

Н. І. Волощук¹, А. С. Редер², М. Я. Головенко³,
І. В. Таран¹, О. С. Пашинська¹

Фармакологічний аналіз нейрохімічних антиноцицептивних механізмів дії пропоксазепаму

¹Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова
Міністерства охорони здоров'я України

²Товариство з додатковою відповідальністю «ІНТЕРХІМ», м. Одеса

³Фізико-хімічний інститут імені О. В. Богатського Національної академії наук України,
м. Одеса

Ключові слова: пропоксазепам,
аналгезуюча дія, нейрохімічні,
рецепторні механізми

Створення інноваційних знеболюючих засобів, в яких присутні центральні компоненти гальмування больового синдрому (особливо нейропатичного), є одним з важливих напрямів сучасної фармакології. У Фізико-хімічному інституті НАН України синтезовано низку 3-заміщених 1,4-бензодіазепінів і досліджена залежність «структура – активність». На відміну від більшості препаратів цього класу, яким притаманна анксиолітична, снодійна, міорелаксуюча та протисудомна дії, зазначені речовини на моделях ноцицептивного та нейропатичного болю проявили значну аналгезуючу активність. Одна з них, що отримала назву пропоксазепам – 7-бром-5 (о- хлорфеніл) -3-пропокси-1,2-дигідро-3Н-1,4-бензодіазепін-2-он, розглядається як перспективний лікарський засіб і проходить необхідні доклінічні випробування [1–3]. Подібно до габапентину та прегабаліну, відомих препаратів, що використовуються в медичній практиці при лікуванні нейропатичного болю [4], пропоксазепам також має й протисудомну дію, що до якоїсь міри пояснює знеболюючий компонент у його фармакологічному спектрі.

Мета дослідження – визначити можливі механізми аналгезуючої дії пропоксазепаму з використанням як фармакологічних аналізаторів медіаторів болю й запалення та нейромедіаторів.

Матеріали та методи. Експериментальні тварини. Дослідження проведено на 230 білих щурах-самцях лінії Вістар, отриманих з ПП «Біомодельсервіс» (м. Київ), масою 220–250 г. Піддослідних тварин утримували в умовах віварію Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (ВНМУ), де вони знаходились на карантині протягом 10 днів. За один день до початку експериментів тварин переносили до приміщення наукової лабораторії кафедри фармакології ВНМУ для адаптації. Під час експериментів тварин утримували в стандартних умовах з 12-год світло-тіньовим режимом та доступом до води та їжі *ad libitum* згідно з передбаченими нормами. Досліди виконували однієї пори року (весною), розпочинали в першій половині дня. Рандомізацію тварин виконували методом кольорових міток. Тварин утримували відповідно до міжнародних та національних біоетичних рекомендацій (Директива Європейського Союзу 2010/10/63 EU про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети).

Хімічні реактиви. В експериментах використовували фармакологічні аналізатори (речовини, що впливають на різні нейрохімічні механізми ноцицептивної перцепції): налоксон, празозин, клонідин, йохімбін, ізопротеренол, пропранолол, брадикінін, зимозан, карагенін (Sigma, USA), налбуфін (амп. по 1 мл, 20 мг/мл), аміназин (25 мг/мл

по 2 мл в амп.), дофамін (Дарниця, 40 мг/мл, амп. по 5 мл), мепантин (субстанція, ТДВ «ІНТЕРХІМ»), магнію сульфат (ТДВ «ІНТЕРХІМ»), фенілефрин (ТОВ «Дослідний завод «ГНЦЛЗ»). Пропоксазепам синтезовано в ТДВ «ІНТЕРХІМ» за методом, описаним раніше [5]. Сполуку вводили внутрішньошлунково у вигляді суспензії на Твін-80 та дистильованій воді в дозі 1,83 мг/кг, що відповідає її ЕД₅₀ за аналгетичною активністю.

Для встановлення можливого впливу пропоксазепаму на різні медіатори болю та запалення оцінювали ступінь зменшення механічної гіпералгезії, викликані брадикініном (0,01 % водний розчин), зимозаном (2 % суспензія) та карагеніном (1 % водний розчин), які вводили субплантарно в праву задню кінцівку щура по 0,1 мл на тварину. Контрольні тварини перорально отримували еквіоб'ємні кількості розчинників (твін + дистильована вода).

Ступінь ноцицепції визначали за допомогою долориметра (Dolorimeter Baseline, USA) шляхом оцінки порога больової чутливості (ПБЧ) – мінімальний тиск на нижню поверхню стопи щура (г/мм²), який викликав больову реакцію у тварини (вокалізацію та/або відсмикування лапки). Порівнювали ПБЧ на правій (ушкодженій кінцівці) до початку дослідження (вихідне значення), а також через 1,0 хв; 0,5 та 3,0 год після введення брадикініну, зимозану та карагеніну відповідно. Досліджувану сполуку вводили за 2,0; 1,5 та 1,0 год до введення брадикініну, зимозану та карагеніну відповідно [6].

Поглиблене вивчення механізмів реалізації аналгезуючої дії пропоксазепаму проводили на моделі tail-flick [7]. Антиноцицептивну активність оцінювали за термічного подразнення хвоста щура за допомогою сфокусованого променя світла за допомогою аналгезиметра. Оцінювали латентний час відсмикування хвоста від джерела променя, виражений в секундах. Тварини були рандомізовані відносно вихідного значення латентного періоду, у дослід увійшли щури, в яких цей показник становив від 4 до 12 с. Виразність антиноцицептивного ефекту оцінювали за

збільшенням тривалості латентного періоду (ЛП). При підвищенні ЛП понад 25 с подальше дослідження припиняли для попередження термічного опіку тварини.

Фармакологічні аналізатори вводили перед введенням пропоксазепаму, внутрішньоочеревинно – за 0,5 год, а внутрішньошлунково – за 1,0 год. Вимірювання ЛП проводили перед введенням сполук, а також через 2 год після введення пропоксазепаму, що відповідає його максимальній аналгезуючій активності, отриманій на інтактних щурах.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою комп'ютерних програм методами варіаційної статистики в програмі Statistica 8.0 з використанням непараметричних методів аналізу [8].

Результати та їх обговорення. Відомо, що багато лікарських засобів, у тому числі й аналгетики, взаємодіють більш ніж з однією терапевтичною мішенню, що призводить до одночасних змін низки біохімічних сигналів. Механізми аналгезії забезпечуються наступними системами мозку: 1) серотонінергічною та норадренергічною системами, що мають гальмівну дію на рівні стовбура мозку; 2) ГАМК-ергічною системою на рівні субкортикальних і кортикальних структур головного мозку; 3) опіоїдергічною системою, яка утворена нейронами в задніх рогах спинного мозку, що містять опіоїдні пептиди (бета-ендорфін, мет-енкефаліни, лей-енкефаліни, динорфін). Тому в наших дослідженнях вивчали широкий спектр можливих терапевтичних мішеней, за допомогою яких пропоксазепам може реалізувати свою аналгетичну дію.

Антиноцицептивна активність пропоксазепаму на різних моделях гіпералгезії. Патолофізіологічним механізмом розвитку больового синдрому є подразнення ноцицепторів з подальшою сенситизацією (підвищеною чутливістю) їх до дії пошкоджуючих стимулів [9]. Однією з причин розвитку сенситизації ноцицепторів є утворення в осередку ушкодження медіаторів запалення, таких як брадикінін, метаболіти арахідонової кислоти (проста-

гландини, лейкотрієни), біогенні аміни, пурини та ін. Ці сполуки взаємодіють з відповідними рецепторами на терміналях ноцицептивних аферентів, підвищують їхню чутливість до механічних і термічних подразників [10]. Зимозан сприяє утворенню та вивільненню лейкотрієнів і провокує гостру запальну реакцію. У патогенезі розвитку карагенінового запалення провідна роль належить біогенним амінам та простагландинам і калікреїн-кініновій системі.

При виконанні першої частини дослідження нами використано тест механічної гіпералгезії, який засновано на поведінкових реакціях, контрольованих супраспінальними структурами у відповідь на больовий стимул.

Отримані результати (табл. 1) свідчать про те, що введення щурам брадикініну, зимозану та карагеніну викликає вірогідне зниження ПБЧ на 71,7; 33,3 та 41,6 % відповідно. При цьому пропоксазепам зменшував больову реакцію, викликану брадикініном та зимозаном, і майже не впливав на карагенін-індуковану гіпералгезію. Так, на тлі введення пропоксазепаму зниження ПБЧ, викликане брадикініном, було в 3 рази меншим, ніж у контрольних тварин (23,8 % проти 71,7 %). Близький за силою антиноцицептивний ефект виявлено й на тлі зимозан-індукованої ноцицепції: у

щурів, яким вводили пропоксазепам, ПБЧ не тільки не знижувався, а навпаки – підвищувався вище вихідного рівня на 13,5 %. Іншу картину спостерігали за умов введення карагеніну, пропоксазепам підвищував ПБЧ лише на 8,5 % відносно контрольної групи.

Враховуючи, що в механізмах больової перцепції, яку викликають алгогени, провідна роль належить брадикініну, лейкотрієнам (за зимозан-індукованої гіпералгезії) та простагландинам (за карагенін-індукованої гіпералгезії), можна зробити висновок про те, що в антиноцицептивній дії досліджуваного похідного бензодіазепіну лежать, переважно, антибрадикініновий та антилейкотрієновий механізми, та практично відсутній антипростагландинний. Ці результати узгоджуються з даними, які отримані при фармакодинамічному дослідженні сполуки. Зокрема доведено, що пропоксазепам на різних експериментальних моделях мав незначну протизапальну дію та суттєву антиноцицептивну за умов соматогенного та нейрогенного больових синдромів [2, 5]. Окрім того, результати дослідження ульцерогенної дії пропоксазепаму продемонстрували відсутність ушкоджуючої дії цієї сполуки на слизову оболонку шлунка як за умов гострого, так і підгострого та хронічного введення [5]. Оскільки захисний потенціал слизової

Таблиця 1

Аналгезуюча дія пропоксазепаму за умов його внутрішньошлункового введення в дозі ED_{50} на моделі гіпералгезії, викликаній брадикініном, зимозаном та карагеніном ($M \pm m, n = 7$)

Умова досліджу	Брадикінін		Зимозан		Карагенін	
	конт- роль (розчин-ники)	пропо-ксазе-пам	конт- роль (розчин-ники)	пропо-ксазе-пам	конт- роль (розчин-ники)	пропо-ксазе-пам
Поріг больової чутливості (вихідне значення), г/мм ²	235,70 ± 14,70	380,0 ± 27,20	259,30 ± 10,40	269,30 ± 7,27	264,30 ± 6,40	245,70 ± 4,93
Після введення алгогену	66,70 ± 6,88*	289,30 ± 14,70*	172,90 ± 8,44*	305,70 ± 7,75*	154,30 ± 6,02*	164,30 ± 4,42*
Відсоток відносно вихідного значення	- 71,7	- 23,8	- 33,3	+ 13,5	- 41,6	- 33,1

*Примітка. *Статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно вихідного значення.*

оболонки ШКТ значною мірою забезпечують простагландини [11], то відсутність антипростагландинового впливу, що отримано в цій частині дослідження, цілком співставляється з простагландин-незалежним механізмом дії цієї сполуки.

Визначення рецепторних механізмів реалізації антиноцицептивної дії пропоксазепаму. Аналгетичний ефект при активації відповідних структур мозку реалізується за допомогою прямого пре- і постсинаптичного гальмування активності ноцицептивних нейронів на різних рівнях ЦНС. Найбільшу таку дію антиноцицептивної системи відчувають на собі нейрони дорсальних рогів спинного мозку. У механізмах розвитку аналгезії при активації антиноцицептивної структури найбільше значення надається опіоїдергічній, серотонінергічній та норадренергічній системам мозку.

Для доведення участі тієї чи іншої нейрорецепторної системи в механізмі дії пропоксазепаму використано експериментальну модель «tail-flick». Тест відсмикування хвоста від джерела теплового випромінювання є спрощеною версією методу, застосовуваного на добровольцях [12]. Метод заснований на спінальному флексорному рефлексі у відповідь на вплив теплового випромінювання на поверхню шкіри. У цьому тесті послідовно активуються терморекцептори, С- та Ad-волокна полімодальних ноцицепторів, а також високотемпературні механорецептори.

Раніше нами показано [5], що пропоксазепам при внутрішньому та парентеральному введенні в дозі 0,5 мг/кг на моделі термічного подразнення найвиразнішу аналгезуючу дію виявляв на 2 год, яка тривала протягом 2 год. При внутрішньоочеревинному введенні на 6 год активність зберігалася на достатньо високому рівні, а при введенні в шлунок – суттєво зменшувалась. Кеторолак (препарат порівняння) при пероральному введенні в еквімолярній дозі (0,5 мг/кг) за ступенем знеболюючої дії був співставний з пропоксазепамом на 4 і 6 год. При введенні пропоксазепаму та кеторолаку в дозах 3 мг/кг перорально (яка становить ED₅₀ за даними

літератури для кеторолаку), показник аналгетичного ефекту сполуки перевершував референс препарат як за силою дії, так і за тривалістю.

Отримані дані (табл. 2) показали, що опіоїдна система не залучена до дії даної сполуки. Так, введення антагоніста мю- та капа-опіоїдних рецепторів налоксону не змінювало тривалість ЛП, яку викликав пропоксазепам, тоді як ступінь аналгезії, залежний від налбуфіну (агоніст-антагоніст опіоїдних рецепторів), нівелювався за умов його комбінації з налоксоном.

На відміну від опіоїдергічної, дофамінергічна система, як виявилось, залучена до механізмів дії сполуки, оскільки блокада аміназином дофамінових D₂ рецепторів суттєво збільшувала ступінь антиноцицепції пропоксазепаму. Причому, тривалість ЛП за умов комбінованого застосування аміназину та пропоксазепаму перевершувала просту суму цих ефектів за умов монотерапії та становила +124,8 % проти + 50,2 та + 33,4 % у групах, які отримували окремо пропоксазепам та аміназин відповідно. Отже, у даному випадку можна думати про потенціювання аналгезії. На противагу цьому комбіноване введення пропоксазепаму на тлі дофаміну, який в малих дозах впливає переважно на D₂ рецептори [13], навпаки, зменшувало подовження ЛП, яке було зареєстроване за умов уведення лише пропоксазепаму та дофаміну (+ 50,2 та + 45,0 % відповідно), і становило + 11,3 % відносно вихідного рівня (табл. 2).

Натепер у літературі описано понад 30 нейрохімічних сполук, які беруть участь у механізмах збудження та гальмування ноцицептивних нейронів у центральній нервовій системі. Серед численної групи нейромедіаторів, нейрогормонів і нейромодуляторів, які опосередковують проведення ноцицептивних сигналів, є як прості молекули – збуджуючі амінокислоти (глутамат, аспартат), так і складні високомолекулярні сполуки (субстанція Р, нейрокінін А, кальцитонін-ген-споріднений пептид тощо). Збуджуючі амінокислоти відіграють важливу роль у механізмах ноцицепції. Глутамат міститься більш

Аналгезуюча дія пропоксазепаму після його внутрішньошлункового введення в дозі ED_{50} на тлі фармакологічних аналізаторів ($M \pm m, n = 7$)

Сполуки	Доза, шлях введення	Латентний період відсмикування хвоста, с		Відсоток відносно вихідного значення
		вихідне значення	після введення сполук	
<i>Опіодні рецептори</i>				
Пропоксазепам	1,83 мг/кг в/ш	8,34 ± 0,69	12,30 ± 0,90*	+ 48,1
Налоксон + Пропоксазепам	1 мг/кг в/о	6,79 ± 0,28	10,14 ± 0,36*	+ 49,4
Налбуфін	0,5 мг/кг в/о	8,81 ± 0,73	12,86 ± 1,34*	+ 44,5
Налоксон + Налбуфін	1 мг/кг в/о + 0,5 мг/кг в/о	7,08 ± 0,22	7,18 ± 0,17	+ 1,5
<i>Дофамінергічні рецептори</i>				
Пропоксазепам	1,83 мг/кг в/ш	6,40 ± 0,29	9,61 ± 0,50*	+ 50,2
Аміназин	2 мг/кг в/о	7,16 ± 0,16	9,57 ± 0,45*	+ 33,4
Аміназин + Пропоксазепам	2 мг/кг в/о + 1,83 мг/кг в/ш	7,23 ± 0,23	16,18 ± 0,27*	+ 124,8
Дофамін	100 мкг/кг в/о	7,23 ± 0,50	10,59 ± 0,94*	+ 45,0
Дофамін + Пропоксазепам	100 мкг/кг в/о + 1,83 мг/кг в/ш	6,93 ± 0,17	7,71 ± 0,20	+ 11,3
<i>NMDA-рецептори</i>				
Пропоксазепам	1,83 мг/кг в/ш	6,44 ± 0,28	9,71 ± 0,33*	+ 51,4
Мемантин	10 мг/кг в/о	4,84 ± 0,17	4,86 ± 0,15	+ 0,6
Мемантин + Пропоксазепам	10 мг/кг в/о + 1,83 мг/кг в/ш	6,15 ± 0,32	5,99 ± 0,30	- 2,5
MgSO ₄	90 мг/кг в/о	5,79 ± 0,35	7,14 ± 0,38	+ 23,9
MgSO ₄ + Пропоксазепам	90 мг/кг в/о + 1,83 мг/кг в/ш	6,16 ± 0,15	11,90 ± 0,22*	+ 93,3
<i>Адренергічна система</i>				
<i>Засоби, що впливають на α₁-адренорецептори</i>				
Пропоксазепам	1,83 мг/кг в/ш	6,67 ± 0,37	10,19 ± 0,44*	+ 53,3
Фенілефрин	1 мг/кг в/о	7,0 ± 0,28	7,17 ± 0,26	+ 2,6
Фенілефрин + Пропоксазепам	1 мг/кг в/о + 1,83 мг/кг в/ш	6,91 ± 0,26	11,69 ± 0,45*	+ 69,1
Празозин	1 мг/кг в/о	7,14 ± 0,23	7,31 ± 0,24	+ 2,4
Празозин + Пропоксазепам	1 мг/кг в/о + 1,83 мг/кг в/ш	7,06 ± 0,44	8,86 ± 0,56*	+ 25,5
<i>Засоби, що впливають на α₂-адренорецептори</i>				
Клофелін	0,01 мг/кг в/о	6,43 ± 0,56	8,55 ± 0,68*	+ 33,6
Клофелін + Пропоксазепам	0,01 мг/кг в/о + 1,83 мг/кг в/ш	6,67 ± 0,37	10,19 ± 0,44*	+ 53,3
Йохімбін	5 мг/кг в/ш	6,39 ± 0,43	7,05 ± 0,45	+ 10,6
Йохімбін + Пропоксазепам	5 мг/кг в/ш + 1,83 мг/кг в/ш	5,98 ± 0,23	7,08 ± 0,28	+ 6,0
<i>Засоби, що впливають на β₁ та β₂-адренорецептори</i>				
Ізопротеренол	85 мг/кг п/ш	6,43 ± 0,49	6,61 ± 0,52	+ 2,7
Ізопротеренол + Пропоксазепам	85 мг/кг п/ш + 1,83 мг/кг в/ш	7,29 ± 0,43	11,01 ± 0,63*	+ 51,1
Пропранолол	5 мг/кг в/о	6,21 ± 0,38	7,50 ± 0,43	+ 20,9
Пропранолол + Пропоксазепам	5 мг/кг в/о + 1,83 мг/кг в/ш	7,89 ± 0,18	13,33 ± 0,27*	+ 69,1

Примітка.* Статистично вірогідні відмінності ($p < 0,05$) відносно вихідного рівня

ніж у половині нейронів дорзальних гангліїв і вивільняється під впливом ноцицептивних стимулів [14]. Тому блокада NMDA-рецепторів є важливим аспектом антиноцицептивної дії анагетиків. Нами було досліджено вплив двох селективних блокаторів NMDA-рецепторів – магнію сульфату та мемантину – на анагетичний ефект пропоксазепаму. Показано, що знеболююча дія сполуки посилювалась за умов його сумісного застосування разом з магнію сульфатом: тривалість ЛПІ під впливом комбінації збільшувалась на 93,3 % відносно вихідного рівня ($p < 0,05$), тоді як на тлі дії окремо взятих сполук це збільшення становило + 51,4 % та + 23,9 % відповідно для пропоксазепаму та $MgSO_4$. Неочікувані результати отримано при комбінованому застосуванні пропоксазепаму та мемантину (табл. 2). Цей антагоніст NMDA-рецепторів, на відміну від магнію сульфату, не викликав анагетичної дії при монотерапії, а разом з пропоксазепамом не тільки повністю нівелював його знеболюючу активність, але й показав незначну тенденцію до «про-алгезії» (ЛПІ зменшувався на 2,5 %, але це зменшення не сягало статистично вірогідних значень). Отримані результати, на нашу думку, можуть бути наслідком декількох причин. По-перше, анагезуючий ефект мемантину в літературі описано лише на моделях нейропатичного болю, тоді як ми використали інший тест больової перцепції. По-друге, незважаючи на те, що обидва препарати є селективними антагоністами NMDA-рецепторів, їхні механізми не є тотожними. Так, магнію сульфат блокує NMDA-асоційовані канали в потенціал-залежний спосіб [15]. Враховуючи той факт, що активація кальцієвих каналів термінальних С-волокон і спінальних нейронів відіграє важливу роль у ноцицепції, блокування Ca^{2+} току, яке викликає магнію сульфат, може пояснити його анагетичну дію [16]. Водночас мемантин є низькоафінним, вольтаж-залежним неконкурентним антагоністом глутаматергічних NMDA-рецепторів. Він зв'язується з фенциклідиновим сайтом рецептора,

гальмує входження кальцію в клітину [17]. Окрім дії на глутаматні рецептори, мемантин є неконкурентним антагоністом серотонінергічних ($5-HT_3$) рецепторів [18], холінергічних Н-холінорецепторів [19], та водночас є агоністом дофамінергічних D_2 рецепторів [20]. Саме стимуляція останніх може бути причиною відсутності в нього власної антиноцицептивної дії та нівелювання дії пропоксазепаму за даних умов експерименту. Не можна виключити також існування інших пояснень отриманого феномена.

Наші дослідження також продемонстрували, що до механізмів дії пропоксазепаму залучена також і адренергічна система. Зокрема, зареєстроване деяке посилення ноцицепції при сумісному застосуванні пропоксазепаму та стимулятора α_1 -адренорецепторів фенілефрину (+ 69,1 % порівняно з вихідним рівнем ($p < 0,05$) проти + 53,3 % при окремому введенні пропоксазепаму. Натомість блокада цих рецепторів празозином – навпаки, зменшувала майже вдвічі анагезуючий ефект сполуки (збільшення ЛПІ становило лише +25,5 % за умов комбінованого введення). Клонідин (агоніст центральних α_2 рецепторів) – практично не змінював дію сполуки, натомість блокатор цих рецепторів йохімбін – практично нівелював її, про що свідчить збільшення ЛПІ лише на 6,0 % при сумісному введенні пропоксазепаму та йохімбіну. Вплив на бета-адренорецептори (як стимуляція, викликана ізопротеренолом), так і блокада пропранололом не змінювали анагетичного ефекту пропоксазепаму, що дає підстави вважати їхню взаємодію як незалежну.

Висновок

1. Отримані дані свідчать, що пропоксазепам за даних умов експерименту зменшував гіпералгезію на моделі брадикінінового та зимозанового набряків, при відсутності виразного анагезуючого ефекту на моделі карагенінового набряку. Вище зазначене дає змогу вважати, що в механізмах дії пропоксазепаму присутні антибрадикініновий та антилейкотріє-

- новий (антиліпоксигеназний) компоненти при відсутності антициклооксигеназної (антипростагландинової) складової.
2. У механізмах знеболюючого ефекту пропоксазепаму беруть участь дофамінергічна система, NMDA-рецептори, а також α_1 -адренорецептори. Натомість вплив на опіоїдергічну систему, а також на інші види адренорецепторів не має суттєвого значення в антиноцицептивному ефекті пропоксазепаму на даній моделі больової перцепції.
1. Analgesic effects of 3-substituted derivatives of 1,4-benzodiazepines and their possible mechanisms / V. I. Pavlovsky, O. V. Tsybalyuk, V. S. Martynuk [et al.] // *Neurophysiology*. – 2013. – V. 45, № 5/6. – P. 427–432.
 2. Активізація гамкергічної системи пролілоксипохідним 1,4-бенздіазепіну на моделях нейропатичного болю та судом, що індуковані коразолом / М. Я. Головенко, В. Б. Ларіонов, А. С. Редер [та ін.] // *Журн. Національної академії медичних наук України*. – 2016. – № 3. – С. 251–260.
 3. Анальгетические и противовоспалительные свойства новых 3-алкокси-1,2-дигидро-3H-1,4-бенздиазепин-2-онов / В. И. Павловский, Т. А. Кабанова, Е. И. Халимова, С. А. Андронати // *Вестник Одесского национального университета*. – 2013. – Т. 18, выпуск 3 (47). – С. 28–38.
 4. Bryans J. S. 3-substituted GABA analogs with central nervous system activity: a review / J. S. Bryans, D. J. Wustrow // *Med. Res. Rev.* – 1999. – V. 19. – P. 149–177.
 5. Застосування 7-бром-5-(о-хлорфеніл)-3-пропокси-1,2-дигідро-3H-1,4-бенздіазепін-2-ону для гальмування нейропатичного болю та судом різної етіології / Редер А. С., Андронати С. А., Головенко М. Я., Павловський В. І., Кабанова Т. А., Халімова О., Ларіонов В. Б. Волощук Н. І. // Заявка на винахід. А 2016. – 10083.
 6. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод, рекомендації / за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – Київ : ВД «Авіцена», 2001. – 527 с.
 7. Zhao M. Methods and applications of analgesic assays / M. Zhao // *Pharmaceutical Bioassays: Methods and Applications*. – 2009. – P. 223–236.
 8. Как описывать статистику в медицине. Аннотированное руководство для авторов, редакторов и рецензентов / Т. А. Ланг, М. Сесик. ; пер. с англ. под ред. В. П. Леонова. – Москва : Практическая медицина, 2011. – 480 с.
 9. Кукушкин М. Л. Общая патология боли / М. Л. Кукушкин, Н. К. Хитров. – Москва : Медицина, 2004. – 144 с.
 10. Побережный В. И. К вопросам феномена «боль». Формулирование дефиниции «боль» на основе современного подхода / В. И. Побережный, А. В. Марчук // *Pain Medicine (Медицина болю)*. – 2016. – № 1. – С. 6–20.
 11. Kemmerly T. Gastroduodenal mucosal defense / T. Kemmerly, J. D. Kaunitz // *Curr. Opin. Gastroenterol.* – 2014. – № 30. – С. 583–588.
 12. Devulder J. Central pain: an overview / J. Devulder, E. Crombez, E. Mortier // *Acta Neurol. Belg.* – 2002. – V. 102. – P. 97–103.
 13. Low-dose dopamine: a physiologically based review // P. J. Schenarts, S. G. Sagraves, M. R. Bard [et. al.] // *Curr Surg.* – 2006. – V. 63, № 3. – P. 219–225.
 14. Wilcox G. I. IAPS Refresher Course on Pain Management. – 1999. – P.573–591.
 15. Фишер М. Обзор подходов к терапии острого инсульта: прошлое, настоящее и будущее / М. Фишер, В. Шебитц // *Журнал неврологии и психиатрии. Инсульт*. – 2001. – Вып. 1. – С. 21–33.
 16. Manaa E. M. Effect of magnesium sulfate on the total anesthetic and analgesic requirements in neurosurgery / E. M. Manaa A. F. Alhabib // *J. Neurol. Neurophysiol.* – 2012. – S11. – P. 2–5.
 17. Memantine preferentially blocks extrasynaptic over synaptic NMDA receptor currents in hippocampal autapses. / P. Xia, H.S. Chen, D. Zhang [et al.]. – 2010. – V. 30, № 33. – P. 11246–11250.
 18. The N-methyl-D-aspartate receptor channel blockers memantine, MRZ 2/579 and other aminoalkyl-cyclohexanes antagonise 5-HT(3) receptor currents in cultured HEK-293 and N1E-115 cell systems in a non-competitive manner / G. Rammes, R. Rupprecht, U. Ferrari [et al.] // *Neuroscience Letters*. – 2001. – V. 306, № 1–2. – P. 81–84.
 19. Memantine blocks alpha7* nicotinic acetylcholine receptors more potently than n-methyl-D-aspartate receptors in rat hippocampal neurons. / Y. Aracava, E.F. Pereira, A. Maelicke // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2005. – V. 312, № 3. – P. 1195–1205.
 20. Memantine agonist action at dopamine D2High receptors / P. Seeman, C. Caruso, M. Lasaga // *Synapse*. – 2008. – V. 62, № 2. – P. 149–153.

Н. І. Волощук, А. С. Редер, М. Я. Головенко, І. В. Таран, О. С. Пашинська
Фармакологічний аналіз нейрохімічних антиноцицептивних механізмів дії
пропоксазепаму

Створення інноваційних знеболюючих засобів є одним з важливих напрямів сучасної фармакології. Сполука під назвою пропоксазепам (7-бром-5 (о- хлорфеніл) -3-пропокси-1,2-дигідро-3H-1,4-

бенздіазепін-2-он), синтезована у Фізико-хімічному інституті НАН України, проявляє значну анальгезуючу активність на моделях нейропатичного болю та розглядається як перспективний лікарський засіб і проходить необхідні доклінічні випробування.

Мета дослідження – визначити можливі механізми анальгезуючої дії пропоксазепаму з використанням як фармакологічних аналізаторів різних медіаторів болю й запалення та нейромедіаторів.

В експериментах використовували фармакологічні аналізатори: налоксон, празозин, клонідин, йохімбін, ізопротеренол, пропранолол, налбуфін, аміназин, дофамін, мемантин, магнію сульфат, фенілефрин. Пропоксазепам вводили внутрішньошлунково в дозі 1,83 мг/кг, що відповідає його ED_{50} за анальгетичною активністю. Поглиблене вивчення механізмів реалізації анальгезуючої дії пропоксазепаму проводили на моделі механічної гіпералгезії, викликаній карагенином, брадикініном та зимозаном, а також в тесті «tail-flick».

Результати показали, що пропоксазепам зменшував больову реакцію, викликану брадикініном та зимозаном, і майже не впливав на карагенін-індуковану гіпералгезію. На моделі «tail-flick» показано, що до механізму дії даної сполуки не залучена опіоїдна система. Натомість доведено участь дофамінергічної та адренергічної системи, особливо, α_1 -адренорецепторів. Застосування антагоніста NMDA-рецепторів магнію сульфату на відміну від мемантину за умов його сумісного введення разом з пропоксазепамом посилювало знеболюючу дію останнього.

Отримані дані свідчать, що механізм антиноцицепції пропоксазепаму включає антибрадикінінову та антилейкотрієнову дії при відсутності антипростагландинового компонента. У механізмах знеболюючого ефекту пропоксазепаму беруть участь дофамінергічна система, NMDA, а також α_1 -адренорецептори.

Ключові слова: пропоксазепам, анальгезуюча дія, нейрохімічні, рецепторні механізми

Н. И. Волощук, А. С. Редер, Н. Я. Головенко, И. В. Таран, О. С. Пашинская **Фармакологический анализ нейрохимических антиноцицептивных механизмов действия пропоксазепам**

Создание инновационных обезболивающих средств является одним из важных направлений современной фармакологии. Соединение под названием пропоксазепам (7-бром-5 (о- хлорфенил) -3-пропокси-1,2-дигидро-3Н-1, 4-бенздиазепин-2-он), синтезированное в Физико-химическом институте НАН Украины, проявляет значительную анальгезирующую активность на моделях нейропатической боли и рассматривается как перспективное лекарственное средство, проходя необходимые доклинические испытания.

Цель исследования – определить возможные механизмы анальгезирующего действия пропоксазепам с использованием в качестве фармакологических анализаторов разных медиаторов боли и воспаления, а также нейромедиаторов.

В экспериментах использовали фармакологические анализаторы: налоксон, празозин, клонидин, йохимбин, изопротеренол, пропранолол, налбуфин, аминазин, дофамин, мемантин, магния сульфат, фенилэфрин. Пропоксазепам вводили внутривенно в дозе 1,83 мг/кг, что соответствует его ED_{50} по анальгетической активности. Углубленное изучение механизмов реализации анальгезирующего действия пропоксазепам проводили на модели механической гипералгезии, вызванной карагенином, брадикенином и зимозаном, а также в тесте «tail-flick».

Результаты показали, что пропоксазепам уменьшал болевую реакцию, вызванную брадикенином и зимозаном, при этом почти не влиял на карагенин-индуцированную гипералгезию. На модели «tail-flick» показано, что в действии данного соединения не принимает участие опиоидная система. В тоже время доказано участие дофаминергической и адренергической систем, особенно, α_1 -адренорецепторов. Применение антагониста NMDA-рецепторов магния сульфата, в отличие от мемантина, при условии его совместного введения с пропоксазепамом, усиливало обезболивающее действие последнего.

Полученные данные свидетельствуют о том, что механизм антиноцицепции пропоксазепам включает антибрадикениновое и антилейкотриеновое действие при отсутствии антипростагландинового компонента. В механизмах обезболивающего эффекта пропоксазепам принимают участие дофаминергическая система, NMDA, а также α_1 -адренорецепторы.

Ключевые слова: пропоксазепам, анальгезирующее действие, нейрохимические механизмы, рецепторные механизмы

N. I. Voloshchuk, A. S. Reder, M. Y. Golovenko, I. V. Taran, O. S. Pashinska **Pharmacological analysis of neurochemical antinociceptive mechanisms of propoxazepam action**

Creating of innovative analgesics is one of the important areas of modern pharmacology. The compound propoxazepam (7-bromo-5 (o- chlorophenyl) -3-propoxy-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepine-2) was synthesized in A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of NAU. It shows a significant analgesic activity in models of neuropathic pain. So, it is regarded as a prospective drug and required a preclinical testing.

The aim of the study was to determine possible mechanisms of analgesic activity of propoxazepam while using various mediators of pain and inflammation, neurotransmitters as the pharmacological analyzers.

Naloxon, prazosin, clonidine, yohimbine, isoproterenol, propranolol, nalbuphine, chlorpromazine, dopamine, memantine, magnesium sulfate, phenylephrine were used as the pharmacological analyzers. Propoxazepam was introduced intragastrically at a dose of 1,83 mg/kg, corresponding to its ED₅₀ by analgesic activity. A detailed study of realization mechanisms of propoxazepam analgesic action was conducted under bradykinin, zymosan and carrageenan-induced hyperalgesia and «tail-flick» model.

The results showed that propoxazepam reduced pain reaction caused by bradykinin and zymosan, and almost had no effect on carrageenan-induced hyperalgesia. On the «tail-flick» model, it was proved that opioid system was not involved in the action of this compound. Our study has demonstrated that dopaminergic and adrenergic system were involved in the mechanisms of propoxazepam activity, particularly alpha-adrenergic receptors. Using of NMDA-receptors antagonist of magnesium sulfate, but not memantine under conditions of its compatible introduction with propoxazepam, increased its analgesic effect.

These data suggest that the mechanism of propoxazepam antinociception includes antibradykinin and antileukotriene action with the absence of antiprostaglandin component. Dopaminergic system, NMDA, and alpha-1 adrenergic receptors are involved in the mechanisms of propoxazepam analgesic effect.

Key words: propoxazepam, analgesic effect, neurochemical, receptor mechanisms

Надійшла: 1 грудня 2016 р.

Контактна особа: Волощук Наталія Іванівна, доктор медичних наук, кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова, буд. 56, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21018. Тел.: + 38 0 67 307 71 34. Електронна пошта: voloshchuknatali@gmail.com