотропної дії на основі діакамфу. З'ясувати наявність церебропротекторної та психотропні дії діакамфу, вивчити його взаємодію з алкоголем та можливі механізми церебропротекторної та психотропної дії.

**Завдання дослідження:**

1. Вивчити вплив діакамфу на виживаність, неврологічний дефіцит і гістоструктуру головного мозку в тварин за умов експериментальної церебральної ішемії та при закритій черепно-мозковій травмі (ЗЧМТ).
2. Дослідити можливі психо- та нейротропні властивості діакамфу.
3. Вивчити дію діакамфу на тварин за умов гострої алкогольної інтоксикації – тривалість етанолового наркозу, виживаність, рівень глюкози крові.
4. Дослідити вплив діакамфу на психічний стан та неврологічний дефіцит тварин на тлі хронічної алкогольної інтоксикації.
5. Для уточнення можливих ланок механізму церебропротекторної та психотропної дії діакамфу визначити його взаємодію з імідазоліновими рецепторами; вивчити вплив на рівень моноамінів – нейромедіаторів головного мозку; з'ясувати вплив на про- та антиоксидантний баланс при ураженні головного мозку; дослідити вплив на витривалість головного мозку до гіпоксії.

*Об'єкт дослідження:* пошук нових лікарських засобів церебропротекторної та психотропної дії.

*Предмет дослідження:* церебропротекторна, ноотропна, антиалкогольна, антидепресивна, анксиолітична активність нового протидіабетичного засобу діакамфу та механізми його дії.

*Методи досліджень:*

1. Фармакологічні – всього 11 моделей та 6 методів досліджень.
2. Біохімічні – визначення рівня моноамінів головного мозку та вмісту глюкози в крові; вимірювання показників про- та антиоксидантного статусу.
3. Гістологічні (дослідження гістоструктури головного мозку).
4. Статистичні (параметричні та непараметричні, кореляційний аналіз).

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше встановлено церебропротекторний вплив діакамфу на перебіг порушення мозкового кровообігу та травматичної хвороби при ЗЧМТ, а також наявність його психотропної дії (антидепресивної, антиагресивної, анксиолітичної, ноотропної). Визначено, що антиоксидантний вплив бере участь у церебропротекторному ефекті діакамфу. Визначено його агоністичну взаємодію із імідазоліновими рецепторами як ланку механізму церебропротекторної та ноотропної дії. Вперше встановлено антиалкогольний ефект діакамфу, який він чинить при гострій та хронічній алкогольній інтоксикації. Підтверджено, що за відсутності ЦД діакамф не знижує рівень глюкози в крові, та вперше встановлено, що цей засіб запобігає гіпоглікемії в умовах гострої інтоксикації етанолом. Доведено збільшення вмісту дофаміну (ДА) в головному мозку під дією діакамфу та

посилення кореляційного зв'язку між окремими катехоламінами, а також зменшення співвідношення ДА/ норадреналін (НА). Розроблено метод моделювання гравітаційної церебральної ішемії (ГЦІ) у мишей.

Наукову новизну підтверджено двома патентами України на корисну модель: № 33367 (2008), № 39780 (2009).

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати обґрунтовують доцільність створення лікарських засобів на основі діакамфу, що виявляє церебропротекторну, ноотропну, антидепресивну та антиалкогольну дію. Такі властивості є бажаними в спектрі дії антигіперглікемічного засобу для профілактики ускладнень ЦД. Оскільки діакамф не чинить гіпоглікемічної дії за умов нормального рівня глюкози крові, на його основі можливо створення церебропротекторних та психотропних препаратів. Робота містить експериментальне обґрунтування доцільності клінічного застосування діакамфу як при ЦД, так і за його відсутності. За результатами дисертації видано інформаційний лист № 56-2010 «Використання похідного бензімідазолу діакамфу для розробки лікарського засобу церебропротекторної та ноотропної дії», фрагменти роботи впроваджено в педагогічний процес кафедр фармакології та медичної рецептури ХНМУ, фармації БДМУ та клінічної фармакології з фармацевтичною опікою НФаУ.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувачем особисто проведено інформаційно-патентний пошук, проаналізовано літературу за темою дисертації, разом із науковим керівником визначено мету та завдання, обрано методи дослідження. Автор самостійно виконано експериментальні дослідження, математично-статистичний аналіз, систематизацію результатів, підготовлено публікації до друку. Морфологічні дослідження виконано на базі закладу охорони здоров'я «Обласна клінічна лікарня – центр екстреної медичної допомоги та медицини катастроф» (м. Харків) за допомоги завідувачки патологоанатомічного відділення І.В. Борзенкової. Визначення рівня моноамінів головного мозку проведено на базі кафедри біоорганічної та медичної хімії Харківського національного медичного університету за допомоги асистента О.В. Савел'євої.

**Апробація результатів дисертації** відбулася на IV науково-практичній конференції «Фармацевтичне право і доказова фармація в системі правовідносин: держава – закон – виробник – оптовик – менеджер – лікар – пацієнт – провізор – ліки – контролюючі та правоохоронні органи» (Харків, 2007), науково-практичній конференції «Сучасні проблеми судово-токсикологічної науки і практики» (Харків, 2009), науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 2009), XIV Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (м. Тернопіль, 2010).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 10 статей, з них 7 в профільних наукових журналах, рекомендованих ВАК України; 2 патенти України на корисну модель, 1 інформаційний лист, 7 тез доповідей.

**Об'єм та структура дисертації.** Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, опису об'єкту та методів дослідження, 4 розділів власних

досліджень, аналіз та узагальнення результатів, висновків та переліку використаних джерел (243 джерела, з яких 115 із кириличною графікою, 128 – із латинською). Робота викладена на 176 сторінках друкованого тексту, ілюстровано 21 рисунком та 27 таблицею, 5 сторінок додатків.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Огляд літератури** (розділ 1). Узагальнено дані щодо взаємозв'язку метаболічних, цереброваскулярних і психічних порушень при ЦД та їх корекції сучасними лікарськими засобами. Обґрунтовано доцільність фармакологічного вивчення діакаμφу для створення лікарських препаратів церебропротекторної та психотропної дії.

**Матеріали та методи досліджень** (розділ 2). Досліджували субстанцію діакаμφу – (±)-цис-3-(2'-бенз-імідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонову кислоту (рис.1) – протидіабетичний засіб, який розроблено в Національному фармацевтичному університеті докт. фарм. наук, професором С.І. Мерзлікіним (реєстраційне посвідчення №UA/3130/01/01). Діакаμφ у дозах 10-50 мг/кг у вигляді 0,2% водної суспензії з твином-80 вводили в шлунок.

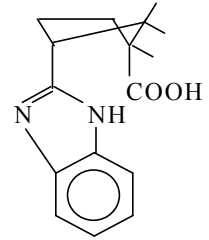


Рис. 1. Хімічна будова діакаμφу

Препарати порівняння: пірацетам («Пірацетам», Дарниця), іміпрамін («Меліпрамін», Egis), вінпоцетин («Кавінтон», Richter Gedeon Ltd), діазепам («Реланіум», Polfa), розиглітазон («Рогліт», Richter Gedeon Ltd), глібенкламід (субстанція, Здоров'я), метформін (субстанція, Здоров'я). Препарати вводили в рекомендованих для доклінічних досліджень дозах у такому ж режимі, що й діакаμφ. Для аналізу механізму дії діакаμφу використовували блокатор імідазолінових рецепторів ефароксан (субстанція, Sigma).

Досліди проведено на 126 рандомбредних білих статевозрілих щурах та 550 мишах, що знаходилися у віварії ЦНДЛ НФаУ. Дотримувалися правил гуманного поводження з тваринами Директиви Ради ЄС із питань захисту тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей.

Церебропротекторну дію вивчали в щурів на моделях білатеральної каротидної оклюзії (БКО) (Руководство по експериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, 2000; далі Руководство) та ЗЧМТ (В.Н.Ельський, С.В.Зяблицев, 2008), а також у мишей на моделі ГЦІ, яку відтворювали шляхом перевантаження 6g у краніо-каудальному векторі (С.Ю.Штриголь зі співавт., 2008).

Антиамнестичні властивості діакаμφу досліджували за тестом умовного рефлексу пасивного уникання (УРПУ). Використовували два амнезувальних впливи: антероградний – скополамін, 1,5 мг/кг (Руководство), та ретроградний – ГЦІ (С.Ю.Штриголь зі співавт., 2008). Антиамнестичну активність розраховували за формулою Батлера (Т.Х.Мирзоев, 2001), критерієм навченості вважали латентний період входу до темної камери  $\geq 3$ хв. Антидепресивну дію оцінювали за тривалістю іммобілізації мишей у тесті поведінки відчаю (R.D.Porsolt et al., 1992) та впливом на трифтазинову катаlepsію (Руководство). Координацію рухів і тонус скелетних м'язів досліджували в мишей за тестом стрижня, що обертається (В.В.Гацура, 1974). Локомоторну активність та

дослідницьку поведінку – за тестом відкритого поля (J.P.Boissier, P.Simon, 1964). Рівень тривожності оцінювали за тестом хрестоподібного піднесеного лабіринту (Руководство), агресивність – за ізоляційним тестом (H.C.Y.Yen, 1959). Антиалкогольну дію діакамфу вивчали в мишей на моделях гострої алкогольної інтоксикації – 30% етиловий спирт у дозі 7,5 г/кг (В.П.Нужный, 1999), етанолового наркозу – 12,5% етиловий спирт у дозі 5,5 г/кг і хронічної алкогольної інтоксикації – 20% етиловий спирт у дозі 2 г/кг у шлунок протягом 3-х тижнів (Руководство). Антигіпоксичну дію діакамфу досліджували в мишей на моделях нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією (НГГГ) та гемічної гіпоксії (ГГ) (Руководство; Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації), 2001). Вплив діакамфу на експериментальні судоми, що їх індуковано тіосемікарбазидом або стрихніном (Руководство; М.Я.Головенко, 2001), вивчали на мишах.

Мікротомні зрізи для гістологічного вивчення тканини головного мозку тварин після БКО забарвлювали гематоксиліном і еозином, виготовляли постійні препарати. Для дослідження використовували мікроскоп «Carl Zeiss. Axiostar Plus» (об'єктив А-plan 5×/025 та А-plan 10×/025, окуляр А-plan 10×/18).

У тканині головного мозку мишей визначали вміст серотоніну, ДА, НА та адреналіну (А) методом імуноферментного аналізу з використанням стандартних наборів Serotonin-ELISA та TriCat-ELISA (IBL International, Німеччина). У щурів після БКО в тканині мозку визначали вміст ТБК-реактивних та активність каталази. Після відтворення ЗЧМТ в тканині мозку щурів визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК), ТБК-реактивних, активності каталази (Н.Г. Щербань и др., 2004) та супероксиддисмутази (СОД) (В.А. Костюк и др., 1990). Вміст глюкози в крові мишей із моделлю алкогольного наркозу, визначали глюкозооксидазним методом (Ф.И. Комаров и др., 1999). Участь імідазолінових рецепторів у механізмі дії діакамфу з'ясовували за попереднього введення специфічного блокатора імідазолінових рецепторів ефароксану в дозі 5 мг/кг (J.M. Egan et al., 2003; C. Bleck et al., 2005) на моделях БКО та скополамінової амнезії.

Кількісні дані обробляли статистично за допомогою програми StatPlus 2009 за критерієм t Ст'юдента у випадках нормального розподілу, за критерієм W Уайта – за його відсутності. Альтернативні відмінності – за кутовим перетворенням Фішера (в необхідних випадках – із поправкою Єйтса (Г.Ф.Лакин, 1990). Для аналізу кореляційної залежності між показниками використовували коефіцієнт кореляції Пірсона.

**Дослідження церебропротекторної активності діакамфу (розділ 3).** Діакамф виявив дозозалежну церебропротекторну дію. В діапазоні доз 10-50 мг/кг найефективнішою була доза 25 мг/кг. Це підтверджується збільшенням виживаності на моделях БКО (з 30% у контролі до 83,3% проти 37,5% на тлі пірацетаму, 200 мг/кг,  $p < 0,05$ ) та ГЦІ: у групи діакамфу – 75%, пірацетаму – 40%, кавінтону (5 мг/кг) – 50%,  $p < 0,05$ . Діакамф (25 мг/кг) редукує неврологічний дефіцит, що розвивається внаслідок ГЦІ – поліпшує координацію рухів за тестом стрижня, що обертається (кількість мишей, що не втримались до 30 с, скорочується на 40%), та зменшує порушення з боку центральної нервової

системи (ЦНС) у щурів після БКО та ЗЧМТ за показниками тесту відкритого поля.

Виявлено позитивний мнемотропний ефект на моделі викликаной ГЦ ретроградної амнезії, де діакамф (25 мг/кг) в 2 рази ( $p < 0,05$ ) збільшує кількість тварин із збереженим пам'ятним слідом. Антиамнестичний ефект діакамфу підтверджено за антероградної холінолітичної амнезії як в здорових тварин, так і на тлі хронічної алкогольної інтоксикації. Це свідчить про постійність антиамнестичних властивостей діакамфу та їхню незалежність від походження порушення пам'яті. За даною активністю діакамф перевершує пірацетам.

Периваскулярний та перинуклеарний набряк тканини головного мозку в щурів із БКО під дією діакамфу менш виражений, але, незважаючи на наявність вазогенного набряку головного мозку, не спостерігається значна деструкція нейронів. Отже, діакамф сприяє збереженню гістоструктури нервової тканини при гострому ішемічному порушенні мозкового кровообігу.

**Вивчення психотропної дії діакамфу (розділ 4).** В інтактних тварин діакамф не пригнічує локомоторну та дослідницьку активність за тестом відкритого поля, не погіршує координацію рухів за тестом стрижня, що обертається, не чинить транквілізуючу дію за тестом піднесеного хрестоподібного лабіринту. В ізоляційному тесті діакамф (25 мг/кг) зменшує кількість атак самців мишей ізолянтів у 2,7 рази ( $p < 0,05$ ), загальний час проявів агресивної поведінки в 9,6 рази ( $p < 0,01$ ), кількість тварин, які демонструють агресію – в 2 рази. Латентний період агресивної поведінки ізолянтів, що отримували протягом тижня діакамф, зростає у середньому на 17 хв. Отже, діакамф редукує прояви внутрішньовидової агресії.

Тест поведінки відчаю (підвішування мишей за хвіст) демонструє дозозалежну антидепресивну активність діакамфу за зменшенням часу іммобілізації. Ефект діакамфу з максимумом у дозі 25 мг/кг розвивається швидше та стає достовірно вираженішим за дію іміпраміну на 15 добу (рис. 2).

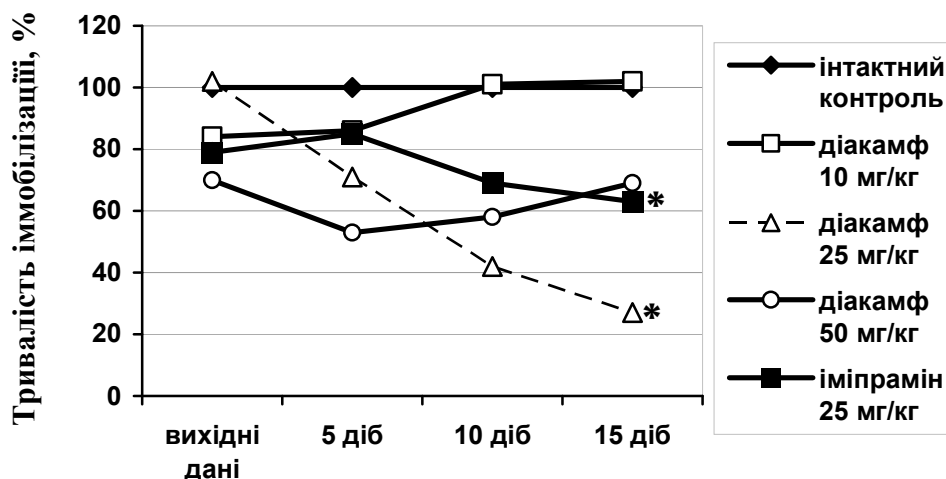


Рис. 2. Вплив діакамфу та іміпраміну на тривалість іммобілізації мишей (в % до синхронного показника контролю).

Примітка. \* –  $p < 0,01$  статистично значущі відмінності до синхронного показника контролю.

Зменшення проявів каталепсії є одним з маркерів антидепресивної активності (Руководство). Під дією діакамфу трифтазинова каталепсія розвивалася повільніше, тривалість її першого епізоду зменшилась у 15,6 раза, в 3,3 раза збільшилась кількість зіскоків тварин. Таким чином, діакамф в експерименті чинить антидепресивну дію, яку підтверджено за двома тестами.

Досліджено ноотропну активність діакамфу в трьох дозах за впливом на фази пам'яті в умовах антероградної скополамінової амнезії. Найбільш ефективно діакамф (25 мг/кг) поліпшував першу фазу пам'яті – увід та первинну обробку інформації (табл. 1). Доза 10 мг/кг виявилася неефективною, в дозі 50 мг/кг дія була менш вираженою. За антигіперглікемічною активністю доза 25 мг/кг також є найефективнішою (П.М.Бондар зі співавт., 2001). Для подальшого дослідження ноотропної дії обрано саме її. Під впливом діакамфу кількість мишей, що досягла критерію навченості, через добу зросла в 4 рази, а латентний час входу до темної камери – в 1,7 раза порівняно з ефектами пірацетаму (200 мг/кг). Для досягнення антиамнестичного ефекту на рівні діакамфу в дозі 25 мг/кг потрібна доза пірацетаму 400 мг/кг, тобто в 16 разів більше. При вивченні консолідації пам'яті діакамф був активнішим за пірацетам (400 мг/кг) в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ). Відтворення пам'ятного сліду – третя фаза пам'яті, що є найбільш стійкою до ноотропних впливів (W.Hoffmann, A.Rostock, 1983), під дією діакамфу (25 мг/кг) також було краще за ефект пірацетаму (400 мг/кг).

Проведено порівняльний аналіз мнемотропних властивостей відомих протидіабетичних засобів у гіпоглікемічних дозах. Виражену антиамнестичну активність (табл. 2) виявили діакамф (25 мг/кг) та розиглітазон (4 мг/кг) – по 94%. За цим показником вони перевищили дію пірацетаму (200 – 400 мг/кг). Менш ефективними були глібенкламід та метформін.

За даними останніх досліджень патогенез хвороби Альцгеймера ґрунтується на порушенні обміну глюкози в головному мозку та інсулінорезистентності (M.Schubert et al., 2004), цереброваскулярних розладах (S.Seshadri et al., 2002), оксидативному стресі та процесах запалення (C.E. Finch et al., 2007). Діакамф зменшує інсулінорезистентність (Т.В. Соколюк зі співавт., 2008), має антиоксидантну активність (П.М. Бондар зі співавт., 2001) і, як свідчать результати розділу 3, збільшує виживаність при церебральній ішемії. Це дає підставу вважати його перспективним для подальших досліджень як засіб для лікування хвороби Альцгеймера.

На моделях судом, що їх викликано тіосемікарбазидом (Т) або стрихніном, діакамф виявив незначну проконвульсивну активність за критерієм скорочення тривалості життя тварин. Остання зменшилась в 1,2 раза під дією стрихніну та в 1,6 раза під впливом Т, летальність склала 100%. Діакамф скоротив середню кількість клонічних і тонічних судом на одну тварину відповідно в 1,4 раза та в 1,8 раза, проте це скорочення, очевидно, пов'язано зі зменшенням тривалості життя. Отже, діакамф не посилює, а, можливо, послаблює гальмівний вплив на мотонейрони  $\gamma$ -аміномасляної кислоти (порушується під дією Т) і гліцину (блокується стрихніном). Підсилення дії судомних отрут як побічну дію необхідно враховувати при його подальшому клінічному використанні.

Таблиця 1

## Вплив діакаμφу на фази пам'яті при моделюванні скополамінової амнезії у мишей

Показники	Контроль		Фази пам'яті								
	інтакт- ний (n = 6)	амнезії (n = 7)	Увід та первинна обробка інформації					Консолідація		Відтворення	
			Пірацетам		Діакаμφ			Пірацетам	Діакаμφ	Пірацетам	Діакаμφ
			200 мг/кг (n = 6)	400 мг/кг (n = 5)	10 мг/кг (n = 6)	25 мг/кг (n = 6)	50 мг/кг (n = 7)	400 мг/кг (n = 7)	25мг/кг (n = 12)	400 мг/кг (n = 5)	25 мг/кг (n = 8)
Латентний час входу до темної камери, с: – вихідний – через 24 год	11±3,2  163±19**	7,3±2,7  7,0±0,7	15,8±5,5  89,0±30,0*	9,4±3,7  147±33,0**	6,7±1,9  4,2±0,7	18,3±5,0  152±18,0**	8,7±2,5  86,4±34,0*	10,6±3,6  100±28,8**	15,3±2,3  130±20,8***^	17,0±5,9  131±33,9**	29,1±6,5  144±21,5**
Кількість мишей, що досягли критерію навченості через 24 год, абс / %	5/83%**	0%	1/16,7%	4/80%**	0/0%	4/66,7%^**	3/42,9%*	2/28,6%	7/58,3%	2/40%	5/62,5%
Антиамне-стична активність,%	–	–	52,2	89,7	0	93,0	51,0	59,6	78,8	79,5	87,8

## Примітки:

1. \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$  статистично значущі відмінності з контролем амнезії;
2. ^ –  $p < 0,05$  статистично значущі відмінності з показником групи пірацетаму;
3. n – кількість тварин у групі.

Таблиця 2

**Вплив протидіабетичних засобів і пірацетаму на пам'ять  
на моделі скополамінової амнезії у мишей**

№	Групи	Латентний період входу до темної камери		Кількість тварин, що досягли критерію навченості, абс/%	Антиамнестична активність, %
		Вихідний	Через 24 год		
1	Інтактний контроль (n=11)	14,4±2,8	160,5±12,0***^^	9/81,8^ ^	—
2	Контроль амнезії (n= 6)	11,7±3,98	19,5±6,17	0/0	—
3	Пірацетам 200 мг/кг (n=6)	17,8±5,5	89,0±30,0*^^	1/16,7	49
4	Пірацетам 400 мг/кг (n=6)	9,6±3,2	145±31,0***^^	4/66,7 # ^	89
5	Глібенкламід 0,5 мг/кг (n=7)	20,4±3,5	127,0±24,5***^^	3/42,9^^	77
6	Метформін 50 мг/кг (n=7)	13,3±4,3	70,4±11,3***^^	0/0	36
7	Розиглітазон 4 мг/кг (n=8)	20,13±4,6	152,0±21,9***^^	6/75^^##	94
8	Діакамф 25 мг/кг (n=6)	18,3±5,0	152±18,0***^^#	4/66,7 ^^	94

Примітки:

1. \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$  статистично значущі відмінності з вихідним показником;
2. ^ –  $p < 0,05$ ; ^^ –  $p < 0,01$  статистично значущі відмінності з показником контролю амнезії;
3. # –  $p < 0,05$ ; ## –  $p < 0,01$  статистично значущі відмінності з показником пірацетама в дозі 200 мг/кг;
4. n – кількість тварин у групі.

**Дослідження взаємодії діакамфу з алкоголем** (розділ 5). Церебропротекторна активність діакамфу при ішемії та нейротравмі (розділ 3) дозволяла очікувати захисного ефекту і при інших ушкодженнях головного мозку. Етанол є широко розповсюдженим нейротоксином. Попереднє введення діакамфу (25 мг/кг) в 57 разів (0,7 хв. проти 39,7 хв. в контролі) скорочувало в мишей тривалість наркозного сну, спричиненого етанолом у дозі 5,5 г/кг. Діакамф, що вводили після етилового спирту (7,5 г/кг), збільшував виживаність тварин на 71% ( $p < 0,01$ ). У більшості випадків взаємодія протидіабетичних препаратів з алкоголем є несприятливою через підвищення гіпоглікемічної дії (J.Rosenstock, 2001). Етаноловий наркоз супроводжувався в мишей гіпоглікемією ( $3,9 \pm 0,36$  ммоль/л проти  $5,0 \pm 0,32$  ммоль/л у контролі,  $p < 0,05$ ), що є типовим і в клініці гострого алкогольного отруєння людини (D.Kerr et al., 1990). Діакамф не тільки не посилив гіпоглікемію, а навіть нормалізував рівень глюкози крові ( $5,2 \pm 0,27$  ммоль/л,  $p < 0,05$  до показника модельної патології). Ця несподівана властивість протидіабетичного засобу не має пояснення з точки

зору відомого механізму дії діакамфу – зменшення інсулінорезистентності (Т.В. Соколюк та ін., 2009), але свідчить про його безпечність навіть в умовах гіпоглікемії.

При хронічній алкогольній інтоксикації спостерігаються порушення з боку центральної нервової системи (ЦНС) (А.А.Калаев и др., 2006). Після тритижневої алкоголізації локомоторна активність та дослідницька поведінка мишей за тестом відкритого поля майже не відрізнялась від показників інтактного контролю. Під впливом діакамфу кількість перетнутих квадратів була дещо менше, ніж в інтактних тварин, що свідчить про помірну седативну дію на тлі алкогольної інтоксикації. Неврологічний дефіцит у групі модельної патології виявлявся порушенням координації рухів: у тесті стрижня, що обертається, до 1 хв. не втрималося 43% мишей проти 14% в контролі ( $p < 0,05$ ). Діакамф (25 мг/кг) покращував координацію рухів та тонус скелетних м'язів – до 1 хв. на стрижні втрималось 100% тварин ( $p < 0,01$ ) – та перевищував за цим ефектом пірацетам (200 мг/кг).

Також діакамф зменшував депресогенний ефект хронічної алкогольної інтоксикації, який досліджували за тестом поведінки відчаю. Під його впливом порівняно з показником групи модельної патології час нерухомого зависання був менше в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ), подібний ефект чинив і пірацетам (в 1,3 раза). Такий вплив може бути корисним при лікуванні алкогольної залежності, оскільки тривалий вплив алкоголю викликає депресію. Отже, поєднання антидепресивного та антиалкогольного ефектів діакамфу можна вважати сприятливою рисою його фармакодінаміки.

У тесті хрестоподібного піднесеного лабіринту в групі модельної патології виявлено анксіогенний вплив хронічної алкоголізації. На тлі діакамфу порівняно з модельною патологією збільшувався латентний період входу до темного відсіку – в 2,4 раза, час перебування в освітлених відсіках лабіринту – в 2 рази та частота відвідування останніх – в 4,1 раза. Це свідчить про помірну анксіолітичну дію діакамфу. Отже, деякі його психотропні, а саме анксіолітичні властивості залежать від вихідного функціонального стану ЦНС: вони відсутні в інтактних тварин і наявні за хронічного впливу алкоголю.

При хронічному вживанні алкоголю до процесу формування толерантності до нього залучено холінергічну систему (А.А. Калаев и др., 2006). Діакамф на моделі антероградного індукованого М-холіноблокатором скополаміном порушення пам'яті за тестом УРПУ виявив антиамнестичну дію в тварин, яких піддавали тривалому впливу етанолу. Латентний період входу до темної камери був в 4,9 раза більше ( $p < 0,01$ ) порівняно з вихідним та в 2 рази більше ( $p < 0,05$ ), ніж у групі контролю амнезії. Таким чином, ноотропні властивості діакамфу, які виявлено в інтактних тварин, зберігаються за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

**Дослідження механізмів нейротропної дії діакамфу (розділ 6).** За будовою діакамф є похідним бензімідазолу. Відома агоністична взаємодія деяких його похідних з імідазоліновими рецепторами (F. Sączewski et al., 2006). Для виявлення можливого залучення останніх до механізму дії діакамфу

застосовували специфічний блокатор імідазолінових рецепторів ефароксан (5 мг/кг). Його попереднє введення повністю скасувало церебропротекторну дію діакамфу на моделі БКО (виживаність 12,5% проти 83,3% без ефароксану,  $p < 0,01$ ). Ефароксан усунув мнемотропний ефект діакамфу: в експериментальних тварин із моделлю скополамінової амнезії УРПУ не формувався. Це дає підставу вважати стимуляцію імідазолінових рецепторів ланкою механізму, принаймні, церебропротекторної та ноотропної дії діакамфу.

Для з'ясування наявності антигіпоксичних властивостей визначали час виживання мишей на моделях НГГГ та ГГ. Діакамф (25 мг/кг) на моделі НГГГ не збільшив його, а на моделі ГГ лише продемонстрував тенденцію до подовження. Це означає, що безпосередній антигіпоксичний ефект не відіграє суттєвої ролі в інтегральній церебропротекторній дії діакамфу.

До церебропротекторної дії можуть залучатися антиоксидантні властивості, які вже виявлені в діакамфу в попередніх дослідженнях (Л.В.Степаненко, 2001). Тому на моделі БКО вивчено показники про- та антиоксидантного балансу. БКО призводить до ушкодження нервової тканини в умовах дуже значного гострого дефіциту кисню (А.В.Воронков и др., 2004; С.Ю.Штрыголь, 2007). Можливо, тому в групі модельної патології в перші часи після відтворення церебральної ішемії рівень ТБК-реактивних у головному мозку був у 2 рази нижче, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ). Активність каталази теж дещо знизилась. На тлі діакамфу ТБК-активних продуктів було в 1,5 рази більше, ніж у групі модельної патології. З урахуванням характеру змін процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) при кисневому дефіциті це може посередньо свідчити про більше постачання кисню до тканини мозку під впливом діакамфу. Активність каталази на тлі пірацетаму не знизилась, а діакамф її навіть збільшив, що є свідченням антиоксидантних властивостей. Аналогічні зміни в про- та антиоксидантному балансі при ішемії головного мозку, а саме пригнічення процесів ПОЛ внаслідок гострої нестачі кисню, описані в літературі (И.В.Силкина и др., 2006; Н.З.Башун, 2007). Їх розглядають як ознаки вираженого ушкодження мембранних структур при значному дефіциті кисню. Тому можна припустити, що діакамф покращує кисневий режим головного мозку. Оскільки значна церебральна гіпоксія ускладнює трактування змін про- та антиоксидантного балансу, вплив діакамфу на ці процеси вивчали при ЗЧМТ, в патогенезі якої не спостерігається екстремальної кисневої недостатності (В.Н.Ельський, С.В.Зяблицев, 2008). Порівняно з показниками модельної патології на тлі діакамфу зменшилося накопичення в головному мозку продуктів ПОЛ, а саме ДК на 20% ( $p < 0,05$ ), та незначно знизилась концентрація ТБК-реактивних. Відповідно менше виражене виснаження резервів антиоксидантної системи (активності каталази на 10% та СОД на 37%,  $p < 0,05$ ). Це свідчить про більш сприятливий перебіг травматичної хвороби в щурів із ЗЧМТ під впливом діакамфу, що підтверджується суттєвим зменшенням неврологічного дефіциту за тестом відкритого поля. Отже, антиоксидантний вплив діакамфу можна вважати ланкою церебропротекторної дії, а його прояви залежать від умов патологічного процесу.

Психотропна активність багатьох препаратів реалізується за рахунок впливу на рівень нейромедіаторів (І.Р.Аноkhina, 1984). В тканині головного мозку мишей виявлено значне (на 26,5%,  $p<0,05$ ) зростання рівня ДА, а також тенденцію ( $p>0,1$ ) до збільшення вмісту НА та А під впливом діакаμφу. Значних змін концентрації серотоніну не спостерігалось (табл. 3).

Таблиця 3

**Вплив діакаμφу на рівень моноамінів головного мозку мишей**

Група	Серотонін, нг/г	Дофамін, нг/г	Норадреналін, нг/г	Адреналін, нг/г
Інтактний контроль (n=11)	226,2±7,7	52,9±1,9	61,5±3,4	55,3±3,6
Діакаμφ 25 мг/кг (n=6)	219,3±5,6	66,9±6,6*	62,7±6,3	59,3±6,0
Пірацетам 200 мг/кг (n=13)	222,7±5,0	61,0±8,3	60,5±7,3	54,2±6,3
Іміпрамін 25 мг/кг(n=5)	215,7±1,6	64,6±6,3	65,5±3,06	64,5±4,2

Примітки:

1. \*  $p<0,05$  – статистично значущі відмінності з інтактним контролем;
2. n – кількість тварин у групі.

Оскільки важливе значення в нейрохімічних процесах має не тільки абсолютний рівень медіаторів, але й співвідношення між ними, обчислювали коефіцієнт НА/ДА. Він дозволяє оцінити інтенсивність обігу катехоламінів, оскільки НА утворюється саме з ДА (Э.Б.Арушанян, К.С.Эльбекьян, 1995). На тлі діакаμφу співвідношення НА/ДА знизилось порівняно з інтактним контролем в 1,3 раза ( $p<0,01$ ). Іміпрамін та пірацетам знижували його невірогідно. Це дозволяє припустити, що діакаμφ більшою мірою, ніж пірацетам та іміпрамін, прискорює обіг катехоламінів у головному мозку. Такі властивості притаманні багатьом засобам із антидепресивною активністю, що відповідає результатам вивчення психотропних ефектів діакаμφу за поведінковими тестами. НА синтезується з ДА, А частково теж може утворюватися з НА в головному мозку (R.D. Ciaranello et al., 1969). За коефіцієнтом кореляції Пірсона виявлено достовірне підсилення взаємозв'язку між вмістом ДА та НА під впливом діакаμφу на тому ж рівні, як і під впливом пірацетама та іміпраміну (відповідно  $r=0,99$ ,  $r=0,93$ ,  $r=0,80$  проти  $r=0,36$  в контролі). Посилення зв'язку під впливом усіх препаратів спостерігалось і в парах НА-А та ДА-А. Це свідчить, що під впливом діакаμφу, як і на тлі пірацетама та іміпраміну, процеси обігу катехоламінів у головному мозку відбуваються більш спряжено.

Зв'язок між вмістом серотоніну та катехоламінів у контролі та на тлі пірацетама слабкий ( $r$  коливається в межах відповідно від  $-0,25$  до  $0,29$  та від  $0,1$  до  $0,18$ ). Іміпрамін створює сильний додатній зв'язок у парах серотонін-ДА ( $r=0,92$ ), серотонін-А ( $r=0,99$ ) і середнього – в парі серотонін-НА ( $r=0,49$ ).

Діакамф суттєво відрізняється від препаратів порівняння – під його впливом виникає сильний від'ємний зв'язок у цих трьох парах моноамінів ( $r$  коливається від  $-0,75$  до  $-0,7$ ). Вичерпно інтерпретувати значення таких змін навряд чи можливо. Але вони є додатковим свідченням значного втручання діакамфу в нейрохімічні процеси. Здатність діакамфу підвищувати церебральний рівень катехоламінів і спряженість катехоламінієргічних процесів, можливо, свідчить про його адренотропну дію. Збільшення вмісту ДА, зменшення співвідношення НА/ДА та збільшення спряженості катехоламінієргічних процесів у головному мозку можна вважати однією з ланок механізму психотропної дії діакамфу. Але вплив діакамфу на нейромедіаторні процеси потребує подальшого вивчення, тим більше що за характером спряженості серотонін- та катехоламінієргічних процесів він відрізняється від класичних аналогів за психотропними ефектами – пірацетаму (ноотроп) та іміпраміну (антидепресант). Перспективно дослідити діакамф як можливий протипаркінсонічний засіб, оскільки за одержаними результатами він збільшує церебральний рівень ДА та протидіє фенотіазиновій каталепсії (розділ 4).

Отже, досягнутий рівень знань щодо нових, неочевидних властивостей протидіабетичного засобу діакамфу слугує експериментальним обґрунтуванням доцільності його клінічного випробовування в якості церебропротектора та психотропного засобу, в тому числі за відсутності ЦД.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведено нове вирішення важливої наукової задачі – корекції порушень центральної нервової системи, що полягає у виявленні потужних церебропротекторних, ноотропних, антидепресивних та антиалкогольних властивостей протидіабетичного препарату діакамфу. За вираженістю відповідних ефектів діакамф перевищує пірацетам, кавінтон та іміпрамін. Виявлено дозозалежність ефектів діакамфу в діапазоні доз 10-50 мг/кг та визначено, що його ефективна церебропротекторна та психотропна доза співпадає з дозою, в якій він чинить виражену протидіабетичну дію (25 мг/кг), з'ясовано рецепторні та метаболічні ланки механізму дії діакамфу.

1. В інтактних тварин діакамф не пригнічує локомоторну та дослідницьку активність за тестом відкритого поля, не погіршує координацію рухів за тестом стрижня, що обертається, не чинить транквілізуювальну дію за тестом піднесеного хрестоподібного лабіринту, але редукує прояви внутрішньовидової агресії в ізоляційному тесті. На моделях судом, що їх викликано тіосемікарбазидом або стрихніном, діакамф виявляє незначну проконвульсивну активність за критерієм скорочення тривалості життя тварин, що необхідно враховувати при його подальшому клінічному використанні.
2. Діакамф виявляє потужну церебропротекторну дію, яка підтверджується за критеріями збільшення виживаності на моделях білатеральної каротидної оклюзії (у 2,8 разів,  $p < 0,05$ ) та гравітаційної церебральної ішемії (у 1,9 разів,  $p < 0,05$ ), а також зменшення проявів неврологічного дефіциту на моделях

ішемічного порушення мозкового кровообігу та закритої черепно-мозкової травми. Діакамф сприяє збереженню гістоструктури нервової тканини головного мозку в щурів із білатеральною каротидною оклюзією.

3. Діакамф чинить виражений антиамнестичний ефект у мишей з моделями антероградного (скополамін) і ретроградного (церебральна ішемія) порушення пам'яті за тестом умовного рефлексу пасивного уникання. Діакамф у дозі 25 мг/кг поліпшує всі фази пам'яті, особливо увід і первинну обробку інформації, антиамнестична активність його складає 94% ( $p < 0,001$ ) проти 52% і 90% у пірацетаму (відповідно в дозі 200 мг/кг та 400 мг/кг).
4. Діакамф 25 мг/кг чинить виражену антидепресивну дію в тесті поведінки відчаю, що виявляється в зменшенні тривалості іммобілізації тварин у 3,7 раза ( $p < 0,01$ ) проти інтактних тварин та в 2,3 раза проти показнику на тлі імipраміну (25 мг/кг). Цей вид активності підтверджено в тесті трифтазинової каталепсії, за яким діакамф чинить антикаталептогенну дію, що є корелятом антидепресивного ефекту.
5. Дослідження взаємодії діакамфу з етанолом на мишах виявило його виражені антиалкогольні властивості. Діакамф збільшує виживаність тварин із смертельною алкогольною інтоксикацією на 72% порівняно з модельною патологією та пірацетамом. Він значно скорочує етаноловий наркоз ( $p < 0,001$  відносно ефекту пірацетаму). Діакамф не тільки не зменшує рівень глюкози в крові за відсутності цукрового діабету, але навіть запобігає розвитку гіпоглікемії на тлі гострого алкогольного отруєння. Діакамф редукує прояви неврологічного дефіциту, що виникають внаслідок хронічної алкогольної інтоксикації, а саме: зменшує рівень депресивності та тривожності, поліпшує координацію рухів, чинить антиамнестичний ефект. Ці властивості підтверджують його антиалкогольну та церебропротекторну дію, а також залежність психотропного ефекту від вихідного стану тварин.
6. Однією з ланок механізму церебропротекторної та ноотропної дії діакамфу є стимуляція імiдазолінових рецепторів, оскільки їх специфічний блокатор ефароксан повністю скасовує церебропротекторний та антиамнестичний ефект діакамфу відповідно на моделях білатеральної каротидної оклюзії та скополамінової амнезії.
7. Діакамф підвищує рівень церебрального дофаміну – на 26,5% ( $p < 0,01$ ) та, за даними кореляційного аналізу, спряженість катехоламінієргічних процесів, а також зменшує співвідношення норадреналін/дофамін, що може бути однією з ланок механізму психотропної дії. Зміни вмісту даних медіаторів на тлі діакамфу подібні до змін під впливом ноотропа пірацетаму та антидепресанта імipраміну та, ймовірно, беруть участь у реалізації відповідних психотропних властивостей. На вміст серотоніну в головному мозку діакамф не впливає.
8. До церебропротекторної активності діакамфу долучаються його антиоксидантні властивості. Порівняно з показниками модельної патології на тлі діакамфу в щурів із закритою черепно-мозковою травмою зменшується накопичення продуктів пероксидного окиснення ліпідів (дієнових кон'югатів

та ТБК-реактивів) та менш виражене виснаження резервів антиоксидантної системи (активності каталази та супероксиддисмутази). Чутливість ЦНС до гіпоксії діакамфу майже не зменшує, що доведено на моделях гемічної гіпоксії та нормобаричної гіпоксичної гіпоксії.

9. Слід вважати перспективним створення лікарських препаратів церебропротекторної та психотропної дії на основі діакамфу.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Єсева О. А. Антиалкогольний ефект діакамфу / О. А. Єсева, С. Ю. Штриголь, С. І. Мерзлікін // Ліки України. – 2007. – №112. – С. 86-87. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)
2. Експериментальні моделі церебральної ішемії у мишей: порівняльна характеристика гравітаційного перевантаження та каротидної оклюзії / С. Ю. Штриголь, В. С. Штриголь, О. А. Єсева, В. О. Тіманюк // Клінічна фармація. – 2008. – Т. 12, №2. – С. 39-43. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)
3. Есева О. А. Антидепрессивные и антиагрессивные свойства диакамфа / О. А. Есева, С. Ю. Штриголь, С. И. Мерзликин // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2008. – Т. 3, №3. – С.60-64. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)
4. Єсева О. А. Ноотропний ефект протидіабетичного засобу діакамф / О. А. Єсева, С. Ю. Штриголь, С. І. Мерзлікін // Клінічна фармація. – 2009. – Т. 13, №2. – С. 59-61. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)
5. Єсева О. А. Психотропні властивості діакамфу в умовах хронічної алкоголізації / О. А. Єсева, С. Ю. Штриголь, С. І. Мерзлікін // Український біофармацевтичний журнал. – 2009. – Т. I, №2. – С. 15-18. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)
6. Єсева О. А. Церебропротекторні властивості нового протидіабетичного засобу діакамфу / О. А. Єсева, С. Ю. Штриголь, С. І. Мерзлікін // Фармаком. – 2009. – №2. – С. 110-113. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)
7. Шатілова О. А. Зміни рівня моноамінів головного мозку в мишей під впливом нового протидіабетичного засобу діакамфу / О. А. Шатілова, С. Ю. Штриголь, С. І. Мерзлікін // Український біофармацевтичний журнал. – 2010. – №2. – С. 25-29. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)
8. Патент на корисну модель №33367, Україна UA33367 U G09B 23/28. Спосіб моделювання глобальної церебральної ішемії у мишей / С. Ю. Штриголь, В. С. Штриголь, В. О. Тіманюк, О. А. Єсева – Заявка № u 200714635; Заявл. 24.12.07; Опубл. 25.06.2008. – Бюл. №12. – 13 с.

- (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, оформлення патенту)
9. Патент на корисну модель № 39780, Україна МПК С07Д 235/00, А61К 31/4164, А61Р 3/00. Застосування ( $\pm$ )-цис-3-(2'-бензімідазоліл)-1,2,2-триметилциклопентанкарбонової кислоти як засобу, що підвищує чутливість тканин до інсуліну та проявляє антиатерогенну, нефропротекторну, церебропротекторну, ноотропну, антидепресивну та репаративну дію / С. І. Мерзлікін, С. Ю. Штриголь, Д. Г. Подгайний, Т. В. Соколюк, Н. І. Горбенко, Т. О. Куценко, В. С. Штриголь, О. А. Єсева, О. В. Шатілов. – Заявка № u 2008 12308; Заявл. 20.10.2008; Опубл. 10.03.2009. – Бюл. № 5. – 14 с. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, оформлення патенту)
  10. Шатілова О. А. Використання похідного бензімідазолу діакамфу для розробки лікарського засобу церебропротекторної та ноотропної дії / О. А. Шатілова, С. Ю. Штриголь, С. І. Мерзлікін. – К., 2010. – 4 с. (Інформаційний лист Укрмедпатентінформу МОЗ України № 56-2010 від 21.10.2009 р. про нововведення в системі охорони здоров'я). (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка листа)
  11. Діакамф підвищує виживаність тварин при гострій алкогольній інтоксикації / О. А. Єсева, О. В. Шатілов, О. В. Севрюков, С. Ю. Штриголь, С. І. Мерзлікін // Український вісник психоневрології – 2008. – Т. 16, вип.3 (56). – С. 78-79. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)
  12. Нарушения мозгового кровообращения и когнитивные расстройства при сахарном диабете 2-го типа / О. А. Есева, С. Ю. Штриголь, С. И. Мерзликин, Д. В. Штриголь // Провизор. – 2009. – №1-2. – С.15-19. (Особистий внесок здобувача: аналіз даних, підготовка статті)
  13. Єсева О. А. Експериментальне вивчення антиамнестичних властивостей пероральних протидіабетичних препаратів / О. А. Єсева, С. Ю. Штриголь, С. І. Мерзлікін // Буковинський медичний вісник. – 2010. – Т. 14, № 1 (53). – С. 118-121. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)
  14. Єсева О. А. Діакамф є агоністом імідазолінових рецепторів / О. А. Єсева, С. Ю. Штриголь, С. І. Мерзлікін // Клінічна фармація в Україні: Матер. VII Всеукр. Наук.-практ. конф. за участю міжнародних спеціалістів, 6-7 листопада 2008 р. – Х.: Вид-во НФаУ, 2008 р. – С. 88. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тези)
  15. Розробка та вивчення експериментальної гравітаційної моделі повної церебральної ішемії у мишей / В. С. Штриголь, В. О. Синиця, О. А. Єсева, О. В. Шатілов, С. Ю. Штриголь, В. О. Тіманюк // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: Матер. всеукр. наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених, 16-17 квітня 2008 р. – Х.: Вид-во НФаУ, 2008. – С. 195. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тези)

16. Єсева О. А. Захисний ефект діакамфу на моделі церебральної ішемії у щурів / О. А. Єсева, С. Ю. Штриголь, С. І. Мерзлікін // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: Матер. Всеукр. наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених, 16-17 квітня 2008 р. – Х.: Вид-во НФаУ, 2008. – С. 230. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тези)
17. Діакамф зменшує порушення з боку центральної нервової системи при хронічній алкогольній інтоксикації у мишей / О. А. Єсева, О. В. Шатілов, С. Ю. Штриголь, С. І. Мерзлікін // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: Матер. Всеукр. наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених, 23-24 квітня 2009 р. – Х: Вид-во НФаУ, 2009. – С. 220. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тези)
18. Протидіабетичний засіб діакамф як потенційний алкопротектор / О. А. Єсева, О. В. Шатілов, О. В. Севрюков, С. Ю. Штриголь, С. І. Мерзлікін // Сучасні проблеми судово-токсикологічної науки і практики: Матер. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 9-10 квітня 2009 р. – Х., 2009. – С. 104 – 105. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті)
19. Шатілова О. А. Дослідження впливу діакамфу на перебіг черепно-мозкової травми у щурів / О. А. Шатілова // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: Матер. Всеукр. наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених, 21-22 квітня 2010 р. – Х.: Вид-во НФаУ, 2010. – С. 299.
20. Шатілова О. А. Порівняльний аналіз впливу діакамфу на рівень нейромедіаторів головного мозку в мишей / О. А. Шатілова, С. Ю. Штриголь, С. І. Мерзлікін // Матер. XIV Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, 13-15 квітня 2010 р. – Тернопіль, 2010. – С. 315. (Особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка тези)

## АНОТАЦІЯ

**Шатілова О.А. Експериментальне вивчення церебропротекторних та психотропних властивостей діакамфу. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2010.

У дисертації наведено нове рішення наукової задачі корекції порушень центральної нервової системи. Доведено, що протидіабетичний препарат діакамф виявляє церебропротекторну дію за критеріями збільшення виживаності, зменшення проявів неврологічного дефіциту при білатеральній каротидній оклюзії та гравітаційній церебральній ішемії, збереження гістоструктури нервової тканини головного мозку. Виявлено дозозалежність ефектів діакамфу в діапазоні доз 10-50 мг/кг і визначено, що його ефективна церебропротекторна та психотропна доза становить 25 мг/кг. В інтактних тварин діакамф не змінює поведінку, але редукує прояви внутрішньовидової

агресії. Діакамф виявляє незначну проконвульсивну активність, чинить виражений антиамнестичний ефект, поліпшує всі фази пам'яті. Доведено антидепресивну дію діакамфу. Діакамф збільшує виживаність тварин із тяжкою гострою алкогольною інтоксикацією, скорочує етаноловий наркоз, за умов останнього препарат запобігає розвитку гіпоглікемії. Він редукує прояви неврологічного дефіциту, що виникають внаслідок хронічної алкогольної інтоксикації. Діакамф стимулює імідазолінові рецептори, підвищує рівень церебрального дофаміну (на 26,5%) та спряженість катехоламініергічних процесів, а також зменшує співвідношення норадреналін/дофамін. На вміст серотоніну в головному мозку він не впливає. У реалізації церебропротекторній активності діакамфу беруть участь його антиоксидантні властивості. Чутливість ЦНС до гіпоксії діакамф не зменшує. Результати експериментально обґрунтовують доцільність створення лікарських препаратів церебропротекторної та психотропної дії на основі діакамфу.

*Ключові слова:* діакамф, цукровий діабет, церебропротекторні засоби, психотропні препарати.

## АННОТАЦИЯ

**Шатилова О.А. Экспериментальное изучение церебропротекторных и психотропных свойств диакамфа. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет МЗО Украины, Харьков, 2010.

В диссертации представлено новое решение важной научной задачи – коррекции нарушений центральной нервной системы, которое заключается в выявлении выраженных церебропротекторных, ноотропных, антидепрессивных и антиалкогольных свойств оригинального противодиабетического средства диакамфа. Определена дозозависимость его эффектов в диапазоне доз 10-50 мг/кг и установлено, что активная церебропротекторная и психотропная доза совпадает с дозой, в которой диакамф оказывает выраженное противодиабетическое действие (25 мг/кг). Доказано, что диакамф проявляет церебропротекторное действие. Оно верифицировано на нескольких моделях повреждения головного мозга с различным патогенезом. На модели билатеральной каротидной окклюзии диакамф увеличивает выживаемость крыс до 83,3% против 30% в контроле и 37,5% на фоне пирацетама в дозе 200 мг/кг,  $p < 0,05$ . В условиях глобальной гравитационной церебральной ишемии у мышей выживаемость в группе диакамфа составила 75%, в группе пирацетама (200 мг/кг) – 40%, в группе кавинтона (5 мг/кг) – 50%,  $p < 0,05$ . Диакамф уменьшает проявления неврологического дефицита на моделях ишемического и травматического поражения головного мозга по критериям улучшения координации движений в тесте вращающегося стержня и поведенческих реакций в тесте открытого поля. Диакамф способствует сохранению гистоструктуры головного мозга у крыс с билатеральной каротидной окклюзией. У интактных животных диакамф не угнетает локомоторную и

исследовательскую активность по тесту открытого поля, не ухудшает координацию движений по тесту вращающегося стержня, не проявляет транквилизирующее действие в тесте приподнятого крестообразного лабиринта, но редуцирует проявления внутривидовой агрессии в изоляционном тесте. На моделях судорог, вызванных тиосемикарбазидом или стрихнином, диакамф проявляет незначительную проконвульсивную активность по критерию сокращения продолжительности жизни животных. Диакамф оказывает выраженный антиамнестический эффект у мышей с моделями антероградного (скополамин) и ретроградного (церебральная ишемия) нарушения памяти. Препарат улучшает все фазы памяти, особенно ввод и первичную обработку информации, антиамнестическая активность при этом составляет 94% ( $p < 0,001$ ). Диакамф оказывает выраженное антидепрессивное действие в тесте поведения отчаяния, что проявляется в сокращении длительности иммобилизации животных и подтверждено в тесте трифтазиновой каталепсии. Диакамф увеличивает выживаемость животных с тяжелой острой алкогольной интоксикацией на 72%, значительно сокращает этаноловый наркоз. Диакамф не только не уменьшает уровень глюкозы в крови при отсутствии сахарного диабета, но и предупреждает развитие гипогликемии при острой интоксикации алкоголем. Он редуцирует проявления неврологического дефицита, которые являются следствием хронической алкогольной интоксикации: уменьшает депрессивность и тревожность, улучшает координацию движений, оказывает антиамнестическое действие в условиях нарушения памяти, вызванного скополамином. По антиамнестической активности диакамф превосходит пирацетам. Одним из звеньев механизма церебропротекторного и ноотропного действия диакамфа является агонистическое взаимодействие с имидазолиновыми рецепторами, т.к. специфический блокатор эфароксан полностью устраняет эти эффекты на моделях билатеральной каротидной окклюзии и скополаминовой амнезии. Диакамф повышает уровень церебрального дофамина (на 26,5%,  $p < 0,01$ ) и сопряженность катехоламинергических процессов, а также уменьшает соотношение норадреналин/дофамин, что, возможно, является одним из звеньев механизма психотропного действия. На содержание серотонина в головном мозге препарат не влияет. В механизм церебропротекторного действия диакамфа вовлечена его антиоксидантная активность. Чувствительность ЦНС к гипоксии он почти не уменьшает. Результаты экспериментально обосновывают целесообразность создания лекарственных препаратов церебропротекторного и психотропного действия на основе диакамфа.

*Ключевые слова:* диакамф, сахарный диабет, церебропротекторные средства, психотропные препараты.

## SUMMARY

### **Shatilova O.A. Experimental study of Diacamph cerebroprotective and psychotropic properties. – Manuscript.**

The thesis for obtaining the scientific degree a Candidate of Pharmacy degree (Ph. D. degree) in specialty 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy, Kharkiv, 2010.

The dissertation is dedicated to the solution of important medical problem – correction of central nervous system disorders. Dose-dependent action of Diacamph is identified in dose range from 10 mg/kg till 50 mg/kg, effective cerebroprotective and psychotropic dose is 25 mg/kg. Diacamph increases survival, reduces neurological deficit and improve hystostructure of brain cells. In animal model craniocerebral trauma Diacamph reduces neurological deficit and shows antioxidant activity. Diacamph doesn't show muscle relaxant, tranquilizer, anxiolytic activity on intact animal, however it has an antidepressant effect in behavioral despair test, reduces the expression of intraspecific aggression. Diacamph demonstrates nootropic activity, it improves all the phases of memory. Antialcoholic effect of Diacamph is displayed on two models of acute alcohol intoxication (Diacamph increases survival, decreases narcosis sleep) and model of chronic alcohol intoxication (Diacamph reduces neurological deficit, shows anxiolytic, sedative, nootropic, antidepressant activity). Diacamph exceeds piracetam on all models. Thereby anxiolytic and sedative effect of Diacamph occurs only when induced anxiety. Diacamph doesn't decrease normal glucose level even on conditions acute alcohol intoxication. Cerebroprotective and nootropic effects are associated with antioxidant effect and the stimulation of imidazoline receptors. Diacamph doesn't decrease hypoxic sensitivity of central nervous system. The analysis of Diacamph's action shows significant increase of brain dopamine level and moderate increase of levels of noradrenalin and adrenaline. The ratio of dopamine/noradrenalin decreases under the influence of Diacamph, it enhances the complementarity catecholaminergic processes.

Key words: diacamph, diabetes mellitus, psychotropic and cerebroprotective drugs.