

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **027170**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2017.06.30

(21) Номер заявки
201500240

(22) Дата подачи заявки
2015.03.17

(51) Int. Cl. *A61K 31/4184* (2006.01)
A61K 31/205 (2006.01)
A61K 39/20 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ СИМПТОМОВ ИЛИ ЛЕЧЕНИЯ АСТЕНИИ И/ИЛИ СИНДРОМА ХРОНИЧЕСКОЙ УСТАЛОСТИ

(31) 2014148443

(32) 2014.12.02

(33) RU

(43) 2016.06.30

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
"ВАЛЕНТА-ИНТЕЛЛЕКТ" (RU)**

(72) Изобретатель:
**Морозова Маргарита Алексеевна,
Бениашвили Аллан Герович (RU)**

(74) Представитель:
Завелева Э.В. (RU)

(56) RU-C2-2267319

Регистр лекарственных средств России.
РЛС. Энциклопедия лекарств. 12-й выпуск. Гл.ред.
Г.Л. Вышковский. Москва, ООО "РЛС-2005", 2004,
1440 с. с. 489, 490, 1025, 1026, 1045, 1046

Audrius V. Plioplys et al. Amantadine and L-
Carnitine Treatment of Chronic Fatigue Syndrome.
Neuropsychobiology, 1997, 35, p. 16-23

ЧУЕШОВ В.И. Промышленная технология
лекарств, т. 2, Харьков, Издательство НФАУ МТК-
Книга, 2002, с. 331-335

(57) Изобретение относится к области медицины, в частности к фармакологии, а именно к фармацевтическим композициям для лечения различных состояний, связанных с недостаточностью энергетического потенциала, являющегося следствием патологического процесса. Фармацевтическая композиция для коррекции симптомов лечения астении и/или синдрома хронической усталости как изолированно, так и при различных заболеваниях и/или пре- и/или постморбидных состояниях у млекопитающих, характеризующаяся тем, что в качестве активных компонентов содержит 2-этилтиобензимидазол гидробромид и/или его фармацевтически приемлемую соль и левокарнитин в терапевтически эффективных количествах.

B1

027170

027170

B1

Изобретение относится к области медицины, в частности к фармакологии, а именно к фармацевтическим композициям для лечения различных состояний, связанных с недостаточностью энергетического потенциала, являющегося следствием патологического процесса.

Бемитил был синтезирован и изучен на кафедре фармакологии Военно-медицинской академии в 1970-х годах под руководством профессора В.М. Виноградова. В эксперименте было установлено (Бобков Ю.Г. и соавт., 1981 и др.), а затем в клинических исследованиях подтверждено (Лосев А.С. и соавт., 1990; Смирнов А.В. и соавт., 1990; Строганов В.П. и соавт., 1990; Шахназаров А.С. и соавт., 1990; Сытник С.И., Пастушенков В.А., 1993), что уже при однократном применении бемитил существенно повышает физическую работоспособность животных и ускоряет ее восстановление после предельных нагрузок, особенно в осложненных условиях (высотная гипоксия, перегревание, марш-броски и т. д.).

При курсовом применении действие бемитила нарастает в первые 3-5 дней, а затем устойчиво поддерживается на достигнутом уровне (Смирнов А.В., 1993; Бобков Ю.Г. и соавт., 1993), превосходя по скорости и выраженности эффекта действие пирасетама и пиридитола (Александровский Ю.А. и соавт., 1988).

В эксперименте было выявлено гепатопротекторное действие бемитила (Александрова А.И. и соавт., 1988), получены положительные результаты в лечении острых цереброваскулярных расстройств в модели черепно-мозгового кровоизлияния (Плотникова Т.М. и соавт., 1993), репаративный эффект по отношению к слизистой оболочке тонкой кишки при экспериментальном перитоните (Староконь П.М., Ларин Ю.Н., 1999). Были описаны также и следующие способности бемитила:

- увеличивать активность антиокислительных ферментов, особенно супероксиддисмутазы (Катков В.Ф. и соавт., 1989, Шахназаров А.С. и соавт., 1990);

- инактивировать гидропероксид *in vitro* эффективнее глутатиона (Дже А.А. и соавт., 2002);

- препятствовать снижению содержания восстановленного глутатиона, SH-групп, активности глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы печени при острой гипоксии в эксперименте и усиливать синтез антиоксидантных ферментов глутатионовой системы (Зарубина И.В., Миронова О.П., 2002);

- индуцировать активность цитохрома Р-450 смешанного типа, увеличивая суммарное содержание цитохрома Р-450 в микросомах и монооксигеназную активность (Сорокина Е.А. и соавт., 2002);

- снижать уровень лактата крови у больных (Леоско В.А. и соавт., 1996) и интенсивность ПОЛ, определяемую непрямым антирадикальным путем (Плотников М.Б. и соавт., 1988, 1990);

- способствовать регенерации печени после частичной гепатэктомии в эксперименте (Гайворонская В.В. и соавт., 2002);

- оказывать антимуtagenный эффект (Дурнев А.Д. и соавт., 1988).

Была выдвинута гипотеза, согласно которой в основе механизма действия бемитила (2-этилтиобензимидазола гидробромида) и его аналогов -производных 2-тиобензимидазола - лежит активация синтеза РНК в разных клетках, приводящая к усилению синтеза белка. Такое действие может быть обусловлено их взаимодействием с геномом, вероятно, вследствие структурного сходства бензимидазола с пуриновыми основаниями - аденином и гуанином (Смирнов А.В., 1993; Смирнов А.В. и соавт., 1994).

Этот эффект не является органо- или тканеспецифичным, однако он всегда более выражен в тех органах и тканях, в которых активно протекают процессы синтеза РНК и, следовательно, белка.

Любопытно, что среди лекарственных препаратов, производных бензимидазола - множество средств самого разнообразного применения, с разной лечебной направленностью: с антипсихотической (пимозид), актопротекторной (бемитил, этомерзол), антиаритмической (мибефрадил, ритмидазол), противоязвенной (омепразол, гастрозол, пантопразол), противоаллергической (астемизол), урикозурической (иртемазол), антигельминтной (мебендазол, тиабендазол). Представлена и группа производных бензимидазола (фенбендазол, оксафендазол, парбендазол, триклабендазол), применяемых в ветеринарии в качестве антигельминтных средств. Означает ли это, что все они стимулируют синтез белка?

Интересно, что сам имидазол, как показано в эксперименте на модели миокардиальной ишемии (Smith E.F. e.a., 1980), обладает кардиопротективным действием благодаря специфическому ингибированию тромбоксан-А₂-синтетазы. Последняя, являясь коронарострикатором и нарастая в активности при ишемии, может вызывать дальнейшее ухудшение коронарного кровотока по принципу "порочного круга".

А.В. Смирнов и В.Ю. Ганчо (1990) показали, что усиление синтеза белка происходит в основном в головном мозге, чем они объясняли улучшение памяти при использовании бемитила.

Так или иначе, но установлено, что для поддержания высокого уровня обмена, как и физической работоспособности, необходимо активное протекание в печени и почках глюконеогенеза, обеспечивающего утилизацию молочной кислоты и ресинтез глюкозы при различных состояниях с ее высокой продукцией, например при усиленной мышечной деятельности. Ферменты глюконеогенеза относятся к достаточно коротко живущим белкам и их обновление идет постоянно.

Усиление синтеза именно этих ферментов является тем компонентом в механизме действия бемитила, который наиболее важен для повышения физической работоспособности. Кроме того, бемитил и его аналоги активируют синтез белков, обеспечивающих характерный для данных препаратов эффект экономизации: уменьшение потребления кислорода и теплопродукции, снижение расходования энергии.

тических ресурсов, в том числе на единицу выполненной работы.

Другая гипотеза механизма действия бемитила выдвинута Ю.Г. Бобковым и соавторами (1993) и подчеркивает способность препарата в эксперименте "ускорять переход супероксид-радикала и других свободных радикалов в молекулярный кислород с последующим его прямым использованием в метаболическом цикле за счет активации антиокислительных ферментов - СОД, каталазы, глутатионпероксидазы". Оставим этот механизм на совести авторов.

Хотя бемитил является эффективным средством восстановительно-репаративного, реабилитационного действия и при самых различных патологических состояниях он купирует астению, повышает работоспособность, возможно использование его и при острой гипоксии.

Любопытно, что в современной тренирующей методике интервальной гипокситерапии, при которой у пациентов создается искусственная гипоксическая гипоксия с профилактической (прекондиционирование) и лечебной целью, предусмотрено использование, скажем, "корректоров методики". В модельных опытах с такой своеобразной "лечебной" гипоксией бемитил проявил себя надежным протектором, "стимулируя развитие адаптивных метаболических сдвиги в мозге, сердце, печени, почках и скелетной мускулатуре" (Zarubina I.V., 2001).

Были получены обнадеживающие данные в клинике, свидетельствующие об антигипоксическом эффекте бемитила для предотвращения повреждения миокарда при остром инфаркте, в связи с операциями на сердце с искусственным кровообращением, при хронической гипоксии плода у беременных с гестозами, при хронической дыхательной недостаточности и вирусном гепатите (Лобзин Ю.В., Смирнов А.В., 1993; Шевченко Ю.Л. и соавт., 1995; Семиголовский Н.Ю. и соавт., 1995, 1996, 1998; Леоско В.А. и соавт., 1996; Рябинин Г.Б. и соавт., 1999).

В клинике Бемитил использовали и при нервно-мышечных заболеваниях (прогрессирующей миодистрофии, атрофической миотонии и вторичных амиотрофиях). Было отмечено увеличение мышечной силы, креатинининдекса, снижение продуктов ПОЛ, ферментемии (Лобзин В.С., Пустозеров В.Г., 1993). Есть некоторые основания рассчитывать и на церебропротекторные свойства бемитила, поскольку другие бензимидазольные производные в эксперименте (модели с перевязкой сонных артерий, гравитацией) оказались, по данным Л.М.Гаевой и Т.Н.Щербаковой (1994) в этом аспекте даже активнее кавинтона, пирацетама, фенибута и ГОМК.

Бемитил применяют для повышения и восстановления работоспособности, в том числе в экстремальных условиях (тяжелые нагрузки, гипоксия, перегревание и т. д.); для ускорения и упрочения развития адаптации к воздействию различных экстремальных факторов; для лечения астенических расстройств различной природы (при неврастении, соматических заболеваниях, после тяжелых инфекций и интоксикаций, в пред- и послеоперационном периоде при хирургических вмешательствах и др.); в комплексной терапии последствий черепно-мозговой травмы, менингитов, энцефалитов, нарушений мозгового кровообращения, а также при ухудшении памяти.

Наблюдения применения бемитила у больных острым инфарктом миокарда относятся к 1994-1995 годам (Семиголовский Н.Ю., 1995, 1996, 1998). Препарат назначали больным дважды в сутки - утром и днём, из опасения избыточного психостимулирующего его действия в ночные часы.

Пациенты, получавшие бемитил, были несколько активнее, "бодрее". Наблюдалась "гипотермическое" действие препарата - температура тела у больных на 5-6 сутки заболевания иногда оказывалась ниже 36°C, что соответствует описанию свойств бемитила (Смирнов А.В., 1993, Бобков Ю.Г. и соавт., 1993 и др.) и в целом характерно для производных тиомочевина (Пастушенков Л.В., 1968; Урюпов О.Ю., 1969).

Препарат не проявлял сколь-либо заметного антиангинального и антиаритмического действия. Динамика ферментной активности при его использовании не отличалась достоверно от контрольной, исключая статистически значимое снижение АлАТ на 3-4 сутки инфаркта ($p < 0.05$), по сравнению с контрольным показателем. Последнее соответствует наблюдениям Ю.В. Лобзина и А.В. Смирнова (1993) о гепатопротекторных свойствах бемитила.

Исследование протекторной активности препарата выявило и его гипокоагуляционные свойства у больных ОИМ, на что указывает достоверное снижение в основной группе среднего протромбинового индекса на протяжении всего времени наблюдения ($p < 0.01-0.05$) и среднего содержания фибриногена - на 5-6 сутки ОИМ ($p < 0.05$). Была отмечена также быстрая редукция стрессорной гипергликемии под влиянием бемитила, что совпадает с описанием его действия при других состояниях (М.Д. Машковский, 1993) и, возможно, подразумевает необходимость субстратной поддержки лечения этим антигипоксантом.

Ускоренное снижение исходно достоверно повышенного среднего систолического показателя ЭКГ ($p < 0.05$) совпадает с данными Л.А. Новикова (1994) об инотропной активности бемитила.

Побочных эффектов при использовании препарата нами не наблюдалось.

В эксперименте была показана способность бемитила, этомерзола и яктона ускорять регенерацию печени после частичной гепатэктомии (выявлено ускорение прироста массы печени, увеличение содержания в ней нуклеиновых кислот и гликогена, улучшение функционального состояния, что проявляется снижением уровня билирубина в крови и уменьшением длительности гексеналового сна). Репаративная

активность этих средств превосходила эффект комбинации стимуляторов регенерации, производных пуриновых и пиримидиновых оснований, рибоксина и оротата калия (Гайворонская В.В. и соавт., 2002).

Карнитин.

Международное непатентованное название препарата - левокарнитин (Levocarnitine). Карнитина хлорид выпускается в 10%-ном растворе для инъекций (1мл содержит 100 мг вещества).

Вещество впервые выделил из фарша В.С. Гулевич (1905), но лишь в 1959 году Frits установил ведущую роль карнитина в процессе β -окисления жирных кислот. В 1969 году была идентифицирована физиологическая форма карнитина, представленная L-карнитином.

В организме человека содержится 20-25 г этого вещества, из которых около 98% находится в скелетных мышцах и миокарде. Потребность в L-карнитине взрослого человека составляет 200-500 г в день. Наибольшее количество его содержится в баранине (190 мг/100 г) и в авокадо. Биосинтез L-карнитина проходит в основном в печени (из лизина и метионина при участии восстановленного железа и кофакторов синтеза витаминов С, В6, В3), а основными потребителями его являются сердечная и скелетные мышцы. Любопытно, что цинга вызывает дефицит карнитина в мышечной ткани при неизменной его концентрации в печени, почках и плазме.

Антигипоксические свойства карнитина доказаны L.Karen с сотрудниками (1987) и А.Л.Караевым и соавторами (1991). Карнитин относится к препаратам, активно влияющим на метаболические процессы. Помимо антигипоксического он оказывает анаболическое, антитиреоидное, стимулирующее жировой обмен регенерирующие действия.

Препарат восстанавливает щелочной резерв крови, не влияет на свертывающую систему крови, уменьшает образование кетокилот, повышает устойчивость тканей к влиянию токсичных продуктов распада, активизирует аэробные процессы и угнетает анаэробный гликолиз, стимулирует и ускоряет репаративные процессы.

Он оказывает жиромобилизирующее действие - включает жирно-кислотный метаболический шунт, активность которого не лимитирована кислородом, поэтому карнитин эффективен при острой гипоксии мозга, миокарда и при других критических состояниях.

З.А.Сулина и соавторы (2003) изучали антиоксидантное действие L-карнитина при лечении дисциркуляторной энцефалопатии на фоне сахарного диабета. Препарат L-карнитина (2 г ежедневно) дополнительно к базисной терапии повышал резистентность липопротеинов сыворотки крови пациентов к перекисному окислению, что свидетельствует о его антиоксидантных свойствах. Авторами отмечено гипогликемизирующее действие L-карнитина: его использование позволило уменьшить дозу сахароснижающих препаратов на 42%. На фоне лечения L-карнитином у обследованных больных отмечено улучшение абстрактного и практического мышления и памяти. Полученные результаты позволили авторам рекомендовать включение L-карнитина в комплекс лечения больных с сосудистыми заболеваниями головного мозга.

Препарат обладает нейротрофическим действием: показано, что карнитин тормозит развитие апоптоза, ограничивает зону поражения и восстанавливает структуру нервной ткани. Имеются и другие сведения об эффективности препарата при дисциркуляторной энцефалопатии, различных травматических и токсических поражениях головного мозга, при острых нарушениях мозгового кровообращения - ишемическом инсульте, транзиторной ишемической атаке. Назначают препарат в остром, подостром и восстановительном периодах.

Многими авторами было выявлено снижение уровня карнитина в миокарде при различных заболеваниях сердца - от ишемической болезни, включая инфаркт миокарда, до кардиомиопатий, гипертонической болезни, клапанных пороков и застойной сердечной недостаточности (Spagnoli L.G. e.a., 1982; Bohles H. e.a., 1986; Regitz V. e.a., 1990).

Y.Masumura с соавторами (1990) показали, что дефицит карнитина в миокарде в основном касается свободного карнитина, в то время как показатели общего карнитина часто остаются нормальными за счет увеличения связанного карнитина в виде эфира в основном длинноцепочечного. V. Regitz с соавторами (1990) отметил прямую (хотя и не линейную) связь дефицита карнитина со снижением фракции выброса левого желудочка - особенно низким его уровень был у пациентов с фракцией выброса ниже 30%. А.А.Patel с соавторами (1990) обнаружил прогностическую значимость снижения содержания карнитина в миокарде, наблюдая в течение 5 лет 40 больных, из которых у 18 "карнитиндефицитных" летальность составила 33,3% в отличие от 22 больных с нормальным уровнем карнитина с летальностью 4,6%.

Одной из причин карнитинового дефицита в миокарде считают выход его в плазму при ишемии с последующим вымыванием. Так P.Rizzon и соавторы (1989) обнаружили первоначальное нарастание плазматической концентрации карнитина в первые 48 ч после острого инфаркта миокарда, а G.L.Bartels и W.J.Remme (1990) зафиксировали снижение свободного карнитина в плазме после электрокардиостимуляции предсердий в группе больных, испытавших при этом ишемию миокарда в отличие от пациентов без ишемии или с безлактатной ишемией. Дефицит карнитина в миокарде в результате ишемического повреждения клеток затрудняет перенос жирных кислот в митохондрии и приводит к их накоплению в цитоплазме (Порядин Г.В., 1997; Loraschuk G., 2000).

В 1979 году L.H.Ориэ предложил использовать карнитин при ишемии миокарда. По данным

А.И.Толейкис и соавт. (1986), карнитин в эксперименте при ишемии миокарда оказывал протективный эффект, восполняя возникающий дефицит (А.Л. Shug, 1978), что подтвердили и в клинике у больных стенокардией и застойной недостаточностью кровообращения (Савчук В.И. и соавт., 1991; Белозеров Ю.М., 1992; Kamikawa e.a., 1984; Cherchi e.a., 1985; Fernandez C. e.a., 1985; Orlando G., Rusconi C, 1986; Cacciatore L. e.a., 1991; Borchard U. e.a., 1994 и др.). Обычной дозировкой было 2 г в день в течение 1-6 месяцев. Авторами отмечено снижение потребности больных в нитратах, увеличение антиангинального действия бета-адреноблокаторов и антагонистов кальция, увеличение переносимости нагрузок.

Положительный эффект карнитина был отмечен и у больных острым инфарктом миокарда, включая его осложненное течение: кардиогенный шок и нарушения сердечного ритма (Rebuzzi A.G. e.a., 1984; Chiariello G. e.a., 1986; Rizzon P. e.a., 1989; Davini P. e.a., 1992; Corbucci G.G., Lettieri B, 1992; Corbucci G.G., Loche F., 1993). Препарат вводили внутривенно до 21 г в первые часы заболевания и перорально (до 6 г в день на протяжении 30 дней). Было выявлено уменьшение зоны некроза и 12-месячной летальности, стабилизация гемодинамики, антиаритмическое действие препарата, увеличение сократительной способности миокарда и экскреции с мочой жирных кислот. При кардиогенном шоке применение препарата способствовало ликвидации ацидоза и снижению летальности с 80 до 50% (Corbucci G.G., Loche F., 1993).

При лечении хронической сердечной недостаточности изучали эффективность ежедневного перорального приема 2 г L-карнитина на протяжении 1,5-12 месяцев (Ghidini O. e.a., 1988; Fernandez C, 1991; Borchard U. e.a., 1994). Авторы отмечали у больных субъективное улучшение, увеличение сократимости миокарда, снижение потребляемых доз сердечных гликозидов, диуретиков, вазодилататоров, антиаритмиков и нитратов.

Показано также назначение препарата в качестве кардиопротектора при лечении цитостатиками, особенно антрациклинового ряда. По данным Г.А.Лазаревой и соавт. (2002), карнитин уменьшает выраженность изменений иммунологических функций при отравлениях гемолитическими ядами (фенилгидразин).

Препарат используют также при ишемической болезни сердца, различных кардиомиопатиях, ожирении, сахарном диабете, в спортивной медицине. Существуют современные рекомендации по использованию цинк-карнитина (по 150 мг дважды в день) с целью профилактики и лечения язвенной болезни, повышения эффективности эррадикации *H. pylori* (Arakawa T. e.a., 1990; Nishiwaki H. e.a., 1999).

Описан синдром карнитинового дефицита (Гринию Л.П., 1988; Karpati G. e.a., 1975; Ware A.L. e.a., 1978 и др.), проявляющийся мышечными болями, почечной и сердечной недостаточностью. Известно, что кардиомиопатии у детей относятся к тяжелым заболеваниям миокарда с непрерывно прогрессирующим течением и тяжелым прогнозом с высокой смертностью (Леонтьева И.В., 2001). Системная форма первичной карнитиновой недостаточности клинически проявляется тяжелой гипогликемией, почечной недостаточностью и энцефалопатией по типу синдрома Рейе (Белозеров Ю.М., 1992). Определенный эффект при этом дает заместительная терапия карнитином.

В педиатрии показаниями для использования препарата являются: последствия родовой травмы и асфиксии; гипотрофия и гипотония новорожденных; респираторный дистресс-синдром новорожденных; выхаживание недоношенных новорожденных, находящихся на полном парентеральном питании, и детей, которым производится гемодиализ; синдромомкомплекс, сходный с синдромом Рейе (гипогликемия, гипокетонемия, кома), развивающийся у детей на фоне приема вальпроевой кислоты; дефицит массы тела у детей и подростков до 16 лет; пропионовая и др. "органические" ацидемии, первичный (генетический) дефицит карнитина.

Препарат используется также при анорексии, гипотрофии, задержке роста у детей. Карнитин повышает секрецию и ферментативную активность пищеварительных соков (желудочного и кишечного), улучшает усвоение пищи. Он снижает избыточную массу тела и уменьшает содержание жира в мускулатуре.

С другой стороны вторичная приобретенная недостаточность карнитина развивается при активном его выведении (гемодиализ, прием вальпроевой кислоты), при избыточном расходе (ишемические поражения, травма, выздоровление, беременность), при нарушениях поступления с пищей (парентеральное питание, мальабсорбция, кишечные заболевания), при нарушении реабсорбции в почках (хроническая почечная недостаточность).

Препарат повышает порог резистентности к физической нагрузке, приводит к ликвидации после-нагрузочного ацидоза и, как следствие, восстановлению работоспособности после длительных истощающих нагрузок. Он увеличивает запасы гликогена в печени и мышцах, способствует более экономному его использованию.

Препарат назначают самостоятельно или в комплексной терапии.

При внутривенном введении спустя 3 ч карнитин уже не обнаруживается в крови. Он легко проникает в печень, миокард, медленнее - в мышцы. Выводится почками преимущественно в виде ацильных эфиров.

Карнитин вводят внутривенно капельно медленно (не более 60 капель в мин!). Перед введением каждые 100 мг препарата карнитина хлорида (1мл 10%-ного раствора) растворяют в 50 мл изотоническо-

го раствора NaCl или 5%-ного раствора глюкозы.

В остром периоде заболевания в первые 3 дня карнитин вводят по 10-14 мг/кг массы тела больного, в последующие дни - по 7 мг/кг массы тела. Общий курс лечения 7-10 дней. При необходимости через 10-12 дней проводят повторный курс по 7 мг/кг веса в течение 3-5 дней.

При остром инфаркте миокарда препарат используют в суточной дозе 100-200 мг/кг в 4 приема или в виде непрерывной внутривенной инфузии в течение 48 ч с последующим снижением дозы в 2 раза. Больным, находящимся на хроническом гемодиализе, вводят 2 г однократно сразу после завершения очередного сеанса.

При назначении препарата в подостром и восстановительном периодах дисциркуляторной энцефалопатии и различных поражениях головного мозга больным вводят по 0,5-1,0 г карнитина хлорида один раз в сутки в течение 3-5 дней. При необходимости через 12-14 дней назначают повторный курс.

Использование карнитина при гемодиализе позволяет нивелировать отклонения в липидном спектре крови (снижает уровень триглицеридов и холестерина, увеличивает содержание липопротеидов высокой плотности), снижает частоту гипотензии и нарушений сердечного ритма, способствует увеличению количества эритроцитов и гемоглобина, позволяет снизить дозу эритропоэтина.

Что касается побочных действий, то при назначении карнитина возможны аллергические реакции. В случае быстрого внутривенного введения возможно появление болей по ходу вен, проходящих при снижении скорости введения. При диабете у людей, получающих инсулин и пероральные гипогликемизирующие средства, возможно развитие гипогликемии. Описывают также болевые ощущения в эпигастриальной области, диспептические явления, мышечную слабость.

Глюкокортикоиды способствуют накоплению карнитина в тканях (кроме печени), другие анаболики усиливают его эффект.

Противопоказаний за исключением повышенной индивидуальной чувствительности к препарату не описано.

Как и было сказано, вещества, родственные этилтиобензимидазолу, широко описаны, в том числе и в патентах RU 1251374, применение 2-этил-меркаптобензимидазола бромид в качестве психотропного средства, обладающего актопротекторным психостимулирующим и антигипоксическим действием.

RU 2061686, применение в фармацевтических композициях производных 2-этилтиобензимидазола гидробромид и гидрохлорида, проявляющих слабую транквилизирующую активность.

RU 2157684, лекарственное средство, относящееся к группе актопротекторов, оказывающих умеренное психостимулирующее действие, в котором активным ингредиентом является 2-этил-меркаптобензимидазола гидробромид, применяемое для лечения системной красной волчанки. Как соединение, обладающее антигипоксической активностью, используют при пограничных психиатрических расстройствах, когда показана стимуляция психических и физических функций.

RU 2188012, применение 2-этил-меркаптобензимидазола бромид при лечении больных первичным билиарным циррозом в качестве иммуномодулирующего средства, действующего на клеточное звено иммунитета и способствующего повышению эффективности других, применяемых в комплексной терапии циррозов, препаратов направленного действия.

RU 2173144, применение актопротекторов, содержащих в качестве активного ингредиента производное 2-этилтиобензимидазола гидробромид моногидрата, для лечения миодистрофии Дюшенна-Беккера.

Это производное вследствие структурного сходства с пуриновыми основаниями аденином и гуанином усиливает синтез митохондриальных ферментов, повышает энергетический потенциал мышечной ткани и стимулирует окислительно-восстановительные процессы. Увеличение энергетического потенциала мышечной ткани способствует активации синтеза белков и ферментов, что приводит к снижению проницаемости мембран миоцитов, способствует регенерации мышц, замедлению миодистрофического процесса.

RU 2017483, применение лекарственного средства, содержащего 2-этилтиобензимидазола гидробромид моногидрат, в качестве средства, повышающего устойчивость организма к гипоксии и восстанавливающего работоспособность при выполнении тяжелых физических нагрузок и при воздействии неблагоприятных факторов, а также для устранения полипрагмазии, для профилактики профессиональной тугоухости; RU 2019161 для профилактики острых приступов глаукомы при геомагнитных бурях.

RU 2138263, применение 2-этилтиобензимидазола гидробромид для лечения гипоталамо-гипофизарной недостаточности у женщин с использованием эффекта повышения устойчивости мозга к асфиксии и циркуляторной гипоксии, что проявляется выраженным увеличением мозгового кровообращения, улучшением кислородного снабжения мозга, а также эффектом торможения деградации энергетических функций митохондрий нейроглиальных клеток.

В качестве ближайшего аналога может быть указан препарат бемактор (Терра Медика Нова, № 4 '98 НОВОСТИ ФАРМАЦИИ "Бемактор" - новый препарат для общей медицинской практики). Препарат вызывает выраженный противоастенический эффект и ускоряет процесс выздоровления при различных заболеваниях. Бемактор выпускался в виде таблетированной формы (производство "ICN-Октябрь"). Однако выпуск его прекращен с 1999 г. Он недоступен для врачей и пациентов. Как написано в рекоменда-

ции по применению, его используют пероральный прием по 250-500 мг в течение 2-3 или 5-7 дней (но не более 10-12 дней из-за возможности избыточного психоактивирующего действия).

При создании изобретения ставилась задача поиска лекарственного средства, способного оказывать сочетанное биологическое действие в условиях энергетической недостаточности в организме.

Задача решается новой комбинацией двух агентов, активирующих системы энергообеспечения функционирования метаболических процессов, и при этом ни как не пересекающихся друг с другом в плане воздействия на механизмы активации. На основе данной комбинации была разработана фармацевтическая композиция для коррекции симптомов лечения астении и/или синдрома хронической усталости как изолированно, так и при различных заболеваниях и/или пре и/или постморбидных состояниях у млекопитающих, характеризующаяся тем, что в качестве активных компонентов содержит 2-этилтиобензимидазол и/или его фармацевтически приемлемую соль и левокарнитин в терапевтически эффективных количествах.

Приемлемые терапевтически эффективные количества составляют для 2-этилтиобензимидазол и/или его фармацевтически приемлемых солей 50-250 мг, левокарнитина 150-750 мг.

В качестве фармацевтически приемлемых солей возможно использование, например, таких солей, как гидробромида этилтиобензимидазола (бемитил), гидрохлорида 2-этилтиобензимидазола.

Фармацевтическая композиция может содержать целевые добавки для придания удобной для приема лекарственной формы. В частности, она может содержать наполнители, выбранные из группы сахаров, заменителей сахара, заменителей вкуса, дезинтегрирующих агентов, разрыхлителя, ароматизатора, при следующих соотношениях, мас. %:

Этилтиобензимидазола гидробромид 5,46-15,15.

Левокарнитин 21,86-44,55.

Наполнитель, выбранный из группы сахаров 9,09-42,62.

Наполнитель, выбранный из группы заменителей сахара 9,09-16,39.

Наполнитель, выбранный из группы, маскирующей вкус 2,42-6,56.

Наполнитель, выбранный из группы дезинтегрирующих компонентов 1,21-4,37.

Наполнитель, выбранный из группы заменителей разрыхляющих агентов 1,21-2,19.

Наполнитель, выбранный из группы ароматизаторов 0,30-0,55.

В качестве наполнителя группы сахаров могут быть использованы, например лактоза, глюкоза, сахароза, фруктоза, циклодекстрин.

В качестве наполнителя группы заменителей сахара могут быть использованы, например маннит, ксилит, сорбит, изомальтит, фруктоолигосахариды.

В качестве наполнителя группы маскирующего вкус могут быть использованы сок лимона, мед, стевииозиды, мальтол и др.

В качестве наполнителя группы дезинтегрирующих компонентов могут быть использованы, например натрия кроскармеллоза, крахмал, микрокристаллическая целлюлоза, агар, желатин.

В качестве наполнителя группы заменителей разрыхляющих агентов могут быть использованы, например натрия крахмал гликолят, силикатированная микрокристаллическая целлюлоза.

В качестве наполнителя группы ароматизаторов могут быть использованы пищевые ароматизаторы.

Композиция может быть представлена в твердой лекарственной форме. Примером такой формы являются таблетки для рассасывания.

Композиции по изобретению применяются для коррекции симптомов лечения астении и/или синдрома хронической усталости как изолированно, так и при различных заболеваниях и/или пре и/или постморбидных состояниях путем введения лекарственного препарата путем введения от 5-ти и до 20-ти дней при необходимости с повторным применением перерыва продолжительностью 2 или более дней.

Технический результат: агенты могут значительно усилить эффекты друг друга, в том числе связанные с энергообеспечением функционирования метаболических процессов, и соответственно улучшить состояние пациентов при самых различных заболеваниях или внеморбидных состояниях. При комбинировании наблюдается усиление антиастенического, антистрессорного действия, повышается физическая и умственная работоспособность, значительно увеличивается антигипоксический эффект.

Использование комбинации в виде быстродействующей рассасываемой таблетки позволяет избежать таких побочных эффектов этилтиобензимидазола как кумулятивный эффект и повышенный психоактивирующий эффект, что может рассматриваться как дополнительный результат.

Возможность осуществления изобретения может быть продемонстрирована следующими ниже представленными примерами.

Пример 1.

Таблетки, масс. %

Этилтиобензимидазола гидробромид	10
Левокарнитина	30
лактоза	34
ксилит	16
мальтит	4,7
Микрокристаллическая целлюлоза	2,9
Натрия крахмал гликолят	2,1
Ароматизатор ментоловый	0,3

Пример 2.

Капсулы, масс. %

Этилтиобензимидазол	15,15
Левокарнитин	21,86
Маннит	остальное

Пример 3.

Таблетки для рассасывания, масс. %

Этилтиобензимидазола гидробромид	5,46
Левокарнитина	44,55
Мальтит	49
Сахаринат натрия	0,09

Пример 4. Фармакологическая активность.

Целью настоящего исследования было изучить влияние повторного введения комбинации бемитила с левокарнитином на двух моделях синдрома хронической усталости у мышей. В качестве первой модели использовался синдром физической усталости, вызванный повторными физическими нагрузками. В качестве второй модели использовался синдром усталости, вызванный повторным стрессом у мышей.

В качестве вещества для сравнения использовался рибоксин.

Методы исследования.

4.1. Экспериментальные животные.

Все эксперименты проводились в соответствии с принципами работы с лабораторными животными (Principles of Animal Care, директива 86/609/ЕЕС) согласно Хельсинкской декларации. Закупка животных и проведение опытов были сделаны на основании соответствующей лицензии от Комитета по этике (Министерство сельского хозяйства Эстонской республики). Все лица, осуществляющие уход за животными и проводившие эксперименты, обладают персональными лицензиями, позволяющими проводить опыты на животных. При проведении экспериментов были предприняты все усилия, чтобы минимизировать количество животных и их страдания.

Все эксперименты были проведены на 120 мышах-самцах линии C57BL/6. Животные были закуплены в фирме Harlan (Англия). Средний возраст животных в момент прибытия в виварий Биомедицинского центра Тартуского университета был 6 недель (120 мышей). По прибытии животные были помещены на 2 недели на карантин в виварий Биомедицинского центра Тартуского университета. После чего животные были перенесены в виварий Института фармакологии (комната номер 3028). Животные содержались в пластиковых клетках (5 мышей в клетке) размерами 25×45×12 см (ш×д×в) без ограничения в пище и воде, с 12-часовым световым циклом (свет включается автоматически в 8.00). Клетки с животными находились в специальных климатических контейнерах (Scanbur, Дания). Контейнеры снабжены фильтрами НЕРА для очистки воздуха и имеют 24-часовой мониторинг влажности и температуры воздуха. Относительная влажность в контейнерах поддерживается в пределах 50±2%, температура 22±1°C. Доступ к животным разрешен только персоналу, имеющему соответствующую лицензию. Чистка клеток и обеспечение кормом и водой проводятся один раз в сутки. Корм животных: гранулированный R70 (Lactamin, Stockholm, Швеция). Животные находились в климатических контейнерах в течение 1 недели до начала опытов. Были проведены 2 серии опытов и в каждой серии использовалось 60 мышей. В первой серии опытов изучалось действие веществ на синдром усталости, вызванный повторной физической нагрузкой (плавание в бассейне). Во второй серии опытов изучалось действие веществ на развитие поведенческого синдрома, вызванного стрессорным воздействием (хронический переменный стресс). Для опытов с повторными физическими нагрузками были взяты мыши в возрасте 8-8,5 недель, для опытов где использовался переменный стресс возраст мышей был 10-10,5 недель.

В первой серии опытов масса тела мышей к началу эксперимента составляла 22,7±0,3 г (n=60), во второй серии опытов масса мышей составляла 23,1±0,2 г (n=60).

Все исследуемые вещества вводились в виде суспензии в 1%-ном крахмальном клейстере с помощью желудочного зонда один раз в сутки днем (12.00-13.00) в течение 7 дней. Растворы веществ приготавливались ежедневно непосредственно перед началом введения. Дозы исследуемых веществ приведены в табл. 1.

Дозы исследуемых веществ, применявшиеся в исследованиях, и их обозначения в тексте отчета.

Таблица 1

Дозы (мг/кг) веществ, предоставленные заказчиком	Дозы (мг/кг) веществ, где левокарнитин пересчитан на левокарнитина L-тарtrat	Обозначение комбинации веществ в отчете
Рибоксин 148,6 мг/кг	Рибоксин 148,6 мг/кг	Рибоксин
Бемитил 74,2 мг/кг + Левокарнитин 185,8 мг/кг мг	Бемитил 74,2 мг/кг Левокарнитина L-тарtrat 272,7 мг/кг	Малая доза (МД)
Бемитил 148,4 мг/кг + Левокарнитин 371,6 мг/кг	Бемитил 148,4 мг/кг Левокарнитина L-тарtrat 545,4 мг/кг	Средняя доза (СД)
Бемитил 222,6 мг/кг + Левокарнитин 557,4	Бемитил 222,6 мг/кг+ Левокарнитина L-тарtrat 818,0 мг/кг	Большая доза (БД)
мг/кг		

Синдром физической усталости, вызванный повторной физической нагрузкой.

Перед началом опытов животных кодировали и разделили на 6 групп по 10 животных в каждой с помощью программы рандомизации.

Приведены группы животных, исследуемые вещества и схема проведения эксперимента. Указано время после последнего введения исследуемых веществ.

Таблица 2

№ гр. Жи в-х	Введение веществ 1 раз в день в течение 7 дней	Физическая нагрузка 2 раза в день в течение 7 дней	Тест вращающегося стержня	Тест открытого поля	Тест на депрессивное состояние	Тест распознавания нового объекта
1	Контроль	-	24 часа	48 часов	48 часов	48-50-72 часа
2	Контроль: физическая нагрузка	+	24 часа	48 часов	48 часов	48-50-72 часа
3	Рибоксин	+	24 часа	48 часов	48 часов	48-50-72 часа
4	Бемитил + левокарнитин (МД)	+	24 часа	48 часов	48 часов	48-50-72 часа
5	Бемитил + левокарнитин (СД)	+	24 часа	48 часов	48 часов	48-50-72 часа
6	Бемитил + левокарнитин (БД)	+	24 часа	48 часов	48 часов	48-50-72 часа

Методика физических нагрузок.

Физическая нагрузка у мышей проводилась 2 раза в день. Для этого использовался бассейн размерами 25×12×25 см, заполненный водой (25°C). Животные помещались в бассейн и находились в воде в течение 6 мин. Нагрузка проводилась утром с 8.00 до 11.00 и вечером с 17.00 до 20.00 на всех животных, за исключением первой контрольной группы мышей. Во время последнего сеанса плавания в бассейне измерялось время, в течение которого животные при плавании находились в неподвижном состоянии. Одновременно в опыте использовались 4 одинаковых бассейна и сеансы плавания записывались на видеопленку. Анализ поведения проводился на основании видеозаписи сотрудником, не знакомым с протоколом введения веществ.

Исследуемые вещества вводились ежедневно в промежутках между сеансами плавания (12.00-

13.00). Спустя 24 ч после последнего введения исследуемых веществ проводились поведенческие опыты по схеме, показанной в табл. 2.

Синдром усталости, вызванный повторным вариабельным стрессорным воздействием у мышей.

Перед началом опытов животных кодировали и разделили на 6 групп по 10 животных в каждой с помощью программы рандомизации. Стрессорное воздействие проводилось по схеме, представленной в табл. 3, два раза в день в течение семи дней. Исследуемые вещества вводились один раз в день (12.00-13.00) в течение 7 дней.

Таблица 3

Характеристика стрессорного воздействия

Дни опытов	Стрессорное воздействие (30 мин) 08.00-08.30	Стрессорное воздействие (30 мин) 17.00-17.30
1	Обездвиживание животных в рестрайнере	Плавание в холодной воде 3 сеанса по 5 мин
2	Плавание в холодной воде 3 сеанса по 5 мин	Нанесение удара электрическим током (0.1 А, 30 сек, 10 ударов)
3	Нанесение удара электрическим током (0.1 А, 30 сек, 10 ударов)	Яркий свет 120 люкс
4	Яркий свет 120 люкс	Обездвиживание животных в рестрайнере
5	Помещение в холодную комнату (+4°C)	Подвешивание за хвост 3 сеанса по 5 мин
6	Подвешивание за хвост 3 сеанса по 5 мин	Мокрая подстилка
7	Мокрая подстилка	Подвешивание за хвост 3 сеанса по 5 мин

Спустя 24-72 ч после последнего введения веществ оценивалось поведение животных: физическая работоспособность, наличие симптомов депрессивного поведения, страх, тревога и мнестические функции.

Оценка поведенческих реакций.

Оценка физической работоспособности проводилась по продолжительности неподвижного состояния животных во время последнего сеанса плавания, а также с помощью теста вращающегося стержня. Тестирование животных по методике вращающегося стержня проводили спустя 24 ч после последнего введения веществ. В опытах использовался вращающийся стержень диаметром 30 мм фирмы TSE Systems, Type No. 337500-M/A; Serial No. 120402-06 (Германия) с автоматической регистрацией времени удержания мышей на стержне. В предварительных опытах было установлено, что при данном диаметре стержня оптимальная скорость вращения должна составлять 20 об/мин. Способность удержания животных на стержне зависела от степени их тренированности. Поэтому в течение опыта в 1-й, 3-й и 5-й дни введения проводились сеансы тренировки всех мышей, включая контрольных животных без физической нагрузки. При этом скорость вращения в течение каждого сеанса с помощью программного обеспечения постепенно увеличивалась от 0 до 20 об/мин. Аппарат позволял одновременно тестировать до 5 животных. Аппарат был соединен с компьютером, позволяющим автоматически записывать данные по времени удержания животных на стержне.

Оценка тревоги и страха проводилась с помощью теста "открытого поля" спустя 48 ч после последнего введения веществ. Открытое поле представляет собой ящик размером 40×40×40 см, разделенный на 16 квадратов. Оценивалось число пересеченных квадратов (двигательная активность) и время нахождения мышей в центральных квадратах. Животные с низким уровнем тревоги проводят больше времени в центральных квадратах.

Оценка способности животных активно избегать стрессорное воздействие (тест на депрессивноподобное состояние) проводилась в тесте подвешивания за хвост. В этом состоянии животные активно стремятся взобраться на подставку и выйти из данного состояния. Животные с депрессивной симптоматикой не сопротивляются и остаются неподвижными. Определялось время, в течение которого животные находились в неподвижном состоянии за 180 с наблюдения. Тестирование проводилось спустя 48 ч после последнего введения веществ.

Оценка эпизодической памяти на модели распознавания нового объекта у мышей проводилась с использованием теста распознавания нового объекта. Этот тест широко используется для оценки эпизодической памяти у животных. Тест основан на том, что здоровое животное исследует значительно больше времени новый объект, чем старый.

Опыт состоял из трех фаз: фазы привыкания, фазы тренировки и фазы ретенции (см. табл. 2).

1) Фаза привыкания.

В течение этой фазы мышей индивидуально помещали в деревянный ящик размером 50×50×50 см (длина×ширина×высота), находящийся в экспериментальной комнате, слабо освещенной лампами нака-

ливания, с постоянным освещением 60 люкс. Пол ящика был разделен на 16 одинаковых квадратов с длиной стороны 12,5 см. Животное находилось в ящике в течение 5 мин и экспериментатор регистрировал число пересеченных квадратов. Этот показатель в дальнейшем использовался для оценки двигательной активности мышей. Спустя 5 мин животное извлекалось из ящика и пол ящика протирался 5%-ным раствором этанола для устранения запаха.

2) Фаза тренировки.

Спустя 2 ч после окончания фазы привыкания проводилась фаза тренировки. Для этого животное снова помещали в центр ящика, на полу которого были установлены два одинаковых объекта. Объекты представляли собой два деревянных кубика, расположенных в противоположных углах ящика (фиг. 1).

Схема опыта по изучению эпизодической памяти в тесте распознавания нового объекта у мышей.

Животному давалась возможность исследовать объекты в течение 5 мин, и при этом фиксировалось время, в течение которого животное исследовало каждый из объектов. Эти данные необходимы для оценки степени мотивации и исследовательской активности животных. После каждого животного пол ящика протирался 5%-ным раствором этанола. По окончании опыта животное помещалось в домашнюю клетку.

3) Фаза ретенции.

Спустя 72 ч после последней физической нагрузки животные снова помещались в ящик для исследования, в котором один объект был заменен на новый объект другой формы и цвета (фиг. 1).

Животному снова давалась возможность исследовать старый и новый объекты в течение пяти минут, и время исследования каждого объекта регистрировалось экспериментатором.

Коэффициент предпочтения исследования нового объекта представлялся как отношение времени исследования нового объекта по отношению к общему времени исследования старого и нового объектов по формуле $(T_{нов} \times 100) / (T_{ст} + T_{нов})$, где $T_{ст}$ и $T_{нов}$ - время исследования старого и нового объектов.

Статистический анализ.

Для каждой группы мышей рассчитывались средние значения $(M) \pm$ стандартная ошибка средней (m) . Далее данные анализировались с помощью однофакторного дисперсионного анализа с последующим применением ретроспективного критерия Бонферрони (действие исследуемых веществ, влияние дозы). Различия между группами считались достоверными при $p < 0,05$. Статистическая обработка данных проводилась с использованием статистического программного обеспечения GraphPad PRISM-5 (США).

Результаты исследования и обсуждение результатов.

Обоснование выбора доз бемитила и левокарнитина для исследований.

Дозы исследуемых веществ были предоставлены заказчиком исследования. После согласования дозы левокарнитина основания были пересчитаны на левокарнитина тартрат (см. методы исследования, табл.1).

Влияние исследуемых веществ на поведение мышей на фоне повторных физических нагрузок в течение 7 дней.

Влияние исследуемых веществ на массу тела животных при повторных физических нагрузках.

В процессе опытов одно животное в группе контроля с физической нагрузкой погибло на 3-й день введения веществ. При вскрытии животного обнаружилась перфорация пищевода. Поэтому в этой группе количество животных составляло 9 мышей.

Влияние физической нагрузки и исследуемых веществ на массу тела животных приведены в табл. 4 и фиг. 2.

Таблица 4

Влияние исследуемых веществ на динамику массы тела животных при повторных физических нагрузках

№ Группы	Масса тела (г) в 1-й день введения	Масса тела (г) на 7-й день введения	Динамика массы (г) тела животных
Контроль	22,6 ± 0,6	23,1 ± 0,6	0,5 ± 0,1
Контроль (физическая нагрузка)	22,4 ± 0,4	21,7 ± 0,7	- 0,7 ± 0,3**
Рибоксин	23,5 ± 0,6	21,9 ± 0,6	-0,5 ± 0,2*
Бемитил+левокарнитин (МД)	23,1 ± 0,5	23,2 ± 0,5	0,1 ± 0,11
Бемитил+левокарнитин (СД)	21,8 ± 0,9	21,4 ± 0,8	-0,4 ± 0,2
Бемитил+левокарнитин (БД)	22,3 ± 0,6	21,9 ± 0,7	-0,5 ± 0,2

Приведены средние значения и стандартные ошибки средней $(M \pm m)$ для группы из 9-10 мышей. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ по сравнению с контролем (тест Бонферрони).

Дисперсионный анализ выявил достоверное влияние физической нагрузки и действия веществ на динамику массы тела: $F_{5,53}=4,763$, $p=0,001$. Последующий анализ межгрупповых различий с помощью теста Бонферрони показал, что повторные физические нагрузки достоверно ($p < 0,01$) снижали массу тела

мышей. Исследуемая комбинация веществ бемитил+левокарнитин при повторном введении уменьшала падение массы тела. Наиболее отчетливо влияние веществ показано на фиг 2. Как видно из фиг. 2, наиболее заметное действие на снижение веса в результате физической нагрузки оказывала комбинация веществ бемитил+левокарнитин в малых дозах. Действие средних и больших доз комбинации бемитил+левокарнитин проявлялось в несколько меньшей степени. Рибоксин существенно не влиял на динамику массы тела при физическом утомлении животных (табл. 4, фиг. 2).

Влияние исследуемых веществ на физическую работоспособность мышей, после повторных физических нагрузок.

Физическую утомляемость мышей оценивали по двум тестам: во-первых, по времени неподвижного состояния во время плавания в бассейне в последнем сеансе плавания и, во-вторых, по времени удержания животных на вращающемся стержне. Результаты первого опыта представлены в табл. 5.

Таблица 5

Влияние исследуемых веществ на продолжительность (с) неподвижного состояния мышей при плавании в бассейне во время последнего сеанса плавания

Исследуемые вещества	Количество мышей в группе	Время (сек) неподвижного состояния при плавании в бассейне
1. Контроль	10	84,2±12,3
2.Контроль: физическая нагрузка	9	154,1±12,2**
3. Рибоксин	10	142,5±11,1*
4. Бемитил+левокарнитин (МД)	10	100,8±11,3
5.Бемитил+левокарнитин (СД)	10	124,5±13,0
6.Бемитил+левокарнитин (БД)	10	114,2±18,2

Приведены средние значения и стандартные ошибки средней ($M \pm m$) для группы из 9-10 мышей. ** $P < 0,01$ по сравнению с контролем без физической нагрузки (тест Бонферрони).

Как показали опыты, после повторных физических нагрузок (плавание в бассейне) у животных развивался синдром усталости, который проявлялся в увеличении времени неподвижности во время последнего сеанса плавания в бассейне. Дисперсионный анализ показал статистически достоверные различия: $F_{5,53}=3,746$; $p=0,0056$. Статистический анализ межгрупповых различий с помощью теста Бонферрони выявил также статистически достоверное ($p < 0,01$) влияние физической нагрузки на время неподвижности животных (табл. 5). Комбинация веществ бемитил+карнитин в малых дозах (МД) уменьшала время неподвижности мышей по сравнению с контрольной группой, получавшей физические нагрузки, однако данные не достигали статистически значимого уровня. С другой стороны, также исчезало достоверно статистическое различие с контролем без физических нагрузок, что свидетельствует о частичном влиянии комбинации бемитил+левокарнитин на физическую работоспособность. Такое же действие оказывали средняя (СД) и большие дозы (БД) комбинации бемитил+левокарнитин. У рибоксина отсутствовало влияние на физическую работоспособность в тесте плавания (табл. 5).

В следующем опыте оценивали действие веществ на физическую работоспособность животных в тесте вращающегося стержня. Результаты опытов приведены в табл. 6.

Таблица 6

Влияние исследуемых веществ на время удержания мышей на вращающемся стержне после повторных физических нагрузок

№ группы и исследуемые вещества	Количество мышей в группе	Время (сек) удержания мышей на вращающемся стержне
1.Контроль	10	160,3±12,3
2.Контроль: физическая нагрузка	9	105,2±12,4*
3. Рибоксин	10	110,2±10,0
4.Бемитил+левокарнитин (МД)	10	160,6±12,9#
5.Бемитил+левокарнитин (СД)	10	119,4±14,35
6.Бемитил+левокарнитин (БД)	10	107,7±3,8

Приведены средние значения и стандартные ошибки средней ($M \pm m$) для группы из 9-10 мышей. * $P < 0,05$ по сравнению с контролем без физической нагрузки; # $p < 0,05$ по сравнению с контролем после

физической нагрузки (тест Бонферрони).

Как показали опыты, после повторных физических нагрузок (плавание в бассейне) у животных развивался синдром усталости, который проявлялся в сокращении времени удержания на вращающемся стержне. Дисперсионный анализ показал статистически достоверные различия: $F_{5,53}=5,212$; $p=0,0006$. Последующий межгрупповой статистический анализ с помощью теста Бонферрони выявил статистически достоверное ($P<0,05$) влияние физической нагрузки на время удержания животных на вращающемся стержне (табл. 6). Комбинация веществ бемитил+карнитин в малых дозах (МД) статистически достоверно ($p<0,05$) предотвращала синдром физической усталости, что проявлялось в увеличении времени удержания мышей на вращающемся стержне. Средние (СД) и большой дозы (БД) комбинации бемитил+левокарнитин не влияли на физическую работоспособность мышей после физических нагрузок. Также не было выявлено действия рибоксина.

Влияние исследуемых веществ на двигательную активность и уровень тревоги у мышей в тесте открытого поля после повторных физических нагрузок.

Данные по влиянию исследуемых веществ на поведение животных в тесте открытого поля представлены в табл. 7.

Таблица 7

Влияние исследуемых веществ на двигательную активность (число пересеченных секторов) и уровень тревоги (время в сек нахождения в центральных секторах) мышей после повторных физических нагрузок в тесте открытого поля

№ группы и исследуемые вещества	Количество мышей в группе	Количество пересеченных секторов	Время(сек) нахождения в центральных секторах
1.Контроль	10	123,8±11,9	11,0±1,7
2.Контроль: физическая нагрузка	9	140,8±15,3	8,4±1,0
3.Рибоксин	10	132,6±8,2	11,3±1,8
4.Бемитил+левокарнитин (МД)	10	135,7±10,8	12,9±3,9
5.Бемитил+левокарнитин (СД)	10	128,6±9,7	9,4±1,6
6.Бемитил+левокарнитин (БД)	10	107,7±3,8	10,2±2,1

Приведены средние значения и стандартные ошибки средней ($M\pm m$) для группы из 9-10 мышей.

Статистический анализ показал, что повторные физические нагрузки не влияют на двигательную активность (число пересеченных секторов) и уровень тревоги (время нахождения в центральных секторах) в тесте открытого поля. Также не было обнаружено статистически достоверного влияния веществ в тесте открытого поля (табл. 6).

Влияние исследуемых веществ на депрессивноподобное состояние мышей после повторных физических нагрузок в тесте подвешивания за хвост.

Результаты данного теста приведены в табл. 8.

Таблица 8

Влияние исследуемых веществ на депрессивноподобное состояние у мышей после повторной физической нагрузки. Оценку депрессивноподобного состояния определяли по времени (с) неподвижности при подвешивании за хвост

Исследуемые вещества	К-во мышей	Время (сек) неподвижности в тесте подвешивания за хвост
1. Контроль	10	157,0±11,7
2. Контроль: физическая нагрузка	9	142,0±5,0
3. Рибоксин	10	152,1±12,3
4. Бемитил+ левокарнитин (МД)	10	136,0±16,3
5. Бемитил+ левокарнитин (СД)	10	135,3±19,7
6. Бемитил+ левокарнитин (БД)	10	118,6±19,2

Приведены средние значения и стандартные ошибки средней на группу из 9-10 мышей.

Повторные физические нагрузки а также исследуемые вещества не влияли на время неподвижности мышей в тесте подвешивания хвоста (табл. 8).

Влияние повторных физических нагрузок и исследуемых веществ на эпизодическую память у мышей после повторных физических нагрузок.

Результаты изучения влияния повторных физических нагрузок (плавание в бассейне) и исследуе-

мых веществ на эпизодическую память у мышей представлены в табл. 9.

У животных контрольной группы без физической нагрузки наблюдалось выраженное предпочтение в исследовании нового объекта: индекс предпочтения в контрольной группе составлял $76,0 \pm 2,3\%$. Повторные физические нагрузки в контрольной группе существенно не влияли на эпизодическую память животных. Также не было обнаружено действия исследуемых веществ на эпизодическую память (табл. 9).

Таблица 9

Влияние исследуемых веществ на эпизодическую память мышей в тесте распознавания нового объекта после повторных физических нагрузок (плавание в бассейне)

№ группы и исследуемое вещество	Число животных	Индекс предпочтения нового объекта
1. Контроль	10	$76,0 \pm 2,3$
2. Контроль: физическая нагрузка	9	$71,9 \pm 3,2$
3. Рибоксин	10	$60,8 \pm 2,6$
4. Бемитил+ левокарнитин (МД)	10	$70,8 \pm 3,4$
5. Бемитил+ левокарнитин (СД)	10	$72,1 \pm 4,6$
6. Бемитил+ левокарнитин (БД)	10	$62,4 \pm 4,1$

Представлены средние значения индекса предпочтения нового объекта $\pm$ стандартные ошибки среднего значения ($M \pm m$) для группы из 9-10 животных.

Заключение.

Повторные физические нагрузки (плавание в бассейне два раза в день в течение 7 дней) вызывали у мышей синдром физической усталости, что проявлялось в увеличении продолжительности неподвижного состояния при плавании в бассейне во время последнего сеанса и в уменьшении времени удержания на вращающемся стержне. Комбинация исследуемых веществ бемитил+левокарнитин при повторном введении в малых дозах ($74,2 + 185,8$ мг/кг) устраняла физическую усталость в обоих тестах. Однако при повторном введении средних ($148,4 + 371,6$ мг/кг) и больших доз ($222,6 + 557,4$ мг/кг) комбинации бемитил+левокарнитин этот эффект проявлялся в гораздо меньшей степени или исчезал. Рибоксин в дозе $148,6$ мг/кг, вводимый 1 раз в день параллельно с физическими нагрузками в течение 7 дней, не влиял на работоспособность животных.

Повторные физические нагрузки не влияли на уровень спонтанной двигательной активности, уровень тревоги, эпизодическую память и не вызывали симптомов депрессивного состояния у мышей. Исследуемые комбинации веществ бемитил+левокарнитин и рибоксин также не влияли на эти параметры поведения мышей.

Влияние исследуемых веществ на динамику массы тела мышей при повторном стрессе.

Влияние исследуемых веществ на динамику массы тела при повторном переменном стрессе показано в табл. 10.

Таблица 10

Влияние исследуемых веществ на динамику массы тела животных при повторном стрессе

№ Группы	Масса тела (г) в 1-й день введения	Масса тела (г) на 7-й день введения	Динамика массы (г) тела животных
Контроль	$23,2 \pm 0,5$	$24,9 \pm 0,7$	$1,7 \pm 0,4$
Контроль (повторный стресс)	$23,0 \pm 0,5$	$23,9 \pm 0,5$	$0,9 \pm 0,3$
Рибоксин	$23,9 \pm 0,6$	$26,2 \pm 0,6$	$2,3 \pm 0,4\#$
Бемитил+левокарнитин (МД)	$23,4 \pm 0,5$	$25,1 \pm 0,5$	$1,7 \pm 0,3$
Бемитил+левокарнитин (СД)	$22,4 \pm 0,8$	$23,8 \pm 0,8$	$1,5 \pm 0,3$
Бемитил+левокарнитин (БД)	$22,8 \pm 0,6$	$23,6 \pm 0,5$	$0,8 \pm 0,3$

Приведены средние значения и стандартные ошибки средней ($M \pm m$) для группы из 9-10 мышей. $\#p < 0,05$ по сравнению со стрессированной группой мышей.

Повторный стресс вызывал тенденцию к снижению прироста массы тела мышей. Под влиянием рибоксина и комбинации веществ бемитил+левокарнитин в малой дозе прирост массы тела несколько ускорялся (фиг. 3). Следует отметить что, хотя данные дисперсионного анализа показали наличие статистически достоверного эффекта группы ($F_{5,54}=3,421$, $p < 0,01$), дальнейший анализ с помощью теста Бонферрони выявил статистически достоверную разницу в динамике массы тела мышей между стрессированными животными и животными, получавшими рибоксин (табл. 10, фиг. 3).

Влияние исследуемых веществ на физическую работоспособность мышей после повторных стрессорных нагрузок.

Физическую утомляемость мышей оценивали по времени неподвижности при плавании в бассейне и по времени удержания на вращающемся стержне. Результаты опытов представлены в табл. 11 и 12.

Таблица 11

Влияние исследуемых веществ на продолжительность (с) неподвижного состояния мышей при плавании в бассейне после повторного стресса

№ группы и исследуемые вещества	Количество мышей в группе	Время (сек) неподвижного состояния при плавании в бассейне
1. Контроль	10	97,4 $\pm$ 12,3
2. Контроль: стресс	10	190,0 $\pm$ 5,3***
3. Рибоксин	10	107,9 $\pm$ 12,3#
4. Бемитил+ левокарнитин (МД)	10	100,9 $\pm$ 8,2##
5. Бемитил+ левокарнитин (СД)	10	111,4 $\pm$ 10,9##
6. Бемитил+ левокарнитин (БД)	10	91,8 $\pm$ 7,9##

Приведены средние значения и стандартные ошибки средней ($M \pm m$) для группы из 10 мышей. *** $p < 0,001$ по сравнению с контролем без стресса; $\#p < 0,05$, ## $p < 0,01$ по сравнению со стрессированным контролем (тест Бонферрони).

Как показали опыты, повторный стресс вызывал у животных синдром усталости, который проявлялся в увеличении времени неподвижности во время плавания в бассейне. Дисперсионный анализ показал статистически достоверные различия: $F_{5,54}=16,15$; $p=0,0001$. Последующий статистический анализ с помощью теста Бонферрони выявил статистически достоверное ($p < 0,01$) влияние стресса на время неподвижности животных (табл. 11). Комбинация веществ бемитил+левокарнитин во всех дозах (МД, СД и БД) статистически достоверно ($p < 0,001$) уменьшала время неподвижности мышей при плавании в бассейне по сравнению с контрольной группой, которая подвергалась стрессу. Рибоксин также достоверно ($p < 0,05$) снижал время неподвижности мышей при плавании в бассейне (табл. 11).

Таблица 12

Влияние исследуемых веществ на время удержания мышей на вращающемся стержне после повторного стресса

№ группы и исследуемые вещества	Количество мышей в группе	Время (сек) удержания мышей на вращающемся стержне
1. Контроль	10	172,7 $\pm$ 27,7

2. Контроль: стресс	10	101,4±10,4*
3. Рибоксин	10	104,9±14,6
4. Бемитил+ левокарнитин (МД)	10	130,4±15,9
5. Бемитил+ левокарнитин (СД)	10	87,9±12,6*
6. Бемитил+ левокарнитин (БД)	10	95,7±11,0*

Приведены средние значения и стандартные ошибки средней ($M \pm m$) для группы из 10 мышей. * $P < 0,05$ по сравнению с контролем без стресса (тест Бонферрони).

Как показали опыты, после повторных стрессорных нагрузок у животных развивался синдром усталости, который проявлялся в сокращении времени удержания на вращающемся стержне. Дисперсионный анализ показал статистически достоверные различия: $F_{5,54}=3,665$; $p=0,0063$. Последующий статистический анализ различий между отдельными группами с помощью теста Бонферрони выявил статистически достоверное ($p < 0,05$) влияние стресса на время удержания животных на вращающемся стержне (табл. 12). Комбинация веществ бемитил+левокарнитин в малых дозах (МД) частично уменьшала физическую усталость, что проявлялось в увеличении времени удержания мышей на вращающемся стержне. При этом исчезало статистически значимое различие между контрольной группой без стресса и группой со стрессорной нагрузкой. Однако комбинация бемитил+левокарнитин в средних и больших дозах (СД и БД) не влияла на время удержания стрессированных животных на вращающемся стержне. Рибоксин не влиял на время удержания на вращающемся стержне у стрессированных животных.

Влияние исследуемых веществ на двигательную активность и уровень тревоги у мышей в тесте открытого поля после повторного стресса.

Данные по влиянию исследуемых веществ на поведение животных в тесте открытого поля представлены в табл. 13. Повторный вариабельный стресс достоверно ($p < 0,05$) увеличивал двигательную активность животных в открытом поле (табл. 13). Исследуемые вещества частично угнетали двигательную активность, однако данные не достигали уровня достоверности. Повторное стрессорное воздействие не влияло на время нахождения мышей в центральных секторах открытого поля (показатель тревоги) и также не отмечалось достоверного влияния исследуемых веществ на этот показатель. Данные дисперсионного анализа были следующими: $F_{5,54}=2,19$; $p=0,067$.

Таблица 13

Влияние исследуемых веществ на двигательную активность (число пересеченных секторов) и уровень тревоги (время в с нахождения в центральных секторах) после повторного стрессорного воздействия у мышей в тесте открытого поля

№ группы и исследуемые вещества	Количество мышей	Количество пересеченных секторов	Время (сек) нахождения в центральных секторах
1. Контроль	10	86,0±8,2	8,5±2,3
2. Контроль: физическая нагрузка	10	141,8±12,5*	15,3±2,3
3. Рибоксин	10	111,6±11,9	10,3±2,4
4. Бемитил+ левокарнитин (МД)	10	135,9±11,2	15,9±1,9
5. Бемитил+ левокарнитин (СД)	10	116,8±13,6	8,7±1,7
6. Бемитил+ левокарнитин (БД)	10	109,8±6,2	12,7±1,1

Приведены средние значения и стандартные ошибки средней ($M \pm m$) для группы из 10 мышей. * $P < 0,05$ по сравнению с контролем без стресса (тест Бонферрони).

Влияние исследуемых веществ на депрессивноподобное состояние мышей после повторного стрессорного воздействия в тесте подвешивания за хвост. Результаты опытов приведены в табл. 14.

Таблица 14

Влияние исследуемых веществ на депрессивноподобное состояние у мышей после повторного стресса. Оценку депрессивноподобного состояния определяли по времени (с) неподвижности при подвешивании за хвост

№ группы и исследуемые вещества	Количество мышей	Время (сек) неподвижности в тесте подвешивания за хвост
1. Контроль	10	91,5±2,6
2. Контроль: повторный стресс	10	169,9±7,1***
3. Рибоксин	10	128,5±8,3#
4. Бемитил+ левокарнитин (МД)	10	126,9±10, 3##
5. Бемитил+ левокарнитин (СД)	10	121,6±12,2##
6. Бемитил+ левокарнитин (БД)	10	107,7±4,3###

Приведены средние значения и стандартные ошибки средней ($M \pm m$) для группы из 10 мышей. *** $P < 0,001$ по сравнению с контролем без стресса; # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$, ### $p < 0,001$ по сравнению со стрессированным контролем (тест Бонферрони).

Данные дисперсионного анализа показали достоверное влияние группы: $F_{5,54}=10,48$; $p < 0,0001$. Анализ межгрупповых различий выявил достоверное ($p < 0,001$) влияние стресса на развитие депрессивноподобного состояния, которое проявлялось в увеличении времени неподвижности в тесте подвешивания за хвост. Исследуемая комбинация веществ во всех дозах достоверно уменьшала время неподвижности в тесте подвешивания за хвост (табл. 14). Рибоксин также уменьшал время неподвижности в этом тесте. Таким образом, можно сделать заключение, что исследуемые вещества ослабляют депрессивноподобное состояние у мышей, развивающееся в результате повторного стрессорного воздействия.

Влияние повторного стресса и исследуемых веществ на эпизодическую память у мышей.

Результаты изучения влияния повторного стресса и исследуемых веществ на эпизодическую память у мышей представлены в табл. 15.

У животных контрольной группы наблюдалось предпочтение в исследовании нового объекта: индекс предпочтения в контрольной группе составлял $67,7 \pm 4,4\%$. Повторное стрессорное воздействие в контрольной группе существенно не влияло на эпизодическую память животных. Также не было обнаружено действия исследуемых веществ на эпизодическую память (табл. 15).

Таблица 15

Влияние исследуемых веществ на эпизодическую память мышей в тесте распознавания нового объекта после повторного стрессорного воздействия

№ группы и исследуемые вещества	Количество животных	Индекс предпочтения нового объекта
1. Контроль	10	67,7±4,4
2. Контроль: стресс	10	71,5±2,7
3. Рибоксин	10	60,8±2,6
4. Бемитил+ левокарнитин (МД)	10	70,8±3,3
5. Бемитил+ левокарнитин (СД)	10	72,1±4,6
6. Бемитил+ левокарнитин (БД)	10	62,4±4,1

Представлены средние значения индекса предпочтения нового объекта $\pm$ стандартные ошибки среднего значения ($M \pm m$) для групп из 10 животных.

Заключение.

У мышей повторное стрессорное воздействие приводило к повышенной физической усталости у мышей, что проявлялось в незначительном уменьшении прироста массы тела, увеличении времени не-

подвижного состояния при плавании в бассейне и сокращении времени удержания на вращающемся стержне. Повторное стрессорное воздействие также приводило к развитию депрессивноподобного состояния, которое проявлялось в увеличении времени неподвижности в тесте подвешивания за хвост. Комбинация исследуемых веществ бемитил+левокарнитин при повторном введении в малых дозах (74,2+185,8 мг/кг) несколько увеличивала прирост массы тела во время стресса и статистически достоверно устраняла физическую усталость в обоих тестах плавания и вращающегося стержня. Повторное введение средних (148,4+371,6 мг/кг) и больших доз (222,6+557,4 мг/кг) комбинации бемитил+левокарнитин также уменьшали время неподвижности при плавании в бассейне, однако в тесте вращающегося стержня этот эффект проявлялся в гораздо меньшей степени или исчезал. Рибоксин в дозе 148,6 мг/кг, вводимый 1 раз в день в течение 7 дней, повышал физическую работоспособность животных при плавании в бассейне, но не влиял на способность мышей удерживаться на вращающемся стержне.

Комбинация бемитил+левокарнитин во всем диапазоне доз уменьшала депрессивноподобное состояние животных, вызванное повторным стрессом. Следует однако отметить, что этот эффект может быть связан с их улучшающим действием на физическую работоспособность. Скорее в спектре действия этих веществ преобладает их влияние на физическую работоспособность, а не их антидепрессивное действие.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция для лечения астении и/или синдрома хронической усталости, характеризующаяся тем, что в качестве активных компонентов содержит 2-этилтиобензимидазол гидробромид и/или его фармацевтически приемлемую соль и левокарнитин в терапевтически эффективных количествах.

2. Фармацевтическая композиция по п.1, отличающаяся тем, что в качестве целевых добавок содержит вещества, выбранные из группы сахаров, заменителей сахара, заменителей вкуса, дезинтегрирующих агентов, разрыхлителя, ароматизатора при следующих соотношениях, мас. %:

Этилтиобензимидазола гидробромид: 5,46-15,15.

Левокарнитин: 21,86-44,55.

Наполнитель, выбранный из группы сахаров: 9,09-42,62.

Наполнитель, выбранный из группы заменителей сахара: 9,09-16,39.

Наполнитель, выбранный из группы, маскирующей вкус: 2,42-6,56.

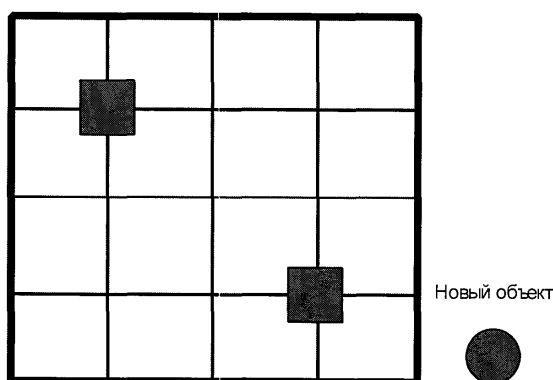
Наполнитель, выбранный из группы дезинтегрирующих компонентов: 1,21-4,37.

Наполнитель, выбранный из группы заменителей разрыхляющих агентов: 1,21-2,19.

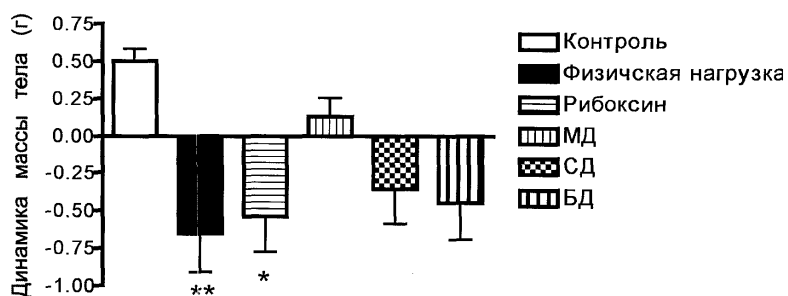
Наполнитель, выбранный из группы ароматизаторов: 0,30-0,55.

3. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что представлена в твердой лекарственной форме.

4. Композиция по п.3, отличающаяся тем, что твердая лекарственная форма представляет собой таблетку для рассасывания.

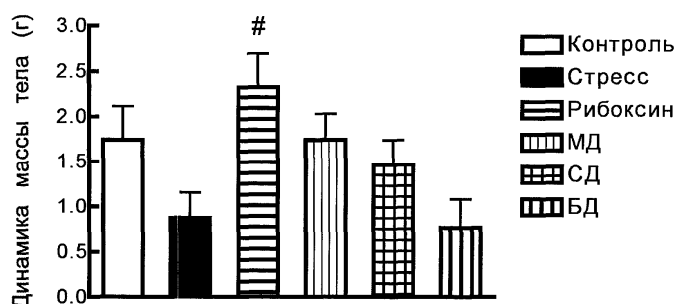


Фиг. 1



Влияние исследуемых веществ на динамику массы тела мышей при повторной физической нагрузке. Обозначения: МД - комбинация Бемитил+левокарнитин в малой дозе, СД - комбинация Бемитил+левокарнитин в средней дозе и БД - комбинация Бемитил+левокарнитин в большой дозе. * $p < 0,05$, ** $p < 0,001$ по сравнению с контролем (тест Бонферрони).

Фиг. 2



Влияние исследуемых веществ на динамику массы тела мышей при физической нагрузке. Обозначения: МД - комбинация Бемитил+левокарнитин в малой дозе, СД - комбинация Бемитил+левокарнитин в средней дозе, БД - комбинация Бемитил+левокарнитин в большой дозе. # $p < 0,05$ по сравнению со стрессированным контролем (тест Бонферрони).

Фиг. 3



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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