

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **015469**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2011.08.30

(21) Номер заявки
200801923

(22) Дата подачи заявки
2007.02.27

(51) Int. Cl. **A61K 31/4015** (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(54) ВЕЩЕСТВО, ОБЛАДАЮЩЕЕ НЕЙРОМОДУЛЯТОРНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

(31) **2006109678**

(32) **2006.03.28**

(33) **RU**

(43) **2009.02.27**

(86) **PCT/RU2007/000094**

(87) **WO 2007/111528 2007.10.04**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**АХАПКИНА ВАЛЕНТИНА
ИВАНОВНА (RU)**

(72) Изобретатель:
**Ахапкина Валентина Ивановна,
Ахапкин Роман Витальевич,
Воронина Татьяна Александровна
(RU)**

(74) Представитель:
Ловцов С.В. (RU)

(56) **RU-C1-2050851**

Селянина Н.В. и др. Опыт применения фенотропила у больных с начальными проявлениями недостаточности кровоснабжения мозга. Нервные болезни, 2005, № 4, [он-лайн] [Найдено 2007-06-01] Найдено из Интернет: <URL: <http://medi.ru/doc/310118.htm>, с. 1-5, особенно с. 2, абз. 7 - с. 3, абз. 1

Герасимова М.М. Клинико-иммунологические аспекты влияния фенотропила на последствия церебрального инсульта. Журнал Неврологии и Психиатрии им. С.С.Корсакова, 2005, т. 105, № 5 [он-лайн] [Найдено 2007-06-01] Найдено из Интернет: <URL: <http://medi.ru/doc/310113.htm>, с. 1-3, особенно с. 1, абз. 3

Ахапкина В.И. и др. Спектр фармакологических эффектов фенотропила, ФАРМАТЕКА, 2005, № 13, [он-лайн] [Найдено 2007-06-01] Найдено из Интернет: <URL: <http://medi.ru/doc/310115.htm>, с. 1-10, особенно с. 2, абз. 5-с. 2, абз. 1

(57) Изобретение относится к области медицины, в частности к фармакологии. Показано, что N-карбамоилметил-4-фенил-2-пирролидон (фенотропил) обладает нейромодуляторной активностью, оказывает соразмерное влияние на функциональное состояние центральной нервной системы (ЦНС). Изобретение может предупредить патологическое развитие ЦНС за счёт соразмерной перестройки её функционального состояния.

B1

015469

015469 B1

Область техники

Изобретение относится к области медицины, конкретно к фармакологии, и касается лекарственных средств, оказывающих комплексное, многокомпонентно-регулирующее влияние на функциональное состояние центральной нервной системы (ЦНС) и сосуды головного мозга.

Уровень техники

Известен широкий спектр нейротропных и цереброваскулярных лекарственных средств различных фармакологических групп, которые применяются в комплексной терапии патологии ЦНС при цереброваскулярных болезнях, среди которых ведущее место занимает инсульт различной этиологии. При этом каждый из препаратов различной фармакологической направленности, включенный в терапевтический комплекс, целенаправлен на специфическое устранение выраженности проявления того или иного симптома в симптомокомплексах психоневрологических синдромов и заболеваний. Полипрагмазия имеет ряд существенных недостатков, связанных как со сложностью составления схем рационального дозирования и схем рационального одновременного применения многих лекарственных средств, так и с составлением прогноза их эффективности и переносимости, а также возможного синергизма побочных действий.

Раскрытие изобретения

Задачей настоящего изобретения является разработка универсального с точки зрения нейропсихофармакологии лекарственного препарата.

В результате решения данной задачи возможно получение технического результата, заключающегося в способности лекарственного вещества проявлять при монотерапии комплексное влияние на функциональное состояние ЦНС и сосуды головного мозга при нейроцеребральных и цереброваскулярных болезнях, а также обладающего лечебными и профилактическими свойствами, предупреждающими патологическое развитие болезней ЦНС.

Данные технические результаты достигаются тем, что в качестве вещества, обладающего нейромодуляторной активностью, применен N-карбамоилметил-4-фенил-2-пирролидон (фенотропил), известного как: гипотензивное и противоишемическое (при ИБС) вещество (авт. св. СССР №797219 кл. A61K 21/403, C07D 207/26, патент РФ №2183117 кл. C1 A61K 31/40, евразийский патент №002380 кл. B1 A61K 31/4015); вещество и фармацевтическая композиция, обладающие ноотропной активностью (патент РФ №2050851 кл. A61K 31/40 C1, патент РФ №2240783 кл. A61K9/20 31/40, A61P25/28 C1) и вещество, обладающее антидепрессивной активностью (патент РФ №2232578 кл. A61K 31/4152, A61P 25/24 C1).

Эффекты этого вещества при острой цереброваскулярной патологии не описаны.

Предлагается использовать N-карбамоилметил-4-фенил-2-пирролидон (фенотропил) в качестве нейромодуляторного средства, которое имеет ряд преимуществ перед применением комплекса веществ различных фармакологических групп, а именно: выраженную многокомпонентную эффективность; простоту дозирования и применения в любой лекарственной форме; относительно низкую токсичность ($LD_{50}=800$ мг/кг); отсутствие выраженных побочных действий; при курсовом приеме не развивается привыкания, зависимости и толерантности, вещество не метаболизируется в организме и выводится из него в неизменном виде.

Моделью для оценки предлагаемых эффектов фенотропила избрана наиболее тяжелая и наиболее распространенная форма цереброваскулярной патологии - инсульт, в терапии которого до настоящего времени не достигнуто значимых результатов. В развитых странах сосудистые заболевания головного мозга являются третьей по значимости причиной смертности и чаще других приводят к инвалидности. Потери большого числа трудоспособного населения и длительные сроки госпитализации требуют по сравнению с большинством других заболеваний наибольших экономических затрат (Гусев Е.И., Скворцова В.И. и соавт., 2003; Верещагин Н.В., Варакин Н.В., 2001; Харрисон Т.Р. и соавт., 1997). Существует два основных направления в течении инсульта: тромболизис, нейромодуляция и нейропротекция. Эффективность тромболизиса доказана множеством клинических исследований, что касается лекарственных препаратов, обладающих нейромодуляторной и нейропротективной активностью, то на сегодняшний день ведется их активный поиск.

Исследования проведены в соответствии с "Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ" Минздрава Российской Федерации (2000).

Полученные результаты исследований обработаны статистически. Подсчитаны средние значения и их стандартные отклонения для каждой группы. Статистическая достоверность различий между опытными и контрольными группами определялась с помощью t-теста Стьюдента, теста χ^2 -квадрат и теста Манна-Уитни. Различия считались достоверными при $p<0,05$. (Боровков В.П., 2001; Гланц С., 1999).

Пример 1. Изучение противоинсультного действия фенотропила на модели геморрагического инсульта (интрацеребральная посттравматическая гематома).

Опыты проведены на белых беспородных крысах-самцах массой 200-250 г. Крысы содержались в условиях вивария при свободном доступе к пище и воде, при естественной смене дня и ночи. С целью создания геморрагического инсульта (ГИ) у крыс, наркотизированных хлоралгидратом (400 мг/кг), проводилась стереотаксическая трепанация черепа и затем мандрен-ножом осуществляли деструкцию мозговой ткани в области *capsula interna* с введением в место повреждения крови, взятой из-под языка крысы

(0,02-0,03 мл). Таким способом достигался локальный аутогеморрагический билатеральный инсульт в области внутренней капсулы (диаметр - 2 мм, глубина - 3 мм) без повреждений выше расположенных образований мозга и неокортекса. Контролем служили ложно оперированные животные и животные с ГИ, получавшие физиологический раствор. Фенотропил вводили в дозе 100 мг/кг интрагастрально, с использованием специального зонда, через 5 ч после операции и затем ежедневно в течение 7 дней в одно и то же время суток $\pm$ 3 мин.

Во время операции и непосредственно после операции погибло 40% крыс. Выживших в первые часы после ГИ наблюдали 14 суток. Оценивали влияние фенотропила: на выживаемость животных; на уровень неврологического дефицита по шкале Stroke-index McGrow в модификации И.В. Ганнушкиной (1977) и по методике "вращающегося стержня"; по сохранности мышечного тонуса в тесте подтягивания на горизонтальной перекладине; на ориентировочно-исследовательское поведение в тесте "открытое поле". Исследование когнитивных функций проводили на стандартной установке условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ). Тест на воспроизведение УРПИ (на сохранность памятного следа) осуществляли через 24 ч после обучения, а также на 3-и, 7-е, 14-е сутки после операции. При оценке сохранности норкового рефлекса регистрировали латентное время первого захода в темную камеру.

В первые сутки после операции практически у всех животных с ГИ выявлены неврологические отклонения (90-100%) на фоне физиологического раствора, выразившиеся в виде вялости, замедленности движений, слабости конечностей, тогда как у ложно оперированных крыс эти нарушения отмечены у 30-40% (табл. 1). При ГИ на фоне фенотропила выраженность неврологического дефицита по этому тесту проявлялась в 40-50% и практически не отличалась от группы ложно оперированных. Неврологические нарушения, проявившиеся в виде маневжных движений по кругу и параличи конечностей у инсультных животных с фенотропилом отсутствовали, а в группе с ГИ + физиологический раствор глубокие неврологические нарушения составили 40, 30 и 30% соответственно.

Таким образом, в остром периоде ГИ фенотропил проявляет выраженную нейротропную и цереброваскулярную активность и ослабляет нарушения неврологического статуса.

Регистрация мышечного тонуса у крыс с ГИ показала, что на третьи сутки после инсульта ослабление мышечного тонуса отмечалось в среднем у 40-50%, а на седьмые - четырнадцатые у 38-36% животных (табл. 2). У животных, получавших фенотропил, на первые - третьи сутки ослабление мышечного тонуса наблюдалось у 42-33%. На седьмые сутки после введения фенотропила ослабление мышечного тонуса наблюдалось у 25%, а к четырнадцатым суткам этот показатель снижался до 16% и был статистически достоверен по сравнению с показателями инсультных животных (табл. 2).

Исследование динамики нарушений координации движений у крыс с ГИ показало, что на первые - третьи сутки нарушение координации движений отмечалось у 48-50%, а на седьмые - четырнадцатые у 38-45% выживших животных (табл.3). Фенотропил в дозе 100 мг/кг ослаблял нарушения координации движений у крыс. Выраженные и статистически достоверные результаты были получены на седьмые - четырнадцатые сутки после инсульта (табл.3).

Норковый рефлекс грызунов является врожденным стремлением к ограниченному затемненному пространству. В первые сутки после операции у всех животных сохраняется норковый рефлекс, но в группах с ГИ и на фоне однократного применения фенотропила увеличивалось латентное время выполнения рефлекса (табл. 4).

В результате исследований установлено, что в контрольной группе крыс, получавших в течение всего эксперимента физиологический раствор (интактные), при воспроизведении УРПИ через 24 ч после обучения (получение болевого раздражения в темном отсеке камеры) 80% животных помнили об ударе током и не заходили в темную "опасную" камеру в течение всего времени наблюдения. Через сутки после обучения контрольные интактные и ложно оперированные крысы хорошо помнили об ударе током в темной камере и 70-80% животных не заходили в этот опасный отсек. Остальные крысы заходили в темный отсек с большим латентным периодом (табл. 5а). У крыс с геморрагическим инсультом (ГИ) через сутки после обучения достоверно уменьшилось латентное время захода в темную камеру. Только 25% животных совсем не зашли в темную камеру, т.е. помнили об ударе током, а у 75% крыс память была нарушена (табл. 5а).

Фенотропил в дозе 100 мг/кг при однократном введении через 5 ч после операции (воспроизведение УРПИ через сутки после обучения) увеличивал до 40% число животных с сохраненной памятью (животные с ГИ - 25%) и увеличивал латентное время захода в темный опасный отсек. Однако этот улучшающий эффект препарата после однократного введения был статистически недостоверен по сравнению с интактными животными, но в сравнении с инсультной группой увеличивал латентное время захода в темную камеру на 48 и на 60% увеличивал количество животных с сохраненной памятью через сутки.

Через 3-е суток после операции нарушения памяти у животных с ГИ сохранялись на том же уровне (табл.5а). После 3-кратного введения фенотропила отмечалось увеличение латентного времени захода в темную камеру и увеличение числа животных, не зашедших в камеру; но и эти эффекты фенотропила были статистически недостоверными (табл.5а) по сравнению с ложно оперированными, но значимо выраженным и достоверным по сравнению с инсультной группой с физиологическим раствором.

Через 7 и 14 суток после обучения интактные и ложно оперированные животные хорошо помнили о

негативной ситуации и выполняли УРПИ (табл.56). В сравнении с ними, на 7-14-й день после ГИ и обучения память животных на получение болевого раздражения в темной камере была достоверно нарушена. Причем это нарушение памяти было выражено в большей степени в сравнении с показателями через 1 и 3 суток после операции. Так, через 7 суток только 16% животных помнили о негативном раздражении, а остальные крысы заходили в темный опасный отсек уже через 28 с. А через 14 суток только 9% животных сохранили УРПИ (табл. 56).

Фенотропил, введенный крысам в дозе 100 мг/кг в течение 7 дней, восстанавливал нарушения памяти в постинсультный период на 7-й и 14-й дни после операции ГИ. Под влиянием препарата наблюдалось статистически достоверное увеличение (до 40%) числа помнивших негативную ситуацию животных (у крыс с ГИ - 9%). Примерно в 3 раза увеличивалось по сравнению с инсультными крысами латентное время захода в темную опасную камеру (табл. 56).

Таким образом, фенотропил при повторном введении обладает способностью восстанавливать нарушенную при геморрагическом инсульте память на модели условного рефлекса пассивного избегания.

Изучение ориентировочно-исследовательского поведения в условиях методики открытого поля показало, что в первые сутки после операции у крыс ГИ отмечалось значительное, почти в 2 раза снижение суммарных показателей двигательной активности и исследовательского поведения. Сходные показатели поведения крыс наблюдались и на 14-й день после ГИ, хотя животные были и несколько активнее (табл.6). Фенотропил при регистрации эффекта через 3 суток после ГИ увеличивал суммарные показатели поведения до уровня показателей поведения интактных и ложно оперированных животных (табл.6). При регистрации эффекта после 7 дней введения фенотропила суммарный показатель двигательного поведения по сравнению с группой крыс с ГИ увеличивался в 2,7 раза (табл.6). Через 14 суток после операции активирующий эффект фенотропила на поведение сохранялся.

Как видно из табл. 7, в течение 14 суток после операции в группе ложно оперированных погибло одно животное. В группе с ГИ + физиологический раствор в течение первых суток погибло 23% животных, а к 14-му дню этот показатель достиг 57%. Фенотропил в дозе 100 мг/кг при ежедневном однократном введении в течение 7 дней полностью предупреждал гибель животных.

В результате проведенных исследований показано, что по сравнению с ложно оперированными животными у крыс с геморрагическим инсультом (интрацеребральной посттравматической гематомой) наблюдаются: выраженный неврологический дефицит, нарушение координации движений, ослабление процессов обучения и памяти и повышение показателей гибели животных. При этом отмечалось углубление патологической симптоматики к 14 дню наблюдения.

Фенотропил, при введении животным в дозе 100 мг/кг через 5 ч после операции, а затем ежедневно в течение 7 дней вызывает значительное улучшение инсультных и постинсультных нарушений. Препарат улучшает показатели неврологического дефицита по шкале McGrow уже через сутки после инсульта, а при курсовом применении повышает мышечный тонус и улучшает координацию движений на 7-е и 14-е сутки после инсульта. Фенотропил при повторном применении восстанавливает нарушенную инсультом память, улучшая воспроизведение условного рефлекса пассивного избегания на 7-е и 14-е сутки после инсульта. Наиболее ярким эффектом фенотропила является его способность полностью предупреждать гибель животных с геморрагическим инсультом.

Таким образом, фенотропил (100 мг/кг, внутрь) при курсовом 7-дневном введении обладает отчетливым противоинсультным действием у крыс на модели геморрагического инсульта (интрацеребральная посттравматическая гематома), что выражается в улучшении неврологического статуса, общего поведения, когнитивных функций, и что самое главное - предотвращении гибели животных.

Пример 2. Оценка эффективности фенотропила на модели острого ишемического инсульта.

В данном исследовании была применена модель локальной ишемии головного мозга у крыс с дистальной окклюзией средней мозговой артерии (ОСМА), впервые описанная S.T. Chen (1989). У наркотизированных хлоралгидратом животных (300 мг/кг, в/б) жестко фиксировали голову в боковом положении левой стороной вверх. После разреза кожи посередине между левой ушной раковиной и левым глазом раздвигали волокна височной мышцы до поверхности черепа. С помощью бормашины, диаметр бора 0,5 мм, в месте шва чешуйчатой кости с лобной делали отверстие диаметром около трех-четырех миллиметров, обнажая место пересечения средней мозговой артерии с нижней мозговой веной.

С помощью микроскопа (Olympus SZ-CTV) под большим увеличением (14,0×3,3) под левую среднюю мозговую артерию подводили специальный металлический крючок. Методом электрокоагуляции производили окклюзию средней мозговой артерии проксимальнее места её бифуркации на фронтальную и париетальную ветви. При этом в поле зрения микроскопа наблюдалось прекращение тока крови по средней мозговой артерии выше места окклюзии. После операции рана послойно ушивалась и проводилась ипсилатеральная окклюзия общей сонной артерии.

Для оценки влияния препарата на зону ишемии использовался метод гистохимического окрашивания ткани головного мозга 2,3,5-трифенилтетразолия хлоридом (ТТХ) (Bederson J.B. и соавт., 1986).

Для этого через 72 ч после ОСМА животные под наркозом были декапитированы, их головной мозг извлекался из черепной коробки. Готовились 6 фронтальных срезов толщиной 1 мм, которые в дальнейшем окрашивались ТТХ. Далее для каждого окрашенного среза проводилось его двустороннее сканиро-

вание и компьютерная планиметрия с помощью программы МОСНА (Jandel Scientific, версия 1.2.0.0). Определяли площадь ипсилатерального полушария (ИП) и зону поражения (ЗП). Процентное соотношение объема очага к объему ипсилатерального полушария вычислялась по следующей формуле:

$$V_{(ЗП)}/V_{(ИП)}=(S_{(ЗП)1}+S_{(ЗП)2}+...+S_{(ЗП)6})/(S_{(ИП)1}+S_{(ИП)2}+...+S_{(ИП)6}),$$

где $S_{(ЗП)}$ и $S_{(ИП)}$ - площади ЗП и ИП для каждого среза (Roda J.M. и соавт., 1995).

Для оценки динамики нарушений поведения и состояния животных использовали комплекс методов, применяемых в нейропсихофармакологии (Воронина Т.А., 2000). Обучение и память крыс исследовали на модели условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ, установка Passive avoidance фирмы Lafayette Instrument Co США). Обучение животных УРПИ проводили через 24 ч после операции, а воспроизведение рефлекса через сутки после обучения в течение 3 мин (180 с).

Неврологический статус животных определяли по шкале Stroke-index McGrow для монгольских песчанок (McGrow, 1977) в модификации И.В.Ганнушкиной (1996). Оценку проводили по бальной системе. При наличии у животных нескольких симптомов неврологического дефицита тяжесть состояния определялась как сумма соответствующих баллов. Отмечалось количество крыс с легкой (от 0,5 до 2,5 Stroke-index) и тяжелой (от 3 до 10 Stroke-index) неврологической симптоматикой.

Исследования проведены на крысах-самцах линии Vistar (250-300 г), содержащихся в виварии при свободном доступе к пище и воде при 12-часовом режиме смены дня и ночи.

В ходе исследования животные были поделены случайным образом на 11 групп. Фенотропил в дозах 100 мг/кг, 200 мг/кг и 300 мг/кг вводили внутривентриально трем группам животных за 60 мин до операции и трем группам животных через 5 мин после операции. Ложно оперированным животным вводили физиологический раствор. Затем вещества вводились однократно на 2-е и 3-и сутки. Вещества вводились строго в одно и то же время суток ± 3 мин.

Анализ неврологического статуса животных, регистрируемый по шкале Stroke-index McGrow показал, что у всех оперированных крыс, наблюдались легкие нарушения неврологического статуса в виде тремора, снижения раздражимости, ограничения подвижности, одностороннего полуптоза. Динамика развития нарушений неврологического статуса за 72 ч после операции представлена в табл. 8.

Следует отметить, что у животных, получавших фенотропил до операции тремор и замедленность движений уже в 1 сутки отмечались реже (табл. 8). Если в группе контрольных животных с окклюзией средней мозговой артерией без препарата вялость, замедленность движений, тремор выявлялись на 2 и 3 сутки, то у животных, получавших фенотропил в послеоперационном периоде отмечалась более быстрая положительная динамика: на 2 сутки значительно уменьшилось количество животных с тремором и замедленностью движений. Выраженность и нарастание левостороннего полуптоза у животных может отражать развитие послеоперационного отека.

В ходе исследования процессов обучения и памяти на модели УРПИ были получены следующие результаты, представленные в табл.9. У животных с ОСМА произошло выраженное нарушение памяти. На фоне фенотропила во всех группах животных с ОСМА латентное время первого захода в темный отсек камеры значительно увеличивалось по сравнению с группой №5. При профилактическом применении фенотропила за 60 мин до ОСМА эти показатели не имели достоверных различий с группами №1 и №2, что указывает на высокий нейротропный эффект препарата.

Через 72 ч после операции зона поражения у контрольных животных (группа № 5) составила $11,5 \pm 0,98\%$ от объема ипсилатерального полушария (формула расчета представлена выше). У животных, получавших фенотропил в дозе 100 мг/кг, 200 мг/кг, 300 мг/кг за 60 мин до операции отмечались следующие показатели - $7,4 \pm 0,72\%$ (группа № 6); $6,52 \pm 0,58\%$ (группа № 7); $6,03 \pm 0,75\%$ (группа № 8; соответственно. Послеоперационное введение фенотропила (через 5 мин после окклюзии средней мозговой артерии) в дозах 100 мг/кг, 200 мг/кг, 300 мг/кг привело к следующим результатам: $11 \pm 0,87\%$ (группа № 9); $10,79 \pm 0,97\%$ (группа № 10); $9,5 \pm 0,94\%$ (группа № 11) соответственно (табл. 10).

Полученные в результате работы данные показывают, что фенотропил сохраняет функции памяти, улучшает неврологический статус животных в послеоперационном периоде, что выражалось в увеличении латентного времени первого захода в темный отсек камеры при УРПИ, в более активном поведении животных, меньшей частоте тремора по сравнению с контрольной группой №5. Профилактическое введение препарата (за 60 мин до операции) вызывало выраженное уменьшение зоны очага поражения: 100 мг/кг - на 36%; 200 мг/кг - на 43%; 300 мг/кг - 48% относительно результатов в контрольной группе животных. Введение фенотропила в дозах 100 мг/кг, 200 мг/кг и 300 мг/кг через 5 мин после операции привело к сокращению зоны поражения мозга на 4, 6 и 17% соответственно.

Показано, что зависимость доза-эффект при ишемическом инсульте имеет наибольшее значение в период острой манифестации инсульта, когда требуется более высокие дозы препарата. Наибольшую эффективность фенотропил проявляет в дозе 300 мг/кг и особенно при профилактическом применении.

Пример 3. Оценка противоишемической активности фенотропила при курсовом 10-дневном введении.

Исследования проведены по методике примера 2 на 2 группах животных (по 20 крыс в каждой группе). Фенотропил (300 мг/кг) и физиологический раствор в эквивалентном объеме вводили внутри-

брюшинно в течение 10 дней (в одно и то же время суток ± 3 мин), начиная с 1-го дня через 5 мин после операции. Крысы для экспериментальных исследований отбирались только с одинаковой массой тела ($270 \text{ г} \pm 10 \text{ г}$).

Определяли объем ипсилатерального полушария (мм) на 3-и и 10-е сутки эксперимента, а также исследовали патолого-морфологическое состояние полушария и зоны поражения мозга.

В обеих группах на 10-е сутки было отмечено рубцевание зоны поражения. В контрольной группе, в отличие от группы крыс получавших фенотропил, наблюдалось сморщивание полушария (стягивание к зоне поражения), а в группе с фенотропилом на 10-е сутки не было выявлено сморщивания полушария. Объем ипсилатерального полушария в 1-й группе животных (табл. 11) сократился в среднем на 10%. Достоверных изменений объема полушария во 2-й группе выявлено не было, что указывает на терапевтический эффект даже непродолжительного курсового применения фенотропила.

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что фенотропил обладает выраженной универсальной нейротропной и цереброваскулярной активностью, оказывая противоинсультное действие в условиях экспериментального геморрагического и ишемического инсульта, как форм патологии ЦНС.

На фоне применения фенотропила в остром периоде расстройства ЦНС при цереброваскулярной патологии различной этиологии происходит реконструкция функциональной нормы памяти, поведенческих реакций и двигательной активности, мышечного тонуса и устранение проявления выраженности неврологических дефицитов с полным восстановлением психоневрологического статуса при курсовом введении препарата на достаточно ранних стадиях течения болезни.

При геморрагическом инсульте введение практически минимальной терапевтической дозы препарата (100 мг/кг) предотвращало смертность животных в 100% случаев. При этом в контрольной группе животных погибло 57% крыс.

При ишемическом инсульте фенотропил, введенный за 60 мин до операции и однократно в течение трех дней, сокращал зону поражения мозга в среднем на 42% (48% - в дозе 300 мг/кг), что указывает на его эффективность и перспективность использования с целью профилактики и лечения цереброваскулярных расстройств и развития заболеваний ЦНС. Введение фенотропила в дозах 100 , 200 и 300 мг/кг через 5 мин после операции и по 3-дневной схеме проявляло менее выраженный эффект (17% дозе 300 мг/кг) по этому показателю в острый период манифестации инсульта, но увеличение продолжительности курса лечения до 10 дней способствовало предотвращению деструктивных изменений мозга.

Выявленная эффективность фенотропила на примере инсульта различной этиологии выходит за рамки ранее описанных его отдельных фармакологических свойств и показывает, что фенотропил является родоначальником нового поколения лекарственных веществ, обладающих универсальной нейротропной активностью, обеспечивающей соразмерную (нейромодуляторную) перестройку функционального состояния ЦНС, что в свою очередь приводит к проявлению, в зависимости от наличия тех или иных расстройств или болезней ЦНС, различных многокомпонентных эффектов, включая цереброваскулярные-нейропротективные свойства.

Литература

1. Верещагин Н.В., Варакин Ю.Я. Регистры инсульта в России: результаты и методологические аспекты проблемы // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С.Корсакова (приложен "Инсульт"). - М., 2001. - №1. - С. 34-40.
2. Внутренние болезни, под ред. Т.Р. Харрисона и др. - М.: Медицина, 1997. - Т. 10. - 494 с.
3. Воронина Т.А., Островская Р.У. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ // В книге: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. - М., 2000. - С. 153-158.
4. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Методические указания по изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия фармакологических веществ // В книге: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. - М., 2000. - С. 126-130.
5. Ганнушкина И.В. Патологические механизмы нарушений мозгового кровообращения и новые направления в их профилактике и лечении // Ж. невропатол. и психиатр. - М., 1996. - № 1. - С. 14-18.
6. Ганнушкина И.В. Функциональная ангиоархитектоника головного мозга. - М.: Медицина, 1977. - С. 224.
7. Гусев Е.И. Проблема инсульта в России. // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С.Корсакова (приложение "Инсульт"). - М., 2003. - №9. - С. 3-7.
8. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М: Медицина, 2001.
9. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Стаховская Л.В. Эпидемиология инсульта в России. // Журн. неврол. и психиатр. им. С.С.Корсакова (приложение "Инсульт"). - М., 2003. - №8. - С. 4-9.
10. Макаренко А.Н., Косицын Н.С., Карпенко СВ., Мишина В.А.. Авторское свидетельство № 1767518 от 03.11.1990.
11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. - М., 2000. - С. 159-161.
12. Bederson J.B., Pitts L.H., Germano S.M., Nishimura M.C., Davis R.L., Bartkowski H.M. Evalution of 2,3,5- triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction

in rat//Stroke. - 1986.-V.17.-P. 1304-1308.

13. Chen S.T., Hsu C.Y., Hogan E.L., Maricq H., Balentine J.D. A model of focal ischemic stroke in the rat reproducible extensive cortical infarction // Stroke. - 1989. - V. 17, № 4. -P. 738-743.

14. Jackowski A., Crockard A., Burastock G., Ross Russell R., Kristek f. The time course of intracranial pathophysiological changes following experimental subarachnoid haemorrhage in the rat // Journal of cerebral blood flow and metabolism. - 1990.-V. 10.-P. 835-849.

15. Roda J.M., Carceller F., Diez-Tejedor E., Avendano C. Reduction of infarct size by intra-arterial nimodipine administered at reperfusion in a rat model of partially reversible brain focal ischemia // Stroke. - 1995. - V.26, №10.-P. 1888-1892.

16. Smith S., Hodges H., Sowinski P. Long-Term beneficial effects of BW619C89 on neurological deficit, cognitive deficit and brain damage "after middle cerebral artery occlusion in the rat// Neuroscience. - 1997. - V. 77, №4.-P. 1123-1135.

Таблица 1. Влияние фенотропила (100 мг/кг, внутрь) на неврологический дефицит у крыс в 1-е сутки геморрагического инсульта (по шкале McGrow)

Неврологические симптомы	Количество животных с различной неврологической симптоматикой в %		
	1 сутки после операции		
	Группы животных		
	Ложно оперированные + физ. р-р	Инсультные + физ. р-р	Инсультные + фенотропил
Вялость, замедленность движений	40	100	50
Слабость конечностей	30	90	40*
Маневренные движения	0	40	0*
Парез 1-4 конечностей	0	30	30
Паралич 1-4 конечностей	0	30	0*

* - достоверность отличий от инсультных крыс при $p \leq 0,05 (\chi^2)$

Таблица 2. Влияние фенотропила на мышечный тонус животных в тесте горизонтальной перекладины после геморрагического инсульта

Группа животных	Количество животных, не подтянувшихся на горизонтальной перекладине в абс. ед. и %							
	1-е сутки		3-и сутки		7-е сутки		14-е сутки	
	а.е.	%	а.е.	%	а.е.	%	а.е.	%
Интakтные (без операции)	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
Ложно оперированные	1/10	10	2/10	20	1/10	10	0/9	0
Инсульт	10/23	43*	9/18	50*	5/13	38*	4/11	36*
Инсульт + фенотропил	5/12	42	4/12	33	3/12	25	2/12	16**

а.е. - абсолютные единицы

* - достоверность отличий от ложно оперированных крыс при $p \leq 0,05 (\chi^2)$

** - достоверность отличий от инсультных крыс при $p \leq 0,05 (\chi^2)$

Таблица 3. Влияние фенотропила на координацию движений животных в тесте вращающегося стержня после геморрагического инсульта

Группа животных	Количество животных, не удержавшихся на вращающемся стержне (3 об/мин), в течение 2-х минут, в абс. ед. и %							
	1-е сутки		3-и сутки		7-е сутки		14-е сутки	
	а.е.	%	а.е.	%	а.е.	%	а.е.	%
Интakтные (без операций)	0/10	0	0/10	0	0/10	0	0/10	0
Ложно оперированные	2/10	20	3/10	30	1/10	10	1/9	10
Инсульт	11/23	48*	9/18	50	5/13	38*	5/11	45*
Инсульт + фенотропил	5/12	42	4/12	33	0/12	0**	0/12	0**

а.е. - абсолютные единицы

* - достоверность отличий от ложно оперированных крыс при $p \leq 0,05 (\chi^2)$

** - достоверность отличий от крыс с ГИ при $p \leq 0,05 (\chi^2)$

Таблица 4. Влияние фенотропила на выполнение норкового рефлекса

Группы животных	Латентное время (сек) захода в темную камеру при обучении норковому рефлексу
	1 сутки после операции
Интakтные животные (без операции)	12,8 ± 1,2
Ложно оперированные	13,03 ± 0,9
Инсультные	35,2 ± 10,1
Фенотропил	30,6 ± 8,8

Таблица 5а. Влияние фенотропила на воспроизведение УРПИ у крыс с интрацеребральной посттравматической гематомой

Группы животных	Воспроизведение УРПИ через:			
	24 часа после обучения		3-е суток	
	Латентное время захода в темную камеру(сек)	Кол-во крыс, не вошедших в темную камеру, %	Латентное время захода в темную камеру(сек)	Кол-во крыс, не вошедших в темную камеру, %
Интakтные (без операции)	156,0 ± 24,0	80	152,5 ± 14,3	80
Ложно оперированные	143,7 ± 16,3	70	137,6 ± 17,4	65
Инсульт	68,3 ± 26,4*	25*	71,4 ± 39,3*	28
Инсульт + фенотропил	101,1 ± 24,2**	40**	98,3 ± 18,7	40**

* - достоверность отличий от ложно оперированных крыс при $p \leq 0,05$ (χ^2) ** - достоверность отличий от инсультной группы при $p \leq 0,05$ (χ^2)

Таблица 5б

Группы животных	Воспроизведение УРПИ через:			
	7 суток		14 суток	
	Латентное время захода в темную камеру (сек)	Кол-во крыс, не вошедших в темную камеру, %	Латентное время захода в темную камеру(сек)	Кол-во крыс, не вошедших в темную камеру, %
Интakтные	143,1 ± 16,5	75	133,6 ± 25,1	60
Ложно оперированные	124,3 ± 22,0	60	114,2 ± 20,6	55
Инсульт	28,0 ± 2,9*	16*	23,7 ± 11,2*	9*
Инсульт + фенотропил	75,2 ± 24,1**	30**	83,2 ± 26,7**	40**

* - достоверность отличий от ложно оперированных крыс при $p \leq 0,05$ (t-тест Стьюдента; χ^2)** - достоверность отличий от крыс с инсультом при $p \leq 0,05$ (t-тест Стьюдента; χ^2)

Таблица 6. Влияние фенотропила на ориентировочно-исследовательское поведение и двигательную активность животных в условиях методики открытого поля после геморрагического инсульта

Группы животных	Горизонтальная двигательная активность	Вертикальная двигательная активность	Обследование отверстий	Суммарный показатель
1-е сутки после операции				
Интактные	15,6 ± 2,3	5,6 ± 1,4	3,3 ± 0,9	24,5 ± 5,4
Ложно оперированные	14,7 ± 1,9	2,9 ± 0,6	3,2 ± 0,7	20,8 ± 2,6
ГИ + физ. р-р	7,3 ± 1,1 *	2,7 ± 0,8	1,8 ± 0,3	11,8 ± 2,0*
ГИ + фенотропил	8,8 ± 3,5	4,4 ± 2,1	1,3 ± 0,5	14,5 ± 5,5
3-и сутки после операции				
Интактные	14,0 ± 1,2	5,1 ± 1,1	3,2 ± 0,8	22,3 ± 2,5
Ложно оперированные	13,7 ± 2,3	3,2 ± 0,8	3,1 ± 0,5	20,0 ± 2,3
ГИ + физ. р-р	6,2 ± 1,2*	2,7 ± 0,4	1,7 ± 0,5	10,6 ± 1,5*
ГИ + фенотропил	15,2 ± 5,4	4,5 ± 1,5	1,9 ± 0,7	21,6 ± 6,1**
7-е сутки после операции				
Интактные	13,6 ± 2,3	5,3 ± 1,4	4,1 ± 1,2	23,0 ± 5,7
Ложно оперированные	13,4 ± 2,1	4,1 ± 2,8	2,9 ± 0,6	20,4 ± 3,5
ГИ + физ. р-р	7,8 ± 1,9	3,2 ± 1,3	2,4 ± 0,5	13,4 ± 2,9
ГИ + фенотропил	20,9 ± 4,1**	10,9 ± 3,2	4,6 ± 1,3	36,4 ± 5,6
14-е сутки после операции				
Интактные	12,4 ± 2,5	5,6 ± 1,3	3,5 ± 1,2	21,5 ± 5,9
Ложно оперированные	13,4 ± 2,2	6,2 ± 1,4	3,3 ± 0,6	22,9 ± 3,5
ГИ + физ. р-р	8,1 ± 2,4*	3,7 ± 1,4	3,2 ± 1,3	15,0 ± 3,7 *
ГИ + фенотропил	12,2 ± 2,8	6,9 ± 1,9	3,0 ± 0,7	22,1 ± 3,5**

* - достоверность отличий от ложно оперированных крыс при $p \leq 0,05$ (t-тест Стьюдента)** - достоверность отличий от крыс с инсультом при $p \leq 0,05$ (t-тест Стьюдента)

Таблица 7. Влияние фенотропила на выживаемость животных после ГИ

Группа животных	Количество погибших животных в течение 14-ти суток после геморрагического инсульта							
	1-е сутки		3-и сутки		7-е сутки		14-е сутки	
	а.е.	%	а.е.	%	а.е.	%	а.е.	%
Ложно оперированные	0/10	0	0/10	0	0/10	0	1/10	10
ГИ + физ. р-р	7/30	23*	5/23	22*	5/18	28*	2/13	15*
ГИ + Фенотропил	0/12	0**	0/12	0**	0/12	0**	0/12	0**

* - достоверность отличий от ложно оперированных крыс при $p \leq 0,05$ (χ^2)** - достоверность отличий от крыс с инсультом при $p \leq 0,05$ (χ^2)

Таблица 8. Неврологические нарушения у животных с ОСМА.

Номер группы животных	1 сутки				2 сутки				3 сутки			
	Вялость, замедленность движений	Тремор	Односторонний полуптоз	Маневренные движения	Вялость, замедленность движений	Тремор	Односторонний полуптоз	Маневренные движения	Вялость, замедленность движений	Тремор	Односторонний полуптоз	Маневренные движения
№3: физ. р-р - ложнооперир.	6	3	2	0	1	0	3	0	1	0	1	0
№4: фено тропил 200мг/кг ложнооперир.	4	2	3	0	0	0	4	0	0	0	0	0
№5: физ. р-р + ОСМА	8	5	4	3	5	2	5	1	5	0	3	1
№6: фено тропил 100мг/кг + ОСМА	2	2	4	0	1	0	5	0	1	0	3	0
№7: фено тропил 200мг/кг + ОСМА	3	3	4	0	2	0	4	0	0	0	3	0
№8: фено тропил 300мг/кг + ОСМА	2	2	4	0	1	0	5	0	0	0	3	0
№9: ОСМА + фенотропил 100мг/кг	5	3	4	0	3	0	5	0	2	0	3	0
№10: ОСМА + фенотропил 200мг/кг	5	3	3	0	3	0	4	0	1	0	3	0
№11: ОСМА + фенотропил 300мг/кг	4	3	4	0	2	0	5	0	1	0	3	0

Примечание: цифры отражают количество животных по каждой группе, у которых наблюдались перечисленные признаки.

Таблица 9. Влияние фенотропила на обучение (УРПИ) у крыс в острый период ишемического инсульта (ОСМА) через 24 ч после операции и при тестировании воспроизведения сохранности УРПИ через 24 ч после обучения

№	Группы животных	Латентное время первого захода в темный отсек камеры, сек
1	Контроль: физиологический раствор	101,2 ± 19,0
2	Контроль: фенотропил без ОСМА	105,9 ± 25,7
3	Физ. р-р, ложно оперированные	69,7 ± 20,7
4	Фенотропил 200 мг/кг, ложно оперированные	95,9 ± 24,9
5	Физ. р-р + ОСМА	48,5 ± 17,5*
6	Фенотропил 100 мг/кг + ОСМА	93,6 ± 22,3**
7	Фенотропил 200 мг/кг + ОСМА	104,6 ± 18,8**
8	Фенотропил 300 мг/кг + ОСМА	90,6 ± 22,6**
9	ОСМА + фенотропил 100 мг/кг	83,3 ± 26,1**
10	ОСМА + фенотропил 200 мг/кг	84,5 ± 19,6**
11	ОСМА + фенотропил 300 мг/кг	67,6 ± 18,4**

* - достоверность отличий по отношению к группе №1 при $p < 0,05$

** - достоверность отличий по отношению к группе №5 при $p < 0,05$

Таблица 10. Размер зоны поражения головного мозга при ОСМА

Группы животных	Объем ипсилатерального полушария, мм ³ (ИП)	Объем зоны поражения, мм ³ (ЗП)	Процент отношения ЗП/ИП, %
Группа №5	765,6±3,77	88±7,57	11,5±0,98
Группа №6	786,6±4,74	58,2±5,71	7,39±0,72*
Группа №7	739,77±4,8	49,2±6,13	6,52±0,58*
Группа №8	797±4,33	48,1±5,99	6,03±0,75*
Группа №9	787,9±5,24	86,5±6,53	11±0,87
Группа №10	794,8±4,27	85,9±7,78	10,8±0,97
Группа №11	801,2±3,63	76,2±7,59	9,5±0,94

* - $p < 0.01$ в сравнении с группой №5 (контрольные животные с ОСМА без препарата)

Таблица 11. Изменение объема ипсилатерального полушария при ОСМА

№	Группы животных	Объем ипсилатерального полушария (мм ³) на 3-и сутки	Объем ипсилатерального полушария (мм ³) на 10-е сутки
1	ОСМА + физ. р-р	770,74±72	693,53 ±4,12 *
2	ОСМА + фенотропил 300 мг/кг	772,4 ±4,5	773,17 ±3,83

* - достоверность отличий по отношению к контролю 3-их суток группы №1 при $p < 0,01$

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Применение N-карбамоилметил-4-фенил-2-пирролидон в качестве вещества, обладающего нейромодуляторной активностью.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2