

На правах рукописи

ГЕРАЩЕНКО АНАСТАСИЯ ДМИТРИЕВНА

АКТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ КОРИЧНОЙ КИСЛОТЫ И
ФЛАВОНОИДОВ НА ФОНЕ ФИЗИЧЕСКИХ И ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫХ
ПЕРЕГРУЗОК ЖИВОТНЫХ

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук

Волгоград – 2019

Работа выполнена в Пятигорском медико-фармацевтическом институте – филиале федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации»

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор
Воронков Андрей Владиславович

Официальные оппоненты:

Шабанов Петр Дмитриевич - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии Федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Оковитый Сергей Владимирович - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В. В. Закусова».

Защита состоится «___» _____ 2019 г. в _____ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (www.volgmed.ru) ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации»

Автореферат разослан «___» _____ 2019 г.

Ученый секретарь

Диссертационного совета
Доктор биологических наук

Любовь Ивановна Бугаева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

На сегодняшний день проблема повышения резистентности организма, а также профессиональной работоспособности (физической, психической), в условиях экстремальных физических и психоэмоциональных нагрузок [Оганов Р.Г., 2007; Кулиненко О.Д., 2011; Шустов Е.Б., 2013], остается чрезвычайно актуальной. Постепенно фармакологические лекарственные средства стали обширно использоваться здоровым человеком для повышения устойчивости в тяжелых жизненных ситуациях и экстремальных условиях [Сапфинова В.А., 2005; Савилов Е.Д., 2011; Купко Е.Н., 2014; Boengler К.]. Особенно широкое распространение это получило в XX-XI веке, в связи с резким усложнением условий жизни человека. Помимо этого, очень часто действию дезадаптирующих факторов подвержены лица опасных профессий - ликвидаторы аварий ЧС, космонавты, летчики, водолазы, подводники и т.д. [Мусина С.В., 2008; Яковлев А.А., 2011; Купко Е.Н., 2014] а также профессиональные спортсмены.

Стоит отметить, что в современных реалиях спорт высоких достижений требует от высококвалифицированных атлетов, различных видов спорта, экстремальных затрат сил и энергии для достижения высоких спортивных результатов. Учитывая данный факт, организму приходится работать «до предела», что, в конечном итоге, отражается на его психо-физическом состоянии [Каркищенко Н.Н., 2014; Baron D.A., 2007]. При этом стоит отметить, что спортивные травмы, которые возникают, затрагивают не только костно-мышечный аппарат, но и нервную систему [Тулесонова А. С., 2010; Joynet M. J., 2015].

Все вышеизложенное создает необходимость поиска и внедрения дополнительных средств повышения устойчивости и сопротивляемости организма в экстремальных условиях, предупреждения перенапряжения и нервных срывов, ускорения восстановления и повышения работоспособности. Другими словами, встает вопрос целенаправленного поиска веществ, обладающих актопротекторным видом активности, с возможным их применением в различных направлениях медицины: экстремальной, спортивной, военной, авиационной, космической.

На сегодняшний день существует множество групп препаратов, обладающих полифункциональным механизмом действия и относящихся к различным фармакотерапевтическим группам: антигипоксанты, ноотропы, антиоксиданты, биогенные стимуляторы, адаптогены и т.д. [Студенцов Е. П., 2013; Солодков А. С., 2014]. Но особый интерес в последнее время представляет относительно новый фармакологический класс, получивший название «актопротекторы» [Лебедева С. А., 2010; Малахов В.А., 2011]. Однако данная фармакотерапевтическая группа изучена недостаточно и представлена ограниченным количеством лекарственных препаратов.

Учитывая вышеизложенное, целесообразным является поиск фармакологических средств с мультитаргетным механизмом действия, в частности, природного происхождения, преимуществом которых является: обширный спектр биологически активных веществ; низкая токсичность; присутствие нескольких видов фармакологической активности; быстрое нарастание фармакологического эффекта. [Morillas-Ruiz J.M., 2006; Henry B. L., 2007].

Степень разработанности проблемы

Согласно анализу литературных данных актопротекторы- это класс веществ, которые повышают физическую работоспособность в экстремальных условиях без увеличения потребления кислорода [Oliynyk S., 2012; Oliynyk S., 2013]. Идея создания данных препаратов возникла на кафедре фармакологии Военно-медицинской академии в 70-х годах [Лызиков, А. Н., 2011; Oliynyk S., 2013]. Под руководством профессора М. В. Виноградова был синтезирован и выпущен на фармацевтический рынок, где в дальнейшем широко стал использоваться во всех клинических областях, спорте - препарат «Бемитил». Стоит отметить, что на протяжении долгих лет изучением данного соединения занимался ряд отечественных ученых: И. С. Морозов [Morozov I. S., 2011], П. Д.

Шабанов [Торкунова О. В., 2014], С. В. Оковитый [Оковитый С.В., 2003]. Известно, что Бемитил относится к производным 2-этилтиобензимидазола. Было отмечено, что препарат, помимо повышения физической работоспособности, способен проявлять следующие виды фармакологической активности: антиоксидантную, антигипоксическую, транквилизирующую, антиастеническую и ноотропную [Шабанов П.Д., 2009]. В дальнейшем в результате больших изменений (распад СССР, ликвидация некоторых ЛП) произошло прекращение производства Бемитила. Несмотря на это, уже с 2009 года ЗАО «Антивирал» (г. Санкт-Петербург) стал выпускать препарат под названием «Метапрот» [Шабанов П.Д., 2009; Шустов Е. Б., 2013].

Особенность данного препарата заключается в том, что на фоне повышения физической работоспособности он обладает выраженным антиастеническим действием, тем самым ускоряя процессы восстановления после экстремальных воздействий [Шабанов П.Д., 2010]. Стоит сказать, что Метапрот относится к синтетическим препаратам и обладает рядом побочных эффектов [Шабанов П.Д., 2009]. Однако в настоящее время препарат лишен регистрации для применения в Российской Федерации.

Поэтому ввиду отсутствия истинных актопротекторов на фармацевтическом рынке, перспективным, на наш взгляд, будет направление поиска соединений, обладающих актопротекторным видом активности, преимущественно природного происхождения.

Цель исследования: экспериментально доказать наличие у производных коричной кислоты и флавоноидов актопротекторных свойств, и обосновать возможность применения данных соединений для фармакотерапии психо-физической утомляемости.

Для достижения поставленной цели были определены следующие **задачи:**

1. Провести фармакологический скрининг в ряду производных коричных кислот и флавоноидов, с целью установления потенциального актопротекторного эффекта, с последующей оценкой психоэмоционального статуса животных.
2. Изучить влияние соединения-лидера на следующие виды активности: антигипоксическую, антиоксидантную, ноотропную, анксиолитическую, эндотелиопротекторную на фоне перенесенных физических и психоэмоциональных перегрузок.
3. Изучить возможные механизмы актопротекторного действия природного соединения-лидера.

Научная новизна исследования

1. Впервые проведен поиск веществ для улучшения и коррекции умственной и физической работоспособности в ряду коричных кислот и флавоноидов в условиях, которые моделируют истощающие физические нагрузки.
2. Впервые на фоне физической нагрузки изучена совокупность следующих видов фармакологической активности: антигипоксической, антиоксидантной, ноотропной, анксиолитической, эндотелиопротекторной.
3. Впервые изучены некоторые механизмы актопротекторного действия соединения-лидера.

Научно-практическая ценность работы:

Результаты полученных исследований позволяют говорить об актопротекторной активности 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты и катехин гидрата, что, несомненно, делает их наиболее перспективными для дальнейшего изучения с целью создания средств, для повышения, поддержания или восстановления как умственной, так и физической работоспособности при истощающих физических нагрузках. (Военнослужащие, силовые подразделения, спортсмены, ликвидаторы ЧС, космонавты, летчики и т.д).

Результаты работы включены в лекционные курсы на кафедрах фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ - филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», на кафедре фармакологии Астраханского государственного медицинского университета и Северо-Осетинской государственной медицинской академии. Методики, а также результаты работы можно использовать для дальнейшего поиска соединений,

обладающих актопротекторным видом активности и расширить возможности целенаправленного синтеза данных соединений.

Положения, выносимые на защиту

1. На фоне истощающих физических нагрузок в ряду коричневых кислот и флавоноидов наиболее выраженной актопротекторной активностью обладают АТАСЛ и катехин гидрат;
2. В условиях истощающих физических нагрузок соединения АТАСЛ и катехин гидрат повышают физическую работоспособность животных в холодной воде без увеличения потребления кислорода;
3. Вещества АТАСЛ и катехин гидрат проявляют антигипоксическую, ноотропную, анксиолитическую, эндотелиопротекторную виды фармакологической активности, а также их введение на фоне истощающих физических нагрузок способствует повышению выносливости животных;
4. Механизм актопротекторного действия изучаемых веществ может быть опосредован с антиоксидантными свойствами АТАСЛ и катехин гидрата, а также регулированием процессов апоптоза, проявляющееся в снижении концентрации JNK, AIF, повышением уровня PPAR, и влиянием на изоформы NO.

Степень достоверности и апробация результатов

Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом экспериментального материала с использованием современных методов и методических подходов, соответствующих поставленным задачам. Сформулированные в диссертации выводы были подтверждены экспериментальным материалом, анализом литературы, точностью статистической обработки полученных результатов. Основные положения диссертационной работы докладывались, обсуждались и представлялись на следующих конференциях: «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» 15.11.16, V международной научно-практической конференции «Беликовские чтения», Пятигорск, 2016; г. Пятигорск; 75-ой открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» 11-12 мая, г. Пятигорск; III Международной научно-практической конференции «Актуальные аспекты экспериментальной и клинической фармакологии: от молекулы к лекарству», Пятигорск, 2017. XXV Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». Участие в XXXVI Международной научно-практической конференции «Вопросы современных научных исследований» 27.10.2018.

Публикации

По материалам диссертационной работы опубликовано 18 печатных работ, в том числе 6 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, и 2 статьи в журналах, индексируемых в Scopus.

Личный вклад автора

Соискатель принимал участие на всех этапах работы. Провел научно-патентный поиск необходимой литературы для написания работы как в отечественных источниках, так и в зарубежных. На основе имеющейся литературы были разработаны протоколы экспериментов и дизайн исследования. Автор также выполнил статистическую обработку результатов, описание и интерпретацию полученных результатов, сделал заключения и выводы. На основании имеющихся основных положений диссертационной работы подготовил публикации и доклады.

Объем и структура диссертации

Диссертация включает в себя: введение, обзор литературы, материалы и методы, 6 глав собственных исследований, обсуждения результатов, общие выводы, библиографический список, включающий 205 источников, из них - 129 зарубежных авторов. Диссертационная работа изложена на 172 страницах машинописного текста, содержит таблиц – 14, рисунков – 30.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В **главе 1**, в обзоре литературы, изложена значимая роль психо-физической дисфункции (утомляемости), представляющая существенную проблему. Освещены ключевые звенья механизма развития утомляемости, а также представлены группы препаратов, способствующих коррекции данного состояния.

В **главе 2** представлены материалы и методы, используемые для выполнения диссертационной работы.

Экспериментальное исследование было выполнено на 320 крысах-самцах линии Wistar массой 220-240 г. и 440 беспородных мышьях-самцах массой 20-23 г. Животные были получены и содержались в виварии ПМФИ-филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» МЗ РФ. Все экспериментальные животные, в процессе проведения эксперимента, содержались в стандартных условиях вивария с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (Strasbourg, 22 June, 1998).

Экспериментальное исследование условно разделялось на 4 исследовательских этапа.

Группы животных на каждом из этапов формировались рандомизацией по возрасту (половозрелые), весу (крысы-220-240 грамм, мыши-20-23 грамм) и продолжительности плавания.

1-й этап включал скрининг в ряду изучаемых соединений – потенциальных актопротекторов, который проводился посредством оценки влияния данных веществ на уровень физической работоспособности, оцениваемой в тесте «принудительное плавание с отягощением» в течение 10 дней [Porsolt R.D., 1978; Bogdanova O.V., 2013], а также по способности изучаемых объектов стабилизировать психоэмоциональный фон экспериментальных животных, после перенесенных истощающих нагрузок (оцениваемой в тестах «Открытое поле» [Полковникова Ю. А., 2011] и «Приподнятый крестообразный лабиринт» [Walf A. A., 2007; Sestakova N., 2013]).

Все исследуемые соединения на этапе фармакологического скрининга вводились интрагастрально в дозе 100 мг/кг. Изучаемые объекты: производные коричной кислоты (4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота, р-кумаровая, кофейная, сорбиновая, синаповая кислоты), а также флавоноиды (апигенин, гесперидин, гесперетин, флоридзин, икариин) были выделены на кафедре органической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ под руководством профессора, д.ф.н. Оганесяна Э.Т., за что выражаем ему и всем сотрудникам кафедры глубокую благодарность. Коммерческими субстанциями производства Sigma-Aldrich (Германия) являются катехин гидрат, морин гидрат и полифенолы зеленого чая (PGT).

В качестве препаратов сравнения на этапе фармакологического скрининга, а также на этапе углубленного изучения актопротекторного действия соединения-лидера выступали: Метапрот (ЗАО «Фармпроект», Россия) в дозировке 25 мг/кг [Шабанов П.Д., 2009]; Фенотропил (ОАО «Валента Фармацевтика», Россия) в дозировке 200 мг/кг [Фирстова Ю.Ю., 2011] (выбраны с учетом межвидового коэффициента пересчета); Гипоксен (ОЛИФЕН Корпорация, Россия) в дозировке 150 мг/кг [Стратиенко Е.Н., 2009]; Мексидол (ФАРМАСОФТ НПК, Россия) дозировка 100 мг/кг [Воронина Т.А., 2017]; Сулодексид (Alfa Wasserman, Италия) в дозе 30 ЕВЛ/кг [Воронков А.В., 2016].

На **2-ом этапе** оценивали зависимость «доза-эффект» соединений-лидеров, а также проводили углубленное изучение работоспособности (принудительное плавание в различных аверсивных средах) и выносливости в тестах «Бег на тредбане» [Иванов Д.Г., 2017], «Челночное плавание» без отягощения [Шустов Е. Б., 2013] и психоэмоционального статуса животных (Тест «Темно-светлая камера» [Crawley, J., 1980]) на фоне применения соединений-лидеров. В дальнейшем осуществляли оценку биохимических показателей животных. Определение *лактата*, *пирувата*, *миоглобина* осуществляли в сыворотке крови, а *АТФ* в гомогенате мышц методом высокочувствительного твердофазного иммуноферментного анализа на микропланшетном ридере Tecan Infinite F50 (Австрия). С помощью лабораторного респирометра АКПИМ1-01Л (Альфа Бассенс,

Россия) производили оценку потребления кислорода эритроцитами и митохондриями поперечно-полосатых мышц.

3-й этап направлен на комплексное изучение актопротекторных свойств соединения-лидера.

Оценку *противогипоксической активности* проводили на следующих видах гипоксии: гемической, гистотоксической, гипобарической, гиперкапнической, циркуляторной [Бородкина Л.Е., 2007; Лебедева С.А., 2009; Катунина Н. П., 2011; Дробленков А. В., 2013].

Ноотропную активность (когнитивно-мнестические функции) оценивали в тестах «Водный лабиринт Морриса» [Хоцкий Н.В., 2015], «УРПИ» [Новоселецкая А.В., 2015], «ТЭИ» [Якимова Н.Л., 2013].

В тесте «Конфликтная ситуация по Вогелю (Vogel)» [Kirlic N., 2017] и тесте «Четырех пластин» [Cryan J.F., 2011] оценивался противотревожный компонент (*анксиолитическая активность*) исследуемых соединений.

В каждой группе животных оценивали *вазодилатирующую функцию* эндотелия сосудов по изменению скорости мозгового кровотока в ответ на введение эндотелий-специфичных анализаторов: ацетилхолин (АЦХ) 0,1 мг/кг (Sigma-Aldrich, Германия), L-аргинин 150 мг/кг (Panreac, Испания), нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) 15 мг/кг (Sigma-Aldrich, Германия). Эндотелий-независимую вазодилатацию оценивали по реакции сосудов на введение нитроглицерина (НТГ, Биомед, Россия) 0,007 мг/кг.

По изменению агрегационной активности тромбоцитов оценивали *антитромботическую функцию* эндотелия сосудов. Анализ активности тромбоцитов производили на анализаторе агрегации тромбоцитов «АЛАТ-2» (НПФ «БИОЛА», Россия), методом определения относительного среднего размера агрегатов [Габбасов З.А. с соавт., 1989]. Индуктором агрегации служил АДФ-5 мкМ. (производства НПО «РЕНАМ»).

4-й этап направлен на выяснение потенциальных механизмов актопротекторного действия соединения-лидера.

Оценивая потенциально возможные механизмы реализации актопротекторного действия соединения-лидера, нами было изучено его влияние на активность антиоксидантных ферментов: каталазы [Королюк М.А., 1988], супероксиддисмутазы (СОД) [Чумаков В.Н., 1977] глутатионпероксидазы (ГП) [Pierce S., 1978] в супернатанте скелетной мышцы; концентрации перекисных продуктов: диеновых конъюгатов (ДК), и ТБК-активных продуктов (в пересчете на малоновый диальдегид (МДА)) [Стальная И.Д., 1977] в гомогенате скелетной мышцы. По торможению образования нитрозил-радикала (в реакции с реактивом Грисса) и супероксид-радикала [Winterbourn C.C., 1975] проводили оценку антирадикальной активности соединений.

Учитывая значительный вклад NO-синтазной системы в реализацию актопротекторных свойств фармакологически активных веществ нами было оценено влияние соединения-лидера на концентрацию изоферментов синтазы оксида азота (*eNOS, iNOS, nNOS*), а также концентрацию *AIF, PPAR* и *JNK*. Описанные выше показатели определяли путем ИФА метода (реактивы производства Cloud Clone Corp. (США). Считывание результатов производили на микропланшетном ридере Infinite F50 (Tecan, Австрия).

Полученные экспериментальные данные статистически обрабатывали с использованием программного обеспечения STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., США для операционной системы Windows) и Microsoft Excel 2010. Вычисляли среднее значение и его стандартную ошибку ($M \pm m$). Полученные результаты проверяли на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. Для оценки средних значений при нормальном распределении использовали t-критерий Стьюдента. В противном случае, при ненормальном распределении использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни. Метод множественного сравнения использовался при углубленном изучении соединения-лидера: параметрический критерий – Ньюмана-Кейлса, непараметрический – Крускала-Уоллиса

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Глава 3. Влияние исследуемых соединений на физическую работоспособность и психоэмоциональный статус экспериментальных животных (фармакологический скрининг). В ходе проведения данного блока исследований установлено, что в условиях истощающих нагрузок у животных без фармакологической поддержки уровень физической работоспособности практически линейно уменьшается от первого к десятому дню плавания с нагрузкой с пиком продолжительности плавания на 4-й день эксперимента. При этом истощающие нагрузки, смоделированные в тесте «принудительного плавания с отягощением», способствовали ухудшению психоэмоционального статуса экспериментальных животных, о чем свидетельствуют данные, полученные в тесте «Открытое поле».

В ряду исследуемых веществ наиболее выраженное влияние на уровень физической работоспособности оказало применение соединения АТАСЛ, на фоне введения которого максимальная продолжительность плавания мышей превосходила аналогичное значение группы животных, лишенных фармакологической поддержки. При этом пиковый уровень физической активности у мышей, получавших АТАСЛ, был выше, чем у животных, которым вводили референтный препарат Метапрот на 54,6% ($p < 0,05$). Кроме того, применение соединения АТАСЛ способствовало стабилизации психоэмоционального фона экспериментальных животных в условиях истощающих нагрузок, о чем свидетельствует снижение уровня тревожности и повышение локомоторной и исследовательской активности мышей в тесте «Открытое поле» и «ПКЛ».

Наряду с соединением АТАСЛ значительный интерес вызывает катехин гидрат. На фоне истощающих физических нагрузок наблюдалось увеличение ориентировочно-исследовательской и локомоторной активности мышей и снижение тревожности животных, что находит свое подтверждение в тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт».

Глава 4. Изучение влияния веществ 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты и катехин гидрата на работоспособность и психоэмоциональный статус животных. На основе проведенного скрининга веществ были определены потенциальные вещества-лидеры, которые и включены в дальнейшее изучение. Впоследствии изучение зависимости «доза-эффект» для соединений-лидеров проводилось в 2-х вариантах дозирования - 100 мг/кг и 200 мг/кг. Было установлено, что наиболее выраженное влияние на физическую активность и психоэмоциональный статус экспериментальных животных в условиях истощающих нагрузок оказало применение соединений в дозе 100 мг/кг. Таким образом, в совокупности полученных результатов для проведения дальнейших исследований были выбраны дозы соединений-лидеров: АТАСЛ- 100 мг/кг, катехин гидрат -100 мг/кг.

В дальнейшем нами была проведена оценка физической работоспособности животных в условиях истощающих физических нагрузок в различной аверсивной среде с последующей фиксацией кислорода кровью и работающими мышцами. Было установлено, что в группе животных негативного контроля, у которой в качестве аверсивной среды служила холодная вода, пик работоспособности приходился на 5-й день и составлял $169,7 \pm 24,8$ сек., в то время как в горячей воде пик физической работоспособности был зафиксирован на 4-й экспериментальный день и составил $281,5 \pm 31,7$ сек. Кислородная емкость крови животных на фоне истощающих физических нагрузок, как в холодной, так и в горячей воде, существенных изменений во всех экспериментальных группах не претерпевала. Стоит отметить, что изменения потребления кислорода митохондриями поперечно-полосатых мышц, в сравнении с группой ПК, как в холодной, так и в горячей воде, в группе, получавшая референтный препарат Метапрот, а также в группах, получавших исследуемые соединения-лидеры, отмечено не было.

Углубленная оценка работоспособности и выносливости воспроизводилась в тестах «Бег на тредбане», «Челночное плавание» без отягощения, а психоэмоциональный статус в тесте «Темно-светлая камера». На фоне применения 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты наблюдалось

линейное увеличение работоспособности мышей без резких скачков и падений, что превышает работоспособность мышей группы негативного контроля на всем протяжении дней эксперимента.

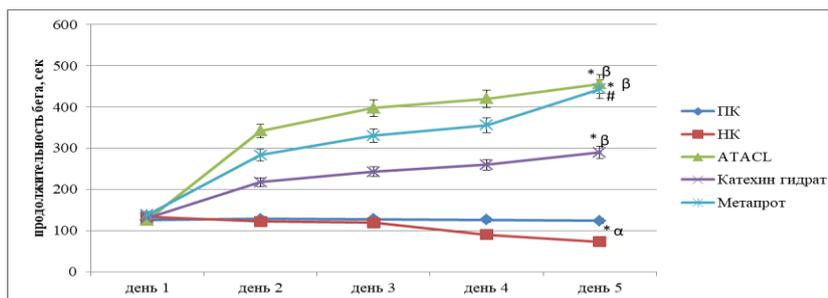


Рисунок 1 - Изменение времени бега мышей-самцов на фоне применения соединений-лидеров и препарата сравнения на модели «бег на тредбане»

Обозначение: *- достоверно относительно исходного показателя данной группы (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); β - достоверно относительно группы НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); #- достоверно относительно группы, получавшая катехин гидрат (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); α - достоверно относительно конечного дня группы ПК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Применение катехин гидрата на протяжении 5-ти дней также способствовало повышению выносливости животных. Работоспособность мышей при этом была выше исходного значения данной группы на 122,3% ($p < 0,05$), а также выше на 297,9% ($p < 0,05$) в сравнении с группой НК (5-й день эксперимента) (рис.1).

В тесте «Челночного плавания» без отягощения применение 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты (АТАСЛ), привело к повышению скоростно-силовых характеристик и выносливости лабораторных животных, относительно группы животных негативного контроля. Коэффициент усталости у данной группы был ниже в 2,1 раза ($p < 0,05$), относительно группы мышей НК (рис. 2).

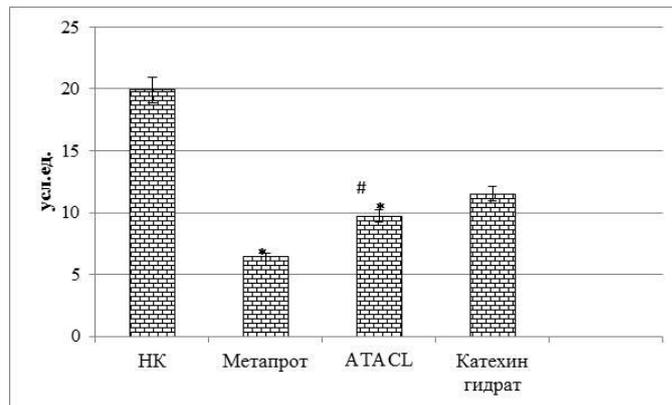
Таблица 1

Изменение показателей теста «челночное плавание» без отягощения на фоне применения соединений-лидеров

Группа	S, м	t, сек	V, м/сек
НК	17,8±7,2	197,2±6,02	0,089±0,033
Метапрот	74,0±3,7*	469,7±8,2*	0,158±0,006
АТАСЛ	61,7±8,2**	553,3±20,53*	0,115±0,019
Катехин гидрат	32,2±2,3*#	362,7±12,3*#	0,0888±0,005#

Примечание: *- достоверно относительно группы НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); ** - достоверно относительно группы НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,02$); #- достоверно относительно группы, получавшая Метапрот (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

У мышей, получавших катехин гидрат, в сравнении с животными негативного контроля наблюдается увеличение скоростно-силовых характеристик, что выражается в достоверном повышении времени плавания на 83,9% ($p < 0,05$) и преодоленного расстояния: 80,1% ($p < 0,05$).



Обозначение: *- достоверно относительно группы НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); # - достоверно относительно группы, получавшая Метапрот (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Рисунок 2 - Вариабельность развития утомляемости мышей в тесте «Челночное плавание» без отягощения.

На фоне применения АТАСЛ в тесте «Темно-светлая камера» происходит снижение тревожности животных и повышение ориентировочно-исследовательской активности, что нашло свое отражение в увеличении времени пребывания в светлом отсеке на 1024,6% ($p < 0,05$), и снижении времени пребывания в темном отсеке камеры на 85,2% ($p < 0,05$), а также в увеличении перемещений и стоек в 3 ($p < 0,05$) и 7,8 раза ($p < 0,05$) соответственно, относительно группы животных НК.

Таблица 2

Изменение поведенческой активности на фоне применения исследуемых соединений и препарата сравнения в тесте «Темно-светлая камера»

Группа	Время в темном отсеке, сек	Время в светлом отсеке, сек	Число перемещений	Число стоек
ПК	28,6±1,8	151,4±2,1	12,7±0,8	21,6±1,1
НК	167,6±7,1	13,8±1,5	3,4±0,7	2,6±0,4
АТАСЛ	24,8±2,9*	155,2±5,9*	10,3±1,7*	20,3±1,2*
Катехин гидрат	32,5±2,6*	147,5±6,5*	8,6±1,1*	15,6±1,0*
Метапрот	11,7±0,8*	168,3±3,9*	13,7±2,0*	19,4±1,5*

Примечание:* - достоверно относительно группы НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$), μ - достоверно относительно группы ПК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

У мышей, получавших катехин гидрат, достоверно увеличилось время нахождения животного в светлой части камеры, число перемещений и стоек соответственно - в 10,7 ($p < 0,05$), в 2,5 ($p < 0,05$) и 6 раз ($p < 0,05$) соответственно, относительно группы НК, при этом снижалось время в темном отсеке на 80,1% ($p < 0,05$).

В представленной ниже таблице отмечено, что истощающие физические нагрузки в группе мышей негативного контроля приводят к повышению уровня лактата, пирувата и увеличению лактат-пируватного коэффициента, относительно группы положительного контроля.

Таблица 3

Биохимические показатели животных после перенесенных физических нагрузок

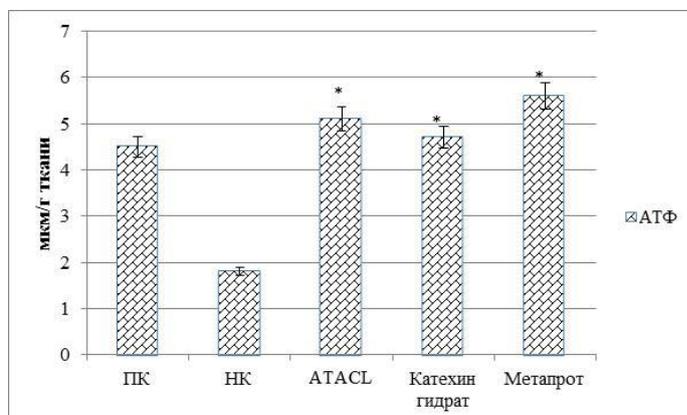
животных

Показатели	Исследуемые группы				
	ПК	НК	АТАСЛ	Катехин гидрат	Метапрот
Лактат, ммоль/мл	2,6±0,29	12,5±0,45*#	5,5±0,38*#	5,8±0,38*#	3,4±0,48#△μ
Пируват, ммоль/мл	0,25±0,018	0,048±0,0029*	0,38±0,026#	0,34±0,018#	0,26±0,02#
Лактат/пируват	11,7±1,24	288,9±22,2*	14,7±1,13#	17,4±1,49#	13,1±2,06#
Миоглобин, нг/мл	19,6±0,95	38,6±0,97*	18,4±0,83μ	24,2±1,02	18,7±0,44#μ

*Примечание:** - достоверно относительно группы положительного контроля ПК, t-критерий Стьюдента, $p < 0,001$); #- достоверно относительно группы животных НК, t-критерий Стьюдента $p < 0,05$); △- достоверно относительно группы, получавшая АТАСЛ, t-критерий Стьюдента $p < 0,002$); μ- достоверно относительно группы, получавшая катехин гидрат, t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Тогда как, исследуемые соединения АТАСЛ и катехин гидрат в равной степени положительно влияют на уровень молочной кислоты, пирувата и лактат - пируватного коэффициента. Статистически значимых отличий в показателях пировиноградной кислоты и лактат-пируватного коэффициента между группой, получавшей препарат сравнения Метапрот, и исследуемые соединения, установлено не было.

При этом данные соединения так же оказывали положительное влияние на уровень АТФ в скелетной мышце, увеличивая ее содержание (рис.3).

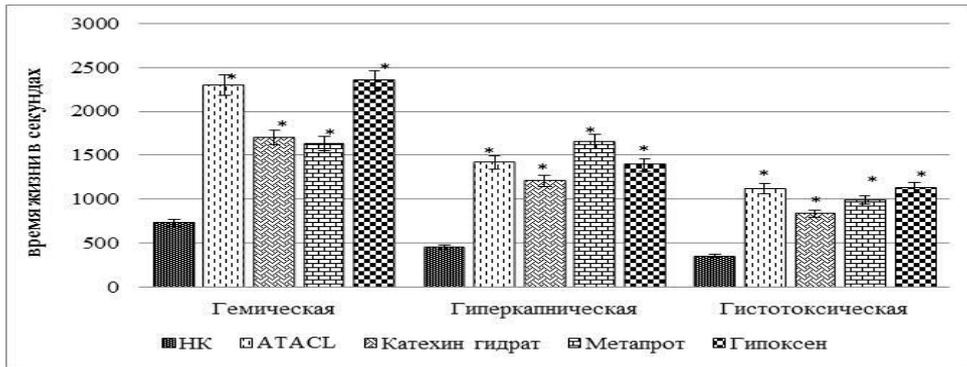


Обозначение: *- достоверно относительно группы животных НК (t-критерий Стьюдента $p < 0,05$);

Рисунок 3 - Изменение уровня АТФ в мышцах животных на фоне применения исследуемых соединений-лидеров и препарата сравнения после перенесенных физических нагрузок.

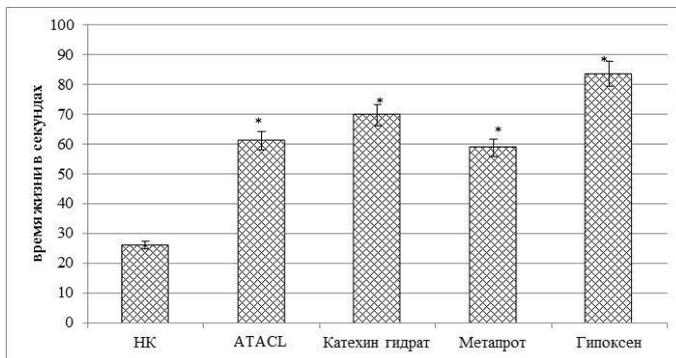
В главе 5 «Изучение актопротекторной активности 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты и катехин гидрата на фоне истощающих физических нагрузок» приведены данные, отражающие углубленное изучение соединений-лидеров по следующим видам фармакологической активности: антигипоксической, ноотропной, анксиолитической, эндотелиопротекторной.

Наиболее выраженный противогипоксический эффект отмечен при применении АТАСЛ. На фоне данного соединения увеличивается время жизни экспериментальных животных (рис.4, 5).



Обозначение: *- достоверно относительно НК группы животных (U-критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

Рисунок 4 - Влияние изучаемых объектов на продолжительность жизни экспериментальных животных при моделировании гипоксии различного генеза.

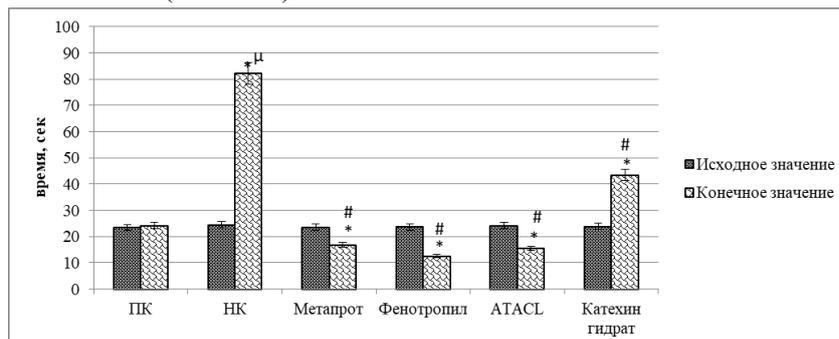


Обозначение: *- достоверно относительно НК группы животных (U-критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$).

Рисунок 5 - Влияние изучаемых объектов на продолжительность жизни экспериментальных животных в условиях гипобарической гипоксии.

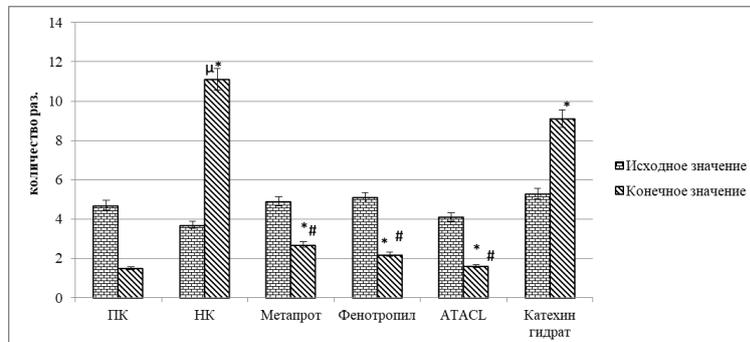
Исходя из полученных данных, препараты сравнения и исследуемые соединения по величине антигипоксического действия можно расположить в следующий ряд активности: Гипоксен > Метапрот = ATACL > катехин гидрат.

Наиболее отчетливое сохранение памятного следа и мнестических функций наблюдается в группе животных, получавших ATACL. Что находит свое отражение в снижении времени, затрачиваемого на поиск возвышающейся платформы в тесте «ВЛМ» (рис.6), достоверному сокращению латентного периода решения ТЭИ, снижению числа прыжков в цилиндре на 61,1% ($p < 0,05$) относительно данных до истощающей физической нагрузки, и увеличение латентного времени захода в темный отсек («УРПИ»).



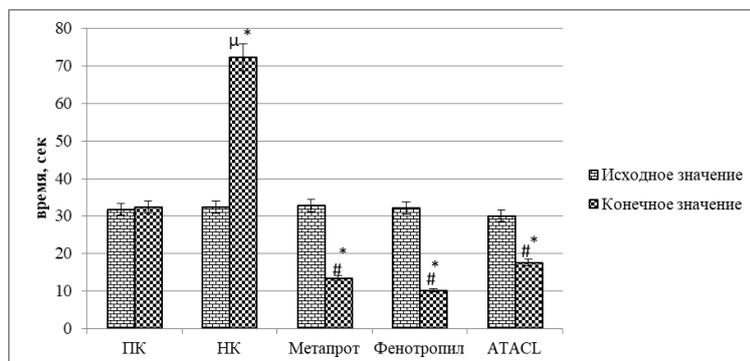
Обозначение: *- достоверно относительно исходного времени данной группы крыс (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); #- достоверно относительно конечного значения группы НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); μ -достоверно относительно конечного значения группы ПК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Рисунок 6 - Влияние исследуемых соединений и препаратов сравнения на время достижения площадки в тесте «ВЛМ».



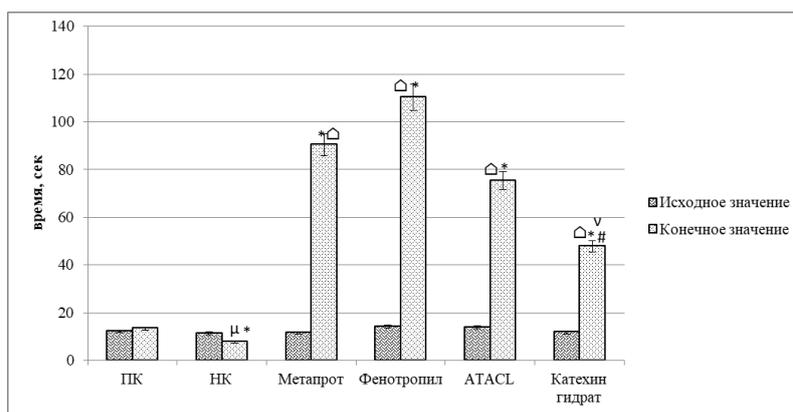
Обозначение: * - достоверно относительно исходного значения времени данной группы крыс (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); #- достоверно относительно конечного значения группы НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); μ -достоверно относительно конечного значения группы ПК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Рисунок 7 - Изменение поведенческих реакций крыс в тесте «ТЭИ» на фоне интенсивных физических перегрузок.



Обозначение: * - достоверно относительно исходного значения времени данной группы крыс (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); #- достоверно относительно конечного значения группы крыс НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); μ -достоверно относительно конечного значения группы ПК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Рисунок 8 - Оценка изменения латентного периода подныривания крыс в «ТЭИ» на фоне истощающих физических перегрузок.

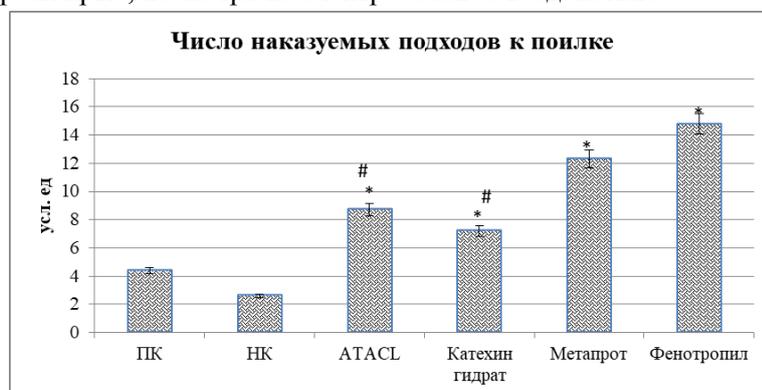


Обозначение: * - достоверно относительно исходного значения данной группы крыс (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); △- достоверно относительно конечного значения группы крыс НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); γ- достоверно конечного значения времени группы крыс, получавшая Метапрот (t-критерий Стьюдента, $p < 0,02$); #- достоверно относительно конечного значения времени группы крыс, получавшая Фенотропила (t-критерий Стьюдента, $p < 0,001$); μ-достоверно относительно конечного значения группы ПК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Рисунок 9 - Оценка изменения латентного периода крыс в темном отсеке в тесте «УРПИ» на фоне истощающих физических перегрузок.

По совокупности проведенных ноотропных тестов данное природное соединение не уступало по активности представленным препаратам сравнения.

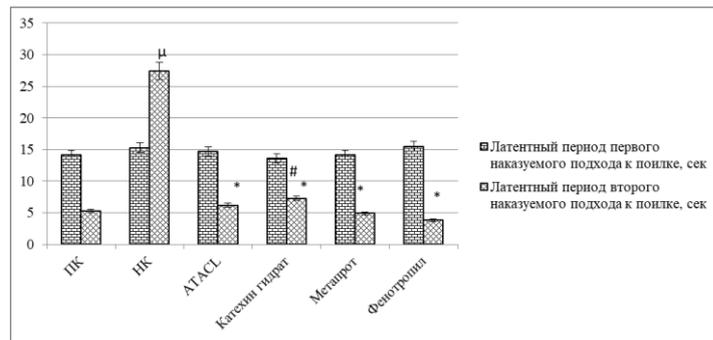
В тестах «Конфликтная ситуация» и «Четырех пластин» 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислота приводит к снижению чувства страха и беспокойства, что отражается в увеличении количества попыток утолить жажду в 3,3 раза ($p < 0,05$), относительно группы негативного контроля крыс, несмотря на электрошоковое воздействие.



Обозначение: *- достоверно относительно группы НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); #- достоверно относительно группы, получавшей Фенотропил (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Рисунок 10 - Изменение числа подходов к поилке под влиянием исследуемых соединений и препаратов сравнения под воздействием электрошокового раздражителя.

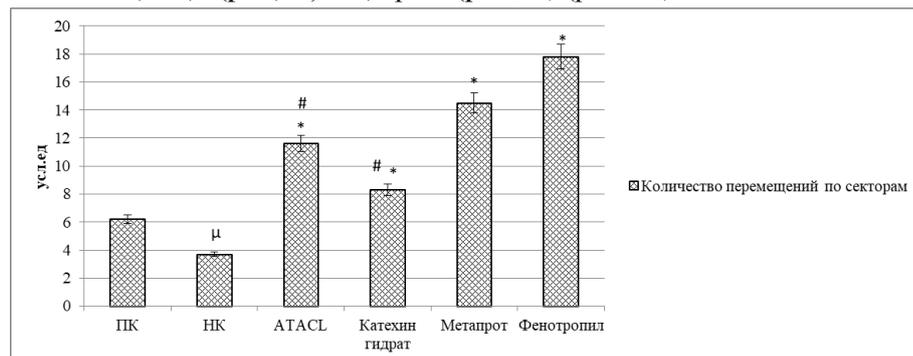
Применение катехин гидрата также способствовало снижению уровня тревожности грызунов. О чем свидетельствует как значительное потребление жидкости у депривированных животных, так и уменьшение второго латентного времени подхода к поилке (рис. 11).



Обозначение: * - достоверно относительно группы НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); μ - достоверно относительно группы ПК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); # - достоверно относительно группы, получавшей Фенотропил (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Рисунок 11 - Изменение латентного периода подхода к поилке под влиянием исследуемых соединений и препаратов сравнения под воздействием электрошокового раздражителя.

При применении исследуемых соединений АТАСЛ и катехин гидрата в тесте «Четырех пластин» происходит достоверное увеличение количества перемещений животного по секторам, относительно животных НК, в 3,1 ($p < 0,05$) и 2,2 раза ($p < 0,05$) (рис. 12).



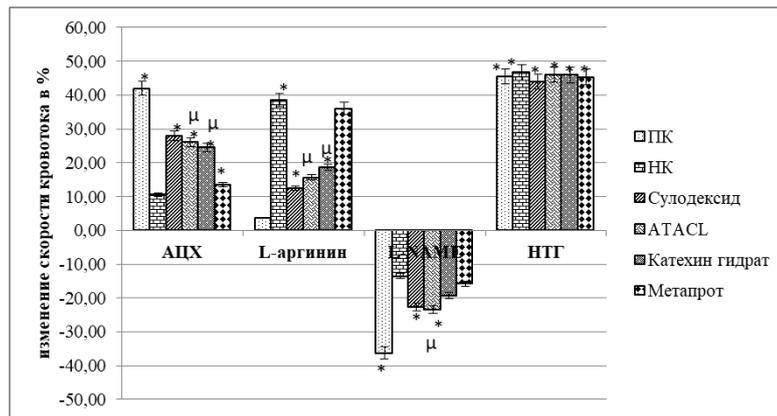
Обозначение: * - достоверно относительно группы НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); μ - достоверно относительно группы ПК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); # - достоверно относительно группы, получавшей Фенотропил (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Рисунок 12 - Изменение количества перемещений по секторам под влиянием исследуемых соединений и препаратов сравнения под воздействием электрошокового раздражителя.

Таким образом, по величине анксиолитического действия исследуемые соединения и препараты сравнения можно расположить в следующий ряд: Фенотропил = Метопролол ≤ АТАСЛ < катехин гидрат.

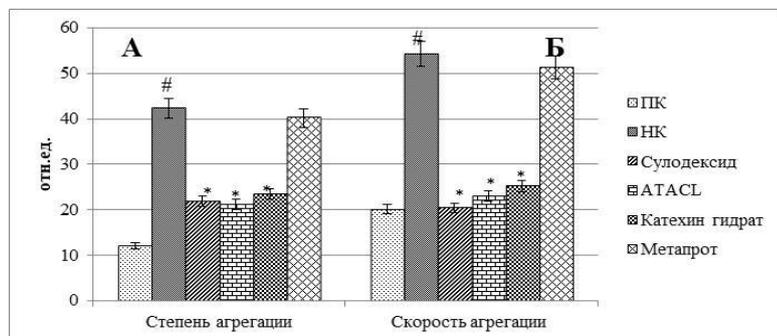
При оценке изменений сосудистого эндотелия было установлено, что вазодилатирующая функция сосудов наиболее значимо изменилась при применении соединения АТАСЛ. На фоне применения данного соединения (АТАСЛ) реакция сосудов в ответ на введение АЦХ и L-NAME была выше аналогичных показателей животных, лишенных фармакологической поддержки на 147,2% ($p < 0,05$) и 74,2% ($p < 0,05$) соответственно, а при введении L-аргинина сосудистый ответ у крыс, получавших соединение АТАСЛ, был ниже такового у НК группы животных на 59,4% ($p < 0,05$). При этом статистически значимых отличий между группами животных, которым вводили Сулодексид и соединение АТАСЛ, установлено не было.

Стоит отметить, что агрегационная активность тромбоцитов изменялась практически в равной степени как при введении АТАСЛ, так и при введении катехин гидрата.



Обозначение: * - достоверно относительно исходной скорости кровотока (критерий Крускала-Уоллиса, $p < 0,05$); μ -достоверно относительно группы животных, получавших Метапрот (критерий Крускала-Уоллиса, $p < 0,05$);

Рисунок 13 - Влияние изучаемых объектов на изменение вазодилатирующей функции эндотелия сосудов крыс в условиях длительных истощающих физических нагрузок.



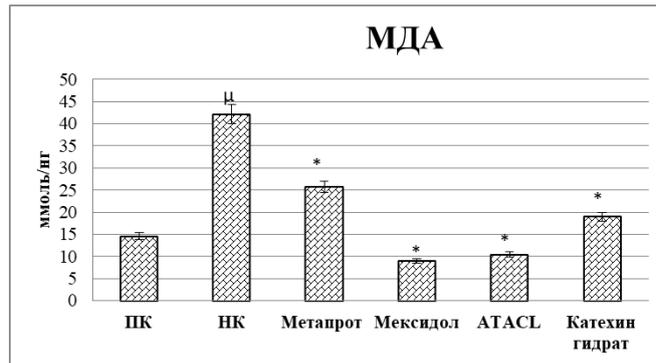
Обозначение: #- достоверно относительно группы животных ПК (U-критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$); *- достоверно относительно НК группы животных (U-критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$);

Рисунок 14 - Влияние изучаемых объектов на изменение агрегационной активности тромбоцитов в условиях длительных истощающих физических нагрузок.

По величине эндотелиопротекторного действия исследуемые объекты можно расположить в следующем порядке: Сулодексид = АТАСЛ > катехин гидрат > Метапрот.

По совокупности полученных данных можно отметить, что отобранные на этапе скрининга соединения обладают противогипоксической, ноотропной, анксиолитической и эндотелиопротекторной видами активности.

Глава 6. Оценка потенциальных механизмов актопротекторного действия 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты и катехин гидрата. В ходе проведения данного блока исследований установлено, что соединения АТАСЛ и катехин гидрат в условиях истощающих физических нагрузок способствовали сохранению активности ферментов эндогенной антиоксидантной защиты, снижению интенсивности ПОЛ, что выражалось в повышении активности каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и снижении образования диеновых конъюгатов и малонового диальдегида относительно группы животных негативного контроля.



Обозначение: μ- достоверно относительно группы крыс ПК (U-критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$); *- достоверно относительно группы крыс НК (U-критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$);

Рисунок 15 - Влияние исследуемых соединений и препаратов сравнения на содержание ТБК-активных продуктов в мышечной ткани крыс на фоне физических и психоэмоциональных перегрузок.

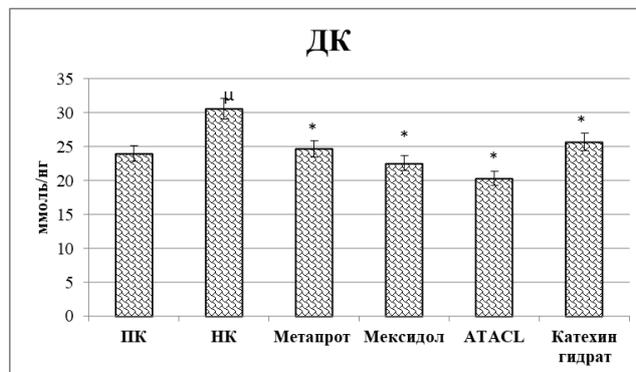
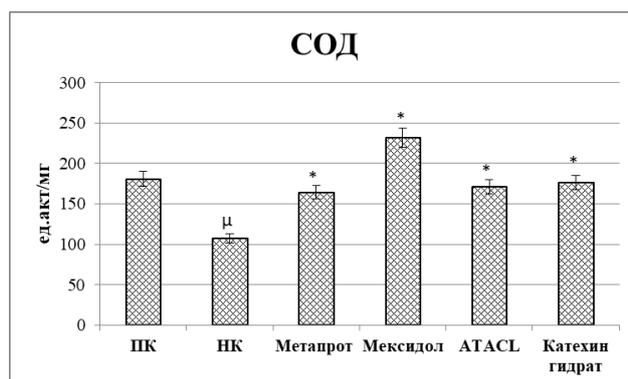
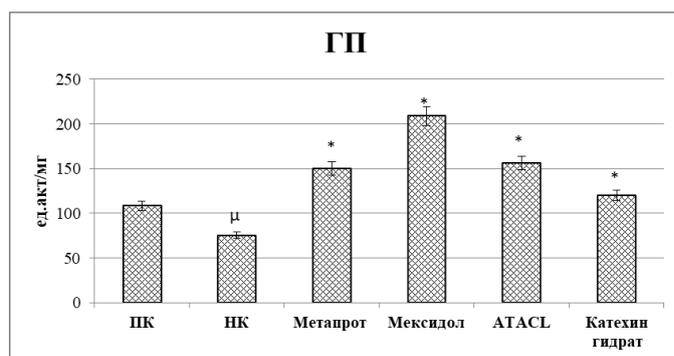


Рисунок 16 - Влияние исследуемых соединений и препаратов сравнения на содержание ДК в мышечной ткани крыс на фоне физических и психоэмоциональных перегрузок.



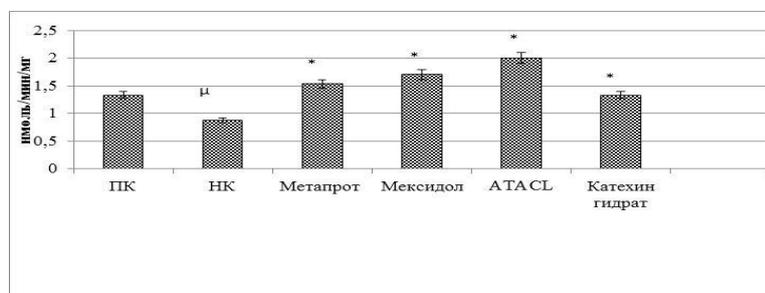
Обозначение: μ- достоверно относительно группы крыс ПК (U-критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$); *- достоверно относительно группы крыс НК (U-критерий Манна-Уитни $p < 0,05$);

Рисунок 17 - Влияние исследуемых соединений и препаратов сравнения на содержание СОД в мышечной ткани крыс на фоне физических и психоэмоциональных перегрузок.



Обозначение: μ - достоверно относительно группы крыс ПК (U-критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$); *- достоверно относительно группы крыс НК (U-критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$);

Рисунок 18 - Влияние исследуемых соединений и препаратов сравнения на содержание ДК в мышечной ткани крыс на фоне физических и психоэмоциональных перегрузок.



Обозначение: μ - достоверно относительно группы крыс ПК (U-критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$); *- достоверно относительно группы крыс НК (U-критерий Манна-Уитни, $p < 0,05$);

Рисунок 19 - Влияние исследуемых соединений и препаратов сравнения на активность каталазы в мышечной ткани крыс на фоне физических и психоэмоциональных перегрузок.

Кроме того, следует отметить, что исследуемые соединения 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота и катехин гидрат терминировали генерацию свободных радикалов (NO^* и O^{2-*}), проявляя тем самым антирадикальные свойства.

На фоне применения соединений АТАСЛ и катехин гидрата отмечено снижение концентрации iNOS и повышение eNOS (табл.4) в сравнении с группой негативного контроля. Статистически значимых изменений между группами, получавшими исследуемые соединения, и группой, получавшей Метапрот, установлено не было.

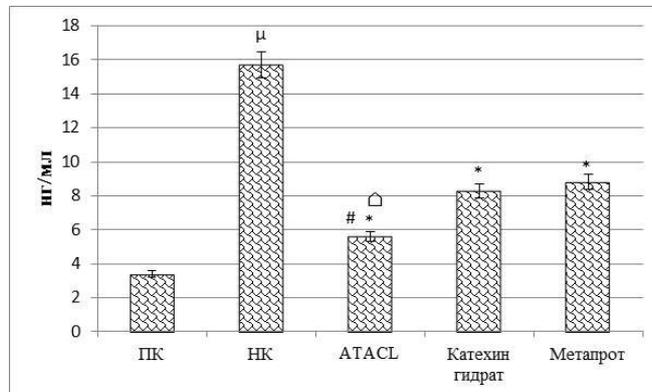
Таблица 4

Влияние исследуемых соединений-лидеров на концентрацию изоферментов NO-синтазной системы

Группа	ПК	НК	АТАСЛ	Катехин гидрат	Метапрот
nNOS, нг/мл	20,3±1,05	17,3±1,05	18,2±1,22	19,5±0,56	18,5±0,67
iNOS, нг/мл	11,7±1,23	28,5±1,6*	13,3±1,28#	15,3±1,33*	25,2±1,54
eNOS, пг/мл	81,2±2,32	38,3±1,58*	74,7±2,87#	54,3±1,87#	42,3±2,4

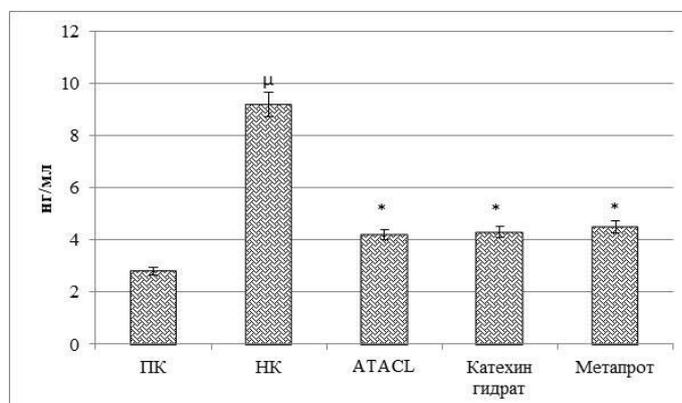
Примечание: *- статистически значимо относительно группы животных ПК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); #- статистически значимо относительно группы животных НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Существенно и то, что на фоне применения всех исследуемых соединений, по сравнению с группой животных НК отмечается снижение концентрации АИГ, JNK и повышение концентрации PPAR. При этом данные соединения не уступали препарату сравнения Метапрот.



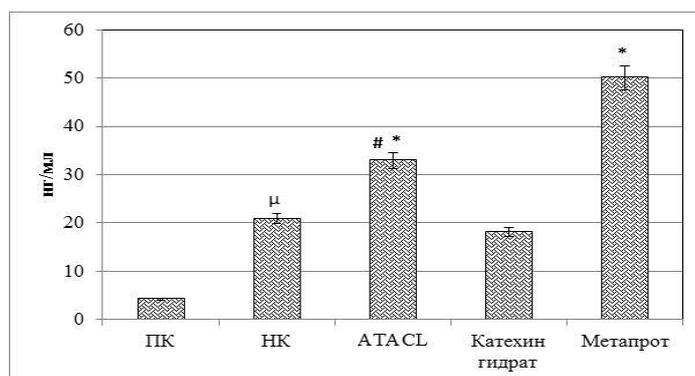
Обозначение: μ- достоверно относительно группы животных ПК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); *- достоверно относительно группы животных НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); #- достоверно относительно группы, получавшая Метапрот (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); Δ- достоверно относительно группы, получавшая катехин гидрат (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Рисунок 20 - Изучение влияния соединений-лидеров и препарата сравнения на концентрацию JNK в супернатанте скелетной мышцы животных



Обозначение: μ- достоверно относительно группы животных ПК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); *- достоверно относительно группы животных НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Рисунок 21 - Изучение влияния соединений-лидеров и препарата сравнения на концентрацию АИГ в супернатанте скелетной мышцы животных.



Обозначение: μ- достоверно относительно группы животных ПК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); *- достоверно относительно группы животных НК (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$); #- достоверно относительно группы, получавшая Метапрот (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$);

Рисунок 22 - Изучение влияния соединений-лидеров и препарата сравнения на концентрацию PPAR в супернатанте скелетной мышцы животных.

Заключение

Проведенное исследование показало, что в ряду производных коричных кислот и флавоноидов наиболее выраженным актопротекторным действием обладают 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота и катехин гидрат, которые по своему эффекту не уступали соответствующим препаратам сравнения по ранее представленным видам активности. При этом одним из ключевых механизмов актопротекторного действия 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричной кислоты и катехин гидрата могут лежать прямые и не прямые антиоксидантные свойства данных соединений. Таким образом, вышеизложенные результаты позволяют рекомендовать исследуемые соединения для проведения исследований (клинических и доклинических), с целью создания на их основе средства для терапии психо-физической дезадаптации.

Общие выводы

1. Установлено, что из представителей флавоноидов и коричных кислот (из 13 соединений) наиболее выраженный эффект и влияние на работоспособность и психоэмоциональный фон животных оказывают соединения 4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота и катехин гидрат.
2. Оценка дозозависимого влияния соединений-лидеров показала, что наиболее выраженный актопротекторный эффект отмечен в дозировке 100 мг/кг.
3. Наиболее значительные изменения в функциях скелетной мускулатуры отмечены в условиях принудительного плавания животных с температурным режимом воды 15°C. На фоне исследуемых соединений - лидеров наблюдалось повышение физической работоспособности животных в холодной воде уже с первого дня введения соединений. При этом максимальная продолжительность плавания мышцей в холодной воде, в группе, получавшая АТАСЛ, была выше на 50,8% ($p < 0,05$) относительно группы, получавшая Метапрот, а максимальная работоспособность мышцей в группе, получавшая катехин гидрат, была сопоставима с пиковым днем группы, получавшая препарат сравнения Метапрот.
4. В условиях истощающих физических нагрузок у групп животных, получавших АТАСЛ и катехин гидрат, не наблюдалось повышения потребления кислорода относительно группы положительного контроля.
5. На фоне применения АТАСЛ и катехин гидрата наблюдались изменения в выносливости животных, которая в тесте «Бег на тредбане» была выше относительно группы негативного контроля, на 527% ($p < 0,05$) в группе, получавшая АТАСЛ, и на 297,9% ($p < 0,05$) в группе,

получавшая катехин гидрат. При этом эффект от применения АТАСЛ сопоставим с эффектом референтного препарата Метапрот.

6. Введение АТАСЛ и катехин гидрата на фоне истощающих физических нагрузок способствовало увеличению времени жизни животных в условиях гипоксии различного генеза. Применение соединения АТАСЛ способствовало увеличению времени жизни экспериментальных животных, по сравнению с НК группой мышей в условиях гемической гипоксии в 3,1 раза ($p < 0,05$), гиперкапнической гипоксии – в 3,1 раза ($p < 0,05$), гистотоксической и гипобарической гипоксии – 3,2 раза ($p < 0,05$) и 2,3 раза ($p < 0,05$) соответственно. Кроме того, процент летальности у животных, получавших соединение АТАСЛ, при воспроизведении циркуляторной гипоксии, составлял 40%. При применении катехин гидрата продолжительность жизни животных в условиях гемической, гиперкапнической, гистотоксической и гипобарической гипоксии превышало показатели группы НК в 2,3 раза ($p < 0,05$), 2,7 раза, 2,5 раза ($p < 0,05$) и 2,7 раза соответственно. При этом уровень летальности данной группы животных при воспроизведении циркуляторной гипоксии составлял 66,7%.

7. На фоне применения АТАСЛ и катехин гидрата отчетливо сохранялся памятный след и мнестические функции животных, что проявляется в снижении латентного времени достижения животными площадки в тесте «ВЛМ» на 35,3% ($p < 0,05$) (относительно исходного времени) (группа, получавшая АТАСЛ). Снижение тревожности животных нашло свое отражение в увеличении количества попыток утоления жажды при воздействии электроболевого раздражителя в 3,3 раза ($p < 0,05$) (АТАСЛ) и 2,8 раз ($p < 0,05$) (катехин гидрат). В совокупности воспроизводимых тестов эффект от применения АТАСЛ и катехин гидрата был сопоставим с эффектом от применения препаратов сравнения.

8. Соединения АТАСЛ и катехин гидрат оказывают влияние на вазодилатирующую и антитромботическую функцию эндотелия сосудов, что подтверждается улучшением эндотелиальной вазодилатации, менее выраженным феноменом «L-аргининового парадокса» в отличие от группы НК, а также восстановлением антитромбогенного потенциала. Статистически значимых отличий между группой животных, получавших Сулодексид и группой животных, получавших соединения АТАСЛ и катехин гидрат по показателю «скорость кровотока», установлено не было.

9. Механизм реализации актопротекторного действия обусловлен антиоксидантными свойствами АТАСЛ и катехин гидрата, а также повышением концентрации эндотелиальной синтазы (на 95% ($p < 0,05$) (АТАСЛ) и на 41,8% ($p < 0,05$) (катехин гидрат), снижением индуцибельной - в группе, получавшей АТАСЛ на 53,3% ($p < 0,05$) и группе, получавшей катехин гидрат на 46,3% ($p < 0,05$), относительно группы крыс негативного контроля. Кроме того, указанные выше соединения корректируют концентрацию ферментов апоптоза (JNK, AIF). При этом активность JNK, в группе животных, получавших АТАСЛ была ниже на 36,4% ($p < 0,05$) в сравнении с группой крыс, получавших препарат сравнения Метапрот. Статистически значимых отличий между группой животных, получавших исследуемые вещества, и группой животных, получавших референтный препарат Метапрот, по показателю «концентрация PPAR» установлено не было.

Научно-практические рекомендации

1. Результаты собственных исследований и литературные данные позволяют рекомендовать поиск и разработку среди флавоноидов и коричных кислот соединений с актопротекторным видом активности.

2. Полученные данные о выраженной актопротекторной активности соединений 4-гидрокси-3,5-ди-третбутилкоричной кислоты и катехин гидрата свидетельствуют о целесообразности разработки на их основе нового лекарственного средства для коррекции психо-физической утомляемости, развивающейся на фоне длительных истощающих нагрузок.

3. Результаты настоящего исследования об актопротекторной активности соединений 4-гидрокси-3,5-ди-третбутилкоричной кислоты и катехин гидрата целесообразно включить в

программу преподавания общей и клинической фармакологии в медицинских и фармацевтических вузах.

**Список опубликованных работ по теме диссертации
Работы, опубликованные в изданиях, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ**

1. Бжихатлова М.А., Андреева, О.А., Оганесян, Э.Т., Воронков, А.В., **Герашенко, А.Д.** Фенольные соединения листьев кампсиса укореняющегося // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №. 2-2. – С. 488-488.
2. Воронков А.В., Оганесян Э.Т., **Герашенко А.Д.** Аспекты актопротекторной активности некоторых природных соединений различной химической структуры // Спортивная медицина: наука и практика. – 2017. – Т. 7. – №. 1. – С. 92-96.
3. Воронков, А.В., Ефремова, М.П., **Герашенко, А.Д.**, Воронкова, М. П. Влияние новых перспективных актопротекторов на развитие когнитивного дефицита у крыс на фоне истощающих физических нагрузок // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2018. – №. 2 (66).
4. Воронков А.В., Поздняков Д.И., **Герашенко А.Д.**, Рыбалко А. Е и др. Влияние флавоноидов морина и икариина на вазомоторную функцию сосудистого эндотелия на фоне ишемии головного мозга // Успехи современной науки и образования. – 2016. – Т. 3. – №. 9. – С. 200-202.
5. Воронков А.В., **Герашенко А.Д.**, Воронкова М. П. Психофизическая утомляемость и пути ее фармакологической коррекции // Астраханский медицинский журнал.-2019.- №1.- С.8-17.
6. Воронков А.В., **Герашенко А.Д.**, Воронкова М.П. Изучение вазодилатирующей и антитромботической функции комбинации соединений (atacl+катехин гидрат) на фоне истощающих физических нагрузок крыс // Дневник Казанской медицинской школы.-2019.-№1.-С.7-10.

Работы, опубликованные в журналах, индексируемых в базе данных Scopus

7. Воронков А.В., **Герашенко А.Д.** Влияние экстракта тыквы на уровень выносливости и некоторые биохимические показатели крови мышей на фоне физической нагрузки // Медицинский вестник Северного Кавказа.-2019.-Т.14.- №1.2. - С. 270-272.
8. Воронков А.В., **Герашенко А.Д.**, Поздняков Д.И., Хусаинов Д.В. Влияние различной аверсивной среды на потребление кислорода в мышцах и крови у мышей в условиях теста «принудительного плавания». // Фармация и фармакология.-2019.-Т.7.-№3 - С. 148-157.

Работы, опубликованные в других изданиях

9. **Герашенко А.Д.** Влияние извлечения из кампсиса укореняющегося (campsis radicans) на некоторые виды гипоксии. Экспериментальная и клиническая фармакология. -2018.-Т. 81. №S. - С. 54.
10. **Герашенко А.Д.**, Поздняков Д. И. Природные полифенольные соединения в фармакологической коррекции экстремальных состояний // Фармация и фармакология. – 2015. – Т. 3. – №S1. Приложение 1.
11. **Герашенко А.Д.** Оценка степени влияния VMA-10-18 на уровень работоспособности мышей в условиях длительных истощающих физических нагрузок. В сборнике: Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины Материалы 74-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием. Под редакцией В.И. Петрова. -2016. -С. 613-614.
12. **Герашенко А.Д.**, Воронков А.В. Изучение антигипоксической активности нового синтетического производного VMA-10-18 // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины. – 2017. – С. 797-798.
13. **Герашенко А.Д.**, Погорелова В.В. Изучение ноотропной активности производного хиназолина на фоне физических нагрузок крыс. В книге: Актуальные аспекты экспериментальной и клинической фармакологии: от молекулы к лекарству Материалы III международной научно-практической конференции. - 2017. -С. 24-25.
14. Воронков, А.В., Абаев, В.Т., Оганесян, Э.Т., Поздняков, Д.И., **Герашенко, А.Д.** Оценка степени влияния комбинации производного коричной кислоты и соединения полифенольной структуры на физическую работоспособность и психоэмоциональное состояние животных в условиях

длительных истощающих нагрузок // Научный результат. Серия «Медицина и фармация». – 2017. – Т. 3. – №. 1 (11).

15. **Геращенко А.Д.**, Воронков А.В., Нигарян С.А. Изучение влияния катехин гидрата на модели гистотоксической гипоксии у мышей. В книге: XXV Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». Сборник материалов XXV Российского национального конгресса «Человек и лекарство». Тезисы докладов. Сер. "Библиотека Российского национального конгресса «Человек и лекарство» Главный редактор Чучалин А. Г.-2018. -С. 63-64.

16. **Gerashchenko A.D.**, Voronkov A.V The study of the compound atacl effect on vasodilatory function of rats under conditions of exhausting physical activities. В книге: Объединенный международный конгресс «Congress on Open Issues in Thrombosis and Hemostasis» совместно с 9-ой Всероссийской конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии The Book Of Abstracts. 2018. С. 80-81.

17. **Геращенко А.Д.** Изучение анксиолитической активности комбинации (atacl+катехин гидрат) на фоне истощающих физических нагрузок крыс. Вестник современных исследований.-2018.- №10.7 (25).-С. 149-152.

18. **Геращенко А.Д.**, Воронков А.В. Влияние природной комбинации АК-17 на антигипоксическую активность, а также на некоторые биохимические показатели на фоне истощающих физических нагрузок мышей. В сборнике: Материалы 71-й Международной научно-практической конференции «Во имя жизни и здоровья», г. Пятигорск, 2018 год.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

НК - негативный контроль	ПОЛ - перекисное окисление липидов
СОД - супероксиддисмутаза	Vax-bcl2-ассоциированный х-белок
ДК - диеновые конъюгаты	МДА - малоновый диальдегид
PGT- полифенолы зеленого чая	iNOS -индуцибельная синтаза оксида азота
NO - монооксид азота	ГАМК-гамма-аминомасляная кислота
TNF α -фактор некроза опухоли	VWF-Фактор фон Виллебранда
АДФ - аденозиндифосфат	АТФ - аденозинтрифосфат
Ск - скорость мозгового кровотока	НТГ - нитроглицерин
АОЗ - антиоксидантная защита	ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота
eNOS - эндотелиальная синтаза оксида азота	АЦХ ацетилхолин
pNOS - нейрональная синтаза оксида азота	ГП - глутатионпероксидаза
АТАСL- 4-гидрокси-3,5-ди трет- бутилкоричная кислота	ЕВЛ-единицы высвобождения липопротеидлипазы
L-NAME-нитро-L-аргинин	НАДФН-никотинамидаденин
метиловый эфир	динуклеотидфосфат восстановленный
ПК - положительный контроль	PUMA p53-регулируемый модулятор апоптоза
МАРК - митоген-активированная протеинкиназа	PPAR-рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами
MMP 9-матриксная металлопротеиназа-9	AIF-апоптоз-индуцирующий фактор
TNF-рецептор-фактора некроза опухоли	Nf-kB- ядерный фактор kB
JNK- c-Jun N-концевая киназа	FOXO1- транскрипционный фактор
ADMA-ассиметрический диметиларгинин	АФК-активные формы кислорода
Akt-фермент сигнального пути (киназа)	UCP-1-разобщающий белок типа 1
GM-CSF-гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор	

АКТОПРОТЕКТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ КОРИЧНОЙ КИСЛОТЫ
И ФЛАВОНОИДОВ НА ФОНЕ ФИЗИЧЕСКИХ И ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫХ
ПЕРЕГРУЗОК ЖИВОТНЫХ

ГЕРАЩЕНКО АНАСТАСИЯ ДМИТРИЕВНА

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание учёной степени

кандидата фармацевтических наук