

І. В. Кабачна, С. М. Дроговоз, В. І. Кабачний, Н. Ю. Палагіна

Дослідження аналептичної активності похідного сірко- та азотвмісних гетероциклів на моделі кетамінового наркозу

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: гетерозид, наркоз, кетамін, аналептики, пробуджуючий ефект, частота дихання

Аналіз патогенетичних механізмів розвитку невідкладних станів (шок, колапс, наркоз та випадки його передозування, асфіксія, гіпоксія, бактеріальна інтоксикація, отруєння хімічними сполуками або ліками, що пригнічують функції центральної нервової системи (ЦНС), свідчить, що серед препаратів ургентної терапії аналептичні препарати (АП) мають відігравати першорядну роль [1, 2]. Однак їхня реальна кількість, як і використання, вкрай обмежені. За останні 50 років арсенал АП не поповнювався й налічує 6 препаратів: бемегрид, сульфокамфокаїн, нікетамід, кофеїн, етимізол, коразол [3]. Однак вибірковість впливу на певні структури мозку, ризик небажаних побічних ефектів, обмежена широта терапевтичної дії, досить висока токсичність різко обмежують коло їхнього застосування [3, 4]. У реальній лікарській практиці України застосовуються тільки сульфокамфокаїн, кофеїн і кордіамін (нікетамід) [4].

Суттєвою перепоною в розширенні асортименту АП є відсутність стандартизованої моделі (СМ) для їхнього цілеспрямованого пошуку, що ускладнює або не дозволяє порівнювати результати, визначати пріоритети наукових досліджень, оптимізувати пошук та збільшити їхній асортимент.

Таким чином, створення СМ як бази для цілеспрямованого відбору субстанцій з аналептичною дією, що здатні швидко, ефективно та без шкоди прискорювати загальну детоксикацію, переривати наркоз, буде вирішувати одразу широкий спектр медико-соці-

альних проблем невідкладних станів – є вельми актуальною проблемою хіміків, фармакологів та клініцистів.

Мета дослідження – вивчення аналептичної активності похідного сірко- та азотвмісних гетероциклів (Гетерозиду-21) на моделі кетамінового наркозу.

Матеріали та методи. Оцінку аналептичного (пробуджуючого) ефекту речовин проводили на самцях білих нелінійних мишей масою 20–30 г. Як препарат для наркозу використовували кетамін (Кетамін-ЗН, Здоров'я народу, Україна) [5, 6]. Кетамін був обраний за наступними критеріями: як препарат першої лінії для внутрішньовенного наркозу тварин у ветеринарії; за механізмом дії пригнічує ЦНС загалом і дихальний центр мозку зокрема; характеризується коротким терміном дії, що суттєво скорочує час дослідів та спрощує експеримент; реально застосовується за умов польової хірургії (під час війни та природних катастроф), що вимагають термінового переривання наркозу*.

Препаратами порівняння були класичні комбіновані аналептики – сульфокамфокаїн (СКК) та кордіамін (нікетамід), що стимулюють дихальний і судиноруховий центри довгастого мозку [5]. Заздалегідь скринінг проводили серед 25 гетерозидів (похідних сірко- та азотвмісних гетероциклів),

*У польових умовах важливу роль відіграє тривалість операції, яка значною мірою залежить не тільки від тривалості хірургічних маніпуляцій, скільки від тривалості наркозу, що дуже індивідуально, і варіює в діапазоні від 30 хв до декількох годин. За обмеженості хірургічного та реабілітаційного персоналу це є фактором, що визначає швидкість і ефективність рятувальних заходів.

найбільшу достовірну аналептичну активність виявив Гетерозид-21.

Тварин утримували в стандартних умовах Центральної науково-дослідної лабораторії НФаУ відповідно до санітарно-гігієнічних норм ($t = 19-24\text{ }^{\circ}\text{C}$, вологість – не більше ніж 50 %, природний світловий режим – «день-ніч») у пластикових клітках на стандартному раціоні харчування з вільним доступом до води [7]. Дослідження було виконане відповідно до вимог «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України про «Доклінічні дослідження лікарських засобів», «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985 р.) та ін. [8].

Під час дослідження тварин розподілили на 4 групи ($n = 5-23$). Спочатку всім тваринам внутрішньоочеревинно вводили кетамін у дозі 150 мг/кг [9–11]. Перша група була контролем (отримувала тільки кетамін). Досліджувані речовини та препарати порівняння також вводили внутрішньоочеревинно після входження тварин у третю фазу наркозу (знерухомлене бічне положення з рівномірним уповільненим диханням) на піку (15 хв) наркозного сну [11, 12]. Друга група отримувала Гетерозид-21 у дозі 1,0 мг/кг, група 3 – СКК 20 мг/кг, група 4 – кордіамін (нікетамід) у дозі 63 мг/кг [11, 12].

Ефективність досліджуваних речовин оцінювали за тривалістю наркозу (ТН). Вплив на дихальний центр визначали за частотою дихальних рухів за

1 хв (ЧДР/хв) у різних фазах наркозу, до та після введення пробуджуючих препаратів. Контролем були показники ТН і ЧДР/хв першої групи [11, 12].

ЧДР підраховувалася протягом 60 с починаючи з прийняття мишами бокового положення (ЧДР 1), ЧДР 2 – на 7-й, ЧДР 3 – на 14-й хв наркозного сну, ЧДР 4 заміряли (на 15-й хв) відразу після введення Гетерозиду-21 або СКК. Подальший облік ЧДР проводили в період пробудження тварин: на 20-й (ЧДР 5), 25-й (ЧДР 6) і 30-й (ЧДР 7) хв відповідно. Останній вимір (ЧДР 8) здійснювали після прийняття тваринами положення на чотирьох лапах (повне пробудження) [11, 12]. З цього моменту оцінювали психомоторний стан тварин (дезорієнтованість або цілеспрямованість руху); рівень їхньої постнаркозної адаптації (загальмованість, гіперактивність, цікавість до їжі та води); фізіологічні реакції (сечовиділення, дефекація) та ін. Достовірність отриманих результатів оцінювали за критеріями Ньюмана-Кейлса та Манна Уїтні за допомогою програми Statistica 10.0 [13].

Результати та їх обговорення. У ході проведених досліджень (табл.1) було встановлено, що оптимальна глибина та тривалість наркозу досягалася за внутрішньоочеревинного введення 150 мг/кг кетаміну. Серед 25 досліджуваних субстанцій тільки Гетерозид-21 виявив пробуджуючу активність. Гетерозид-21 прискорював пробудження тварин на 11,83 %, у той час, як СКК – на 13,0 % швидше, а кордіамін лише на 7,02 %. Таким чином, Гетерозид-21 у дозі в 20 разів меншій, поступався за ефективністю СКК на 1,2 % та в дозі в 63 рази меншій, ніж кордіамін, скорочував ТН

Таблиця 1

Пробуджуючий ефект досліджуваних субстанцій на моделі кетамінового наркозу

Група	Середня тривалість наркозу, с	Пробуджуючий ефект, %
Кетамін (контроль, $n = 23$)	2017,96 ± 10,25	100,0 %
Кетамін + Гетерозид-21, 1,0 мг/кг ($n = 10$)	1779,33 ± 88,04	88,17 %
Кетамін + Сульфокамфокаїн, 20,0 мг/кг ($n = 10$)	1767,66 ± 51,74*	87,0 %
Кетамін + Кордіамін, 63,0 мг/кг ($n = 5$)	1876,33 ± 21,57	92,98 %

Примітка. * $p < 0,05$ порівняно з контролем (критерій Ньюмана-Кейлса), n – кількість мишей у групі.

у 1,7 разу більше. Усі інші гетерозиди, Гетерозид-21 в інших дозах та кордіамін не показали достовірних результатів, тому в подальшому не розглядаються та не порівнюються.

Порівняння результатів вимірювання ЧДР у різних фазах кетамінового наркозу з ТН (табл. 2) показало, що після введення кетаміну ЧДР 1-ЧДР 4 достовірно ($p < 0,05$) знижується зі 104 до 61 ДР/хв відповідно, досягаючи мінімуму в контрольній групі на 15-й хв наркозу. У той самий час після введення Гетерозиду-21 і СКК моментально (на кінчику голки) відзначалося суттєве збільшення ЧДР 4 відносно групи контролю в 2,1 (210 %) і 2,0 разу (205 %) відповідно. Потім показники ЧДР змінювалися наступним чином: ЧДР 5 збільшувалася на 72,2 і 84,7 %; ЧДР 6 – на 49,4 і 61,4 %; ЧДР 7 – на 59,0 і 60,3 %; ЧДР 8 – на 24,8 і 31,7% відповідно.

Отримані результати збігаються з класичними уявленнями про механізми дії кетаміну як засобу, пригнічуючого ЦНС загалом і ДЦ зокрема [1, 3, 5, 6], а також класичного аналептика – СКК [3, 4], що експериментально підтверджує адекватність обраної моделі досліджень і часу введення досліджуваних субстанцій (у період максимальної глибини наркозу).

Звертає на себе увагу той факт, що відразу після введення Гетерозиду-21

уже протягом 1-ї хв ЧДР 4 достовірно ($p < 0,05$) збільшується в 2,1 разу порівняно з контрольною групою, максимум (133 ДР/хв) у групі препарату порівняння досягається тільки через 6 хв (ЧДР 5), що свідчить про перевагу Гетерозиду-21 за швидкістю стимуляції ДЦ і дозволяє віднести останній до перспективних аналептиків. Подальша синхронна стабілізація ЧДР під впливом СКК і Гетерозиду-21 відбувалася вже на 20-й хв (ЧДР 5) і тривала аж до повного пробудження тварин (ЧДР 8). Зіставлення показників ЧДР 8 свідчить про те, що контрольна група (101 ДР/хв) навіть після повного пробудження так і не досягла рівня результатів групи Гетерозиду-21 (126 ДР/хв) та групи СКК – (133 ДР/хв). Це підтверджує наявність виразної постнаркозної інтоксикації ЦНС загалом і ДЦ зокрема.

Група тварин, що отримувала Гетерозид-21, після пробудження характеризувалася доброю координацією рухів (переміщення по прямій лінії в швидкому темпі), активним вживанням води та їжі, посиленням діурезом, у післянаркозний період миші взагалі не впадали в сплячку, що свідчить про наявні детоксикуючі властивості цієї субстанції. Миші з групи, яка отримувала СКК, після повного пробудження переміщалися повільніше з частими падіннями, здебільшого по периметру клітки, без особливої цікавості до

Таблиця 2

Частота дихальних рухів у різних фазах кетамінового наркозу та за впливу досліджуваних субстанцій, ЧДР/хв

Група ЧДР	Кетамін, 150,0 мг/кг (контроль, n = 23)	Кетамін, 150,0 мг/кг + Гетерозид-21, 1,0 мг/кг (n = 10)	Кетамін, 150,0 мг/кг + Сульфокамфокаїн, 20,0 мг/кг (n = 10)	p
ЧДР1	104 (90; 128)			
ЧДР 2	98 (80; 108)			
ЧДР 3	86 (82; 98)			
ЧДР 4	61 (60; 62)	128 (118; 141)*	125 (114; 141)*,**	0,0041
ЧДР 5	72 (64; 82)	124 (120; 128)*	133 (125; 142)*	0,0017
ЧДР 6	83 (80; 90)	124 (122; 134)*	134 (121; 140)*	0,0502
ЧДР 7	78 (72; 96)	124 (124; 136)*	125 (125; 139)*	0,0467
ЧДР 8	101 (92; 102)	126 (124; 142)*	133 (129; 139)*	0,0049

Примітка. p – рівень статистичної значущості в разі порівняння вибірок за допомогою дисперсного аналізу ANOVA, * $p < 0,05$ порівняно з контролем (критерій Манна Уїтні), ** $p \leq 0,05$ порівняно з групою Гетерозиду-21 (критерій Манна Уїтні), n – кількість мишей у групі.

води та їжі, сечовипускання було рідким, а потім вони впадали в сплячку (тривалістю близько 1 год). Тварини контрольної групи після кетамінового наркозу тривалий час були загальмовані та дезорієнтовані (завмирили або повільно переміщалися, падали з одного боку на інший, здійснювали кругові рухи, у них повністю був відсутній інтерес до води та їжі), і через деякий час вони впадали в тривалий сон (1–2 год), що повністю збігається з класичним симптомокомплексом постнаркозної (кетамінової) інтоксикації [6].

Наведені результати дослідження Гетерозиду-21 свідчать, що похідні

сірко- та азотвмісних гетероциклів є перспективними для пошуку оригінальних аналептиків.

Висновки

1. Модель кетамінового наркозу дозволяє порівнювати ефективність класичних препаратів та оригінальних речовин за ознаками пробуджуючого ефекту, впливом на ДЦ та може використовуватися для цілеспрямованого пошуку аналептиків.
2. Встановлено, що Гетерозид-21 не поступається за ефективністю сульфокамфокаїну, але виявляє аналептичну активність у значно нижчій дозі.

1. *Машковский М. Д.* Лекарственные средства. Т. 1 / М. Д. Машковский. – Москва, 2014. – 1216 с.
2. *Шабанов А. Н.* Справочник фельдшера / А. Н. Шабанов. – Москва : Медицина, 1976. – 678 с.
3. *Дрогвоз С. М.* Фармакологія на ладонях / С. М. Дрогвоз, К. Г. Щокина // Справочник. – Харьков : Плеяда, 2016. – 112 с.
4. Електронний ресурс, режим доступу: http://compendium.com.ua/search_full.
5. Електронний ресурс, режим доступу: http://cshprotocols.cshlp.org/content/2006/1/pdb.rec702.full?text_only=true.
6. *Лалим О. А.* Анестезия кетаминотом: побочные эффекты и их коррекция / О. А. Лалим // Бюллетень медицинских Интернет-конференций (ISSN 2224-6150). – 2014. –Т. 4, № 5. – 721 с.
7. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідах // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108–109.
8. *Deacon R. M.* Housing, husbandry and handling of rodents for behavioral experiments / R. M. Deacon // *Nature Protocols*. – 2006. – V. 1, № 2. – P. 936–946.
9. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А. В. Миронов, Н. Д. Бунятян, А. Н. Васильева [и др.] – Москва : Гриф и К, 2012. – 944 с.
10. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ; под общ. ред. чл.-корр. РАМН, проф. Р. У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – Москва : ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 832 с.
11. Заявка на патент на винахід: а 2017 06266 від 19.06.17 / Спосіб відбору субстанцій для цілеспрямованого пошуку оригінальних біологічно активних сполук з аналептичною активністю на моделі кетамінового наркозу / І. В. Кабачна, С. М. Дрогвоз, В. І. Кабачний – № а 2017 06266; заявл. 27.06.2017 № 264. – 13 с.
12. *Кабачна І. В.* Спосіб відбору субстанцій для цілеспрямованого пошуку оригінальних фармакологічно активних сполук аналептичної дії на моделі кетамінового наркозу: інформ. лист Укрмедпатентінформу МОЗ України № 240-2017 / І. В. Кабачна, С. М. Дрогвоз, В. І. Кабачний. – Київ, 2017. – 6 с.
13. *Прозоровский В. Б.* Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов / Прозоровский В. Б. // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – Москва : Ремедиум, 2005. – С. 763–827.

І. В. Кабачна, С. М. Дрогвоз, В. І. Кабачний, Н. Ю. Палагіна **Дослідження аналептичної активності похідного сірко- та азотвмісних гетероциклів на моделі кетамінового наркозу**

У світовій практиці анестезіології та реаніматології для пробудження пацієнта після наркозу використовують антагоністи наркозних препаратів – аналептики. Їхнє застосування спрямоване на зняття інтоксикації та зменшення побічних ефектів наркозу, пов'язаних з пригніченням центральної нервової системи. За останні 50 років асортимент аналептиків не поповнювався новими препаратами.

Мета дослідження – вивчення аналептичної активності похідного сірко- та азотвмісних гетероциклів (Гетерозиду-21) на моделі кетамінового наркозу.

Оцінку аналептичного (пробуджуючого) ефекту речовин проводили на самцях білих нелінійних мишей на моделі кетамінового наркозу. Препаратами порівняння були класичні аналептики – суль-

фокамфокаїн (СКК) і кордіамін, що стимулюють дихальний і судиноруховий центр довгастого мозку. Тварин рандомізували на 4 групи (n = 5–23): контрольна (кетамін) та експериментальні (кетамін + Гетерозид-21, кетамін + СКК, кетамін + кордіамін). Досліджувані речовини та препарати порівняння вводили внутрішньоочеревинно на 15-й хв після входження тварин у третю фазу наркозу (знерухомлене бічне положення з рівномірним уповільненням диханням).

Ефективність досліджуваних речовин оцінювали за тривалістю наркозу. Вплив на дихальний центр визначали за частотою дихальних рухів на 1 хв у різних фазах наркозного сну, до та після введення пробуджуючих препаратів. Частоту дихання враховували протягом 60 с, починаючи з прийняття мишами бокового положення, останній замір здійснювали після повного пробудження (прийняття положення на чотирьох лапах).

Отримані результати свідчать про те, що Гетерозид-21 прискорював пробудження тварин на 11,83 % відносно контролю, сульфокамфокаїн – на 13,0 %, а кордіамін – на 7,02 %. Гетерозид-21 у дозі, у 20 разів меншій за дозу СКК, не поступався йому за ефективністю, а в дозі, у 63 рази меншій, ніж кордіамін, скорочував тривалість наркозу в 1,7 разу.

Таким чином, експериментально підтверджено, що модель кетамінового наркозу дозволяє кількісно оцінювати пробуджуючу (аналептичну) дію оригінальних субстанцій (гетерозидів) і класичних аналептиків, а також їхній вплив на дихальний центр головного мозку. Встановлено, що гетерозиди (похідні сірко- та азотвмісних гетероциклів) є перспективними для пошуку оригінальних аналептиків.

Ключові слова: гетерозид, наркоз, кетамін, аналептики, пробуджуючий ефект, частота дихання

И. В. Кабачная, С. М. Дроговоз, В. И. Кабачный, Н. Ю. Палагина **Исследование аналептической активности производного серо- и азотсодержащих гетероциклов на модели кетаминового наркоза**

В мировой практике анестезиологии и реаниматологии для пробуждения пациента после наркоза используют антагонисты наркотических препаратов – аналептики. Их применение направлено на снятие интоксикации и уменьшение побочных эффектов наркоза, связанных с угнетением центральной нервной системы. За последние 50 лет ряд аналептиков не пополнялся новыми препаратами.

Цель исследования – изучение аналептической активности производного серо- и азотсодержащих гетероциклов (Гетерозида-21) на модели кетаминового наркоза.

Оценку аналептического (пробуждающего) эффекта вещества проводили на самцах белых нелинейных мышей на модели кетаминового наркоза. Препаратами сравнения были классические аналептики – сульфокамфокаин (СКК) и кордиамин, стимулирующие дыхательный и сосудодвигательный центр продолговатого мозга. Животных рандомизировали на 4 группы (n = 5–23): контрольная (кетамин) и экспериментальные (кетамин + Гетерозид-21, кетамин + СКК, кетамин + кордиамин). Исследуемые вещества и препараты сравнения вводили внутривентриально на 15-й мин после входжения животных в третью фазу наркоза (обездвиженное боковое положение с равномерным замедленным дыханием).

Эффективность исследуемых веществ оценивали по длительности наркоза. Влияние на дыхательный центр определяли одновременно по частоте дыхательных движений в 1 мин в разных фазах наркозного сна до и после введения пробуждающих препаратов. Частоту дыхания учитывали на протяжении 60 с, начиная с принятия мышами бокового положения, последний замер осуществляли после полного пробуждения (принятие положения на четырех лапах).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что Гетерозид-21 ускорял пробуждение животных на 11,83 % по отношению к контролю, сульфокамфокаин – на 13,0 %, а кордиамин – на 7,02 %. Гетерозид-21 в дозе, в 20 раз меньшей не уступал в эффективности СКК, а в дозе, в 63 раза меньшей, чем кордиамин, сокращал длительность наркоза в 1,7 раза.

Таким образом, экспериментально подтверждено, что модель кетаминового наркоза позволяет количественно оценивать пробуждающее (аналептическое) действие оригинальных субстанций (гетерозидов) и классических аналептиков, а также их влияние на дыхательный центр головного мозга. Установлено, что гетерозиды (производные серо- и азотсодержащих гетероциклов) являются перспективными для поиска оригинальных аналептиков.

Ключевые слова: гетерозид, наркоз, кетамин, аналептики, пробуждающий эффект, частота дыхания

I. V. Kabachna, S. M. Drohovo, V. I. Kabachnyy, N. Yu. Palagina **Analeptic activity investigation of the derivative of sulfur and nitrogen containing heterocycles on the model of ketamin anesthesia**

In the world practice of anesthesiology and intensive care treatment for the awakening of a patient after anesthesia, antagonists of anesthetic drugs, analeptics are used. Their application is aimed the intoxication withdrawal and reducing the side effects of anesthesia associated with CNS depression. Over the past 50 years, a number of analeptics have not been replenished with new drugs.

The aim of the study was to investigate the analeptic activity of the of sulfur- and nitrogen-containing heterocycles derivative (Heterozide-21) on the model of ketamine anesthesia.

Evaluation of the analeptic (awakening) effect of the substances was carried out on male white nonlinear mice on the model of ketamine anesthesia. Comparison drugs were classical combined analeptics – sulfocamphocaine (SCC) and cordiamine, stimulating the respiratory and vasomotor centers of the medulla oblongata. The animals were randomized into 4 groups (n = 5–23): control (ketamine) and experimental (ketamine + heterozide, ketamine + reference preparations). The test and reference substances were injected intraperitoneally at the 15-th minute after the animals entered the third phase of anesthesia (immobilized lateral position with uniform slowed breathing).

The efficacy of the test substances was evaluated by duration of anesthesia. Influence on the respiratory center was determined by the frequency of respiratory movements per minute in different phases of anesthetic sleep before and after the introduction of awakening drugs. The respiration rate was taken into account for 60 seconds, starting when the animals take the lateral position, the last measurement was made after full awakening (the position on the four paws).

The results obtained indicate that Heterozide-21 accelerated the awakening of animals by 11,83 % in relation to control, SCC by 13,0 %, and niketamide by 7,02 %. Heterozide-21 in a dose of 20 times smaller than the sulfocamphocaine, has no difference in efficiency and in a dose of 63 times less than cordiamine, reduced the duration of anesthesia by 1,7 times.

Thus, it has been experimentally confirmed that the model of ketamine anesthesia allows the quantitative assessment of the awakening (analeptic) effect of the original substances (heterozides) and classical analeptics, as well as their effect on the respiratory center of the brain. It has been established that heterozides (derivatives of sulfur- and nitrogen-containing heterocyclic systems) are promising for the search for original analeptics.

Key words: heterozide, anesthesia, ketamine, analeptics, awakening effect, respiratory rate

Надійшла: 8 серпня 2017 р.

Контактна особа: Кабачна Ірина Володимирівна, аспірант, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 4, вул. Валентинівська, м. Харків, 61168. Тел.: + 38 0 67 998 88 11. Електронна пошта: dr.kabachnaya@gmail.com