

УДК 615.214.22

Экспериментальный анализ транквилизирующего действия сверхмалых доз феназепама

Т. А. Воронина, Г. М. Молодавкин

ТАТЬЯНА АЛЕКСАНДРОВНА ВОРОНИНА — доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории психофармакологии НИИ фармакологии РАМН. Область научных интересов: психофармакология транквилизаторов и ноотропов.

ГЕННАДИЙ МАТВЕЕВИЧ МОЛОДАВКИН — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории психофармакологии НИИ фармакологии РАМН. Область научных интересов: психофармакология транквилизаторов и ноотропов.

125315 Москва, Балтийская ул., 8, НИИ фармакологии РАМН, тел. (095)155-47-14.

В последнее время в связи с нарастанием напряженности жизни и стрессорных ситуаций отмечается тенденция к росту потребления транквилизаторов (анксиолитиков) — препаратов, купирующих состояния тревоги, беспокойства, страха.

В качестве транквилизаторов широко используются препараты бензодиазепинового ряда (феназепам, седуксен и др.). Они применяются в довольно высоких дозах: 0,1—10,0 мг/кг или $2,4 \cdot 10^{-7}$ — $2,4 \cdot 10^{-5}$ моль/кг в эксперименте и 0,5—5,0 мг или $1,3 \cdot 10^{-6}$ — $1,3 \cdot 10^{-5}$ моль в клинике и при амбулаторном лечении. При этом известные транквилизаторы бензодиазепинового ряда, обладающие выраженным анксиолитическим (противотревожным) эффектом, оказывают побочное, в ряде случаев нежелательное действие, в частности, миорелаксантное, седативное, снотворное, амнезирующее [1-5]. Это обстоятельство значительно ограничивает их профилактическое и амбулаторное применение, в особенности по отношению к лицам, деятельность которых связана с выполнением работы, требующей повышенного внимания, четкой координации движений и т.д. Для компенсации таких нежелательных эффектов приходится использовать фармакологические корректоры, что может приводить к осложнениям в процессе лечения. К тому же стоимость существующих транквилизаторов и препаратов, используемых для коррекции их побочных эффектов, довольно высокая.

Все это стимулировало поиски альтернативных транквилизаторов в рядах соединений другой химической структуры: агонистов серотониновых 5-НТ₁ рецепторов (буспирон и его аналоги) [6-8], антагонистов серотониновых 5-НТ₃ рецепторов [9], антагонистов возбуждающих аминокислот [10] и других веществ. Предпринимаются успешные попытки использования для лечения тревожных расстройств известных психотропных препаратов: антидепрессантов [11], нейролептиков, в особенности атипичных нейролептических средств [12] и др. Однако эти вещества, по крайней мере на данном этапе их исследований, не превосходят бензодиазепиновые транквилизаторы по универсальности и эффективности действия. Кроме

того, они оказывают побочное действие (например, известны кардиотоксические эффекты у амитриптилина и других антидепрессантов). Поэтому несомненный интерес представляет иной подход к решению проблемы эффективных транквилизаторов, а именно, изыскание новых способов использования препаратов, хорошо зарекомендовавших себя при лечении тревожных расстройств. Одним из таких способов является применение транквилизаторов в сверхмалых дозах, на несколько порядков ниже традиционно используемых.

Для оценки такой возможности был исследован известный отечественный транквилизатор феназепам [13-19]. Этот препарат успешно используется для лечения серьезных тревожных расстройств, а также при купировании тревожных синдромов, сопровождающихся другими психическими и соматическими заболеваниями. Благодаря очень сильному основному психотропному действию он применяется при лечении некоторых форм шизофрении, эпилепсии, для купирования алкогольного делирия и синдрома отмены наркотиков. Однако этот препарат наряду с высокой эффективностью вызывает ряд нежелательных побочных явлений. Он оказывает мощное миорелаксантное (мышечно-расслабляющее) действие, поэтому его применение противопоказано, например, водителям транспорта, а также лицам пожилого возраста. В высоких дозах при длительном применении он может вызывать нарушения памяти и лекарственную зависимость.

Предполагалось, что при снижении доз до уровня сверхнизких феназепам сохранит свое основное, анксиолитическое действие и при этом утратит нежелательные побочные эффекты.

Анксиолитическое действие феназепама в сверхмалых дозах

Прежде всего представляло интерес исследовать воздействие сверхмалых доз феназепама на базисных моделях тревоги: методом конфликтной ситуации [20-23] и методом приподнятого крестообразного лабиринта [24], демонстрирующих разные аспекты анксиолитического действия транквилизаторов.

Исследование в условиях конфликтной ситуации.

Используемый нами метод основан на столкновении питьевой мотивации и электроболевого раздражения [22, 25]. Его суть состоит в преодолении животным страха получения наказания при попытке удовлетворения жизненно важной мотивации (в нашем случае — питьевой), возникающей в результате питьевой депривации (лишения питья) в течение 1–3 суток. Благодаря сочетанию депривации и электроболевого раздражения этот метод является довольно жестким и надежным критерием определения анксиолитической активности.

Для проведения экспериментов использовали специально разработанную установку, состоящую из камеры (27,5 x 27,5 x 40 см) для размещения животных, снабженных поилками — стеклянными сосудами с сосками из нержавеющей стали и полом, соединенными с источником постоянного тока [21]. Опыт проводили в течение 3 дней. В первый день животных полностью лишали питья. На следующий день, т.е. после 24-часовой депривации, проводили выработку навыка взятия воды из поилки, для чего животных помещали на 5 мин в экспериментальные камеры без подачи на них тока. На третий день животных снова помещали в экспериментальные камеры, но на этот раз через 10 с после первого взятия ими воды на электроды (соски поилок и пол камеры) подавали ток (0,5 мА), так что каждый акт взятия воды становился наказуемым.

После тренировки животных делили случайным образом на контрольных и опытных. Крысам первой группы за 40 мин до помещения их в камеру установки в третий день эксперимента вводили изотонический раствор хлорида натрия (внутрибрюшинно). Животным второй группы внутрибрюшинно вводили феназепам, а также флюнитразепам в дозах 10^{-15} , 10^{-13} , 10^{-11} , 10^{-10} и 10^{-9} моль/кг за 30 мин до тестирования. За меру выраженности эффекта принимали достоверное увеличение числа наказуемых взятий воды из поилок животными в опытной группе по сравнению с контрольной.

Кроме того, эффект транквилизаторов, вводимых в малых дозах, сравнивали с действием тех же веществ, но вводимых в обычно принятых количествах, а также с аналогичными эффектами медазепам (дневной транквилизатор). При этом контрольным животным вводили аналогичный раствор твина 80 в дистиллированной воде.

Исследования показали, что феназепам и флюнитразепам (мощное снотворное средство с выраженным анксиолитическим эффектом) в интервале доз 10^{-10} – 10^{-11} моль/кг оказывают отчетливое анксиолитическое действие на поведение животных в условиях конфликтной ситуации, число наказуемых взятий воды (ЧНВВ) увеличивается почти в два раза. Зависимость ЧНВВ от дозы введенного препарата имеет форму колокола с максимальной эффективной дозой феназепам 10^{-10} моль/кг (рис. 1), в которой феназепам статистически достоверно повышает ЧНВВ почти в два раза по сравнению с контрольной группой [26].

Флюнитразепам также повышает число наказуемых реакций в дозах 10^{-9} – 10^{-10} моль/кг, однако его эффект в этом тесте менее выражен, чем у феназепам.

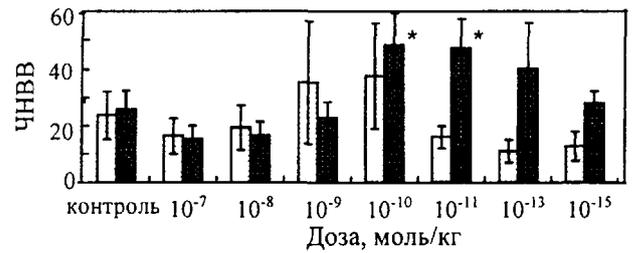


Рис. 1. Влияние феназепам (темные столбцы) и флюнитразепам (светлые столбцы) на число наказуемых взятий воды (ЧНВВ) крысами в конфликтной ситуации.

* Различие с контролем достоверно при $P < 0,05$

Сопоставление эффекта исследованных препаратов с действием других известных транквилизаторов показало, что в сверхмалых дозах феназепам и флюнитразепам проявляют антиконфликтное действие, превышающее аналогичное действие медазепам (табл. 1). Более того, эффекты этих препаратов в сверхмалых дозах превосходят эффекты веществ других классов, используемых при терапии неврозов, — нейролептиков и антидепрессантов, применяемых в обычных дозах. Однако активность феназепам и флюнитразепам в сверхмалых дозах ниже, чем при введении их в общепринятых дозах (1 и 10 мг/кг).

Таким образом, складывается впечатление, что при использовании в сверхнизких дозах феназепам проявляет свойства дневного транквилизатора. Ранее нами было установлено, что тестом на свойства дневного анксиолитика может быть моделирование конфликтной ситуации, сочетающее питьевую мотивацию и электроболевое раздражение при разной силе тока [27]. Было показано, что при слабом токе (0,5 мА) активны и дневные транквилизаторы (медазепам, дибунол, вальпроат) и мощные средства, оказывающие помимо анксиолитического действия и седативную активность (феназепам, клоназепам). При увеличении силы тока до 1 мА анксиолитический эффект дневных транквилизаторов исчезает, а действие мощных анксиолитиков сохраняется, но на более низком уровне. Этот методический подход был использован нами для количественной оценки антиконфликтного действия феназепам, вводимого в сверхмалых дозах.

При увеличении силы тока, подаваемого на электроды экспериментальной камеры, до 1 мА антикон-

Таблица 1

Показатели влияния транквилизаторов в сверхмалой и обычных дозах на поведение крыс в конфликтной ситуации.

Сила тока 0,5 мА

| Доза вещества | Число наказуемых взятий воды | | |
|--------------------|------------------------------|-----------------|---------------|
| | феназепам | флюнитразепам | медазепам |
| Контроль | 25,82 ± 6,72 | 25,82 ± 8,36 | 18,9 ± 2,9 |
| 10^{-10} моль/кг | 48,61 ± 11,42* | 31,29 ± 16,91 | — |
| 1 мг/кг | 98,42 ± 22,71* | 72,68 ± 18,52* | 20,45 ± 2,65 |
| 10 мг/кг | 389,76 ± 58,4** | 318,56 ± 74,2** | 25,11 ± 1,64* |

* Различие с контролем достоверно при $P < 0,05$.

** То же при $P < 0,01$.

Таблица 2

Показатели влияния феназепама на поведение крыс в конфликтной ситуации при разной силе тока

| Доза феназепама | Число наказуемых взятий воды при силе тока | |
|---------------------------|--|-----------------|
| | 0,5 МА | 1 МА |
| | Контроль | 25,8 ± 6,72 |
| 10 ⁻¹⁰ моль/кг | 48,61 ± 11,42 * | 6,5 ± 0,81 |
| 10 мг/кг | 389,7 ± 58,4 ** | 329,3 ± 2,37 ** |

* Различие с контролем достоверно при $P < 0,05$.** То же при $P < 0,01$.

фликтный эффект сверхмалых доз сильных транквилизаторов, также как аналогичное действие дневного транквилизатора медазепама исчезает, в то время как действие феназепама и флюнитразепама, вводимых в обычных дозах, снижается и сохраняется на более низком уровне. В табл. 2 приведены результаты соответствующих экспериментов для феназепама. Полученные данные свидетельствуют о наличии особенностей в механизмах действия препаратов при их введении в различных дозах.

Исследование методом приподнятого крестообразного лабиринта. Для исследования эффектов малых доз феназепама был выбран также метод приподнятого крестообразного лабиринта — другая базисная модель для изучения анксиолитического действия [24]. Метод основан на естественной боязни грызунов высоты и открытого пространства. В нем нет таких мощных стрессорирующих воздействий, как пищевая или пищевая депривация и электроболевое раздражение, поэтому он считается мягкой моделью тревожного состояния, более подходящей для исследования мягких дневных транквилизаторов.

Экспериментальным оборудованием служил лабиринт, состоящий из четырех рукавов длиной по 0,5 м, скрепленных под прямым углом и поднятых над полом на высоту 1 м. Два противоположно направленных рукава открыты, а два других — закрыты. Лабиринт равномерно освещается двумя люминесцентными лампами.

Животных помещали на центральную площадку лабиринта и в течение 3 мин регистрировали число заходов в открытые и закрытые рукава лабиринта и время пребывания в них. Феназепам в дозах 10⁻¹⁰ моль/кг и 0,1 мг/кг, а также *placebo* вводили интрагастрально за 40 мин до эксперимента.

Установлено, что феназепам в сверхмалой дозе (10⁻¹⁰ моль/кг) оказывает отчетливый анксиолитический эффект, который выражается в достоверном увеличении числа выходов в открытые рукава лаби-

ринта и времени пребывания в них (табл. 3) [28]. Эффект достигает максимума через 60—90 мин после введения препарата, его длительность составляет около 3—4 ч. В обычных дозах (0,1 мг/кг) феназепам также эффективен в этой модели тревоги.

Аналогичное действие в условиях приподнятого крестообразного лабиринта оказывает дневной транквилизатор медазепам и другие вещества сходного типа действия. При введении в более высоких дозах (5—10 мг/кг) феназепам неэффективен в этой модели. Таким образом, можно сделать вывод о том, что и в этой модели феназепам в сверхнизких дозах проявляет свойства дневного транквилизатора.

Влияние феназепама в сверхмалых дозах на биоэлектрическую активность мозга

Для выяснения механизмов действия феназепама было исследовано его влияние на биоэлектрическую активность мозга.

Эксперименты проводили на беспородных белых крысах (масса 200—250 г). Электроэнцефалограмму регистрировали при свободном поведении предварительно оперированных крыс, которым под наркозом (небутал, 40 мг/кг) вживляли электроды в сенсомоторную кору и в гиппокамп. Через 7—10 дней восстановительного периода регистрировали электроэнцефалограмму (18-канальный электроэнцефалограф Нейрограф, ОТЕ Биомедика, Италия), усилители которого были настроены на стандартные электроэнцефалографические режимы (постоянная времени 0,3 с, полоса частот 32 Гц). С выхода электроэнцефалографа биопотенциалы через аналогово-цифровой преобразователь L-Card подавали для обработки на компьютер Пентиум 200 ММХ. Обработку сигналов производили с помощью программы BrainSys (фирма «Хардсофт», Москва) в режиме вычисления спектров мощности электроэнцефалограммы. Сначала измеряли фоновую активность (три раза с интервалами 15 мин), затем животным вводили препараты и регистрировали электроэнцефалограмму через 15, 30, 45, 60 мин и далее через каждые последующие 30 мин. Эффекты малых доз транквилизатора сравнивали с эффектами при введении его в обычных дозах (1 мг/кг).

Установлено [28], что в фоновой электроэнцефалограмме крыс представлены практически все частоты с доминированием колебаний дельта- и тета-диапазонов. Частота доминирующего пика тета-активности составляет приблизительно 6—7 Гц.

Введение феназепама в дозе 10⁻¹⁰ моль/кг вызывает характерную для транквилизаторов перестройку тета-активности — частота ее доминирующего пика сдвигается влево (4—5 Гц). На другие частоты элек-

Таблица 3

Показатели влияния феназепама в сверхмалой и обычной дозах на поведение крыс в приподнятом крестообразном лабиринте

| Доза феназепама | Число выходов | | Время пребывания (в с) | |
|---------------------------|-------------------|-------------------|------------------------|--------------------|
| | в открытые рукава | в закрытые рукава | в открытых рукавах | в закрытых рукавах |
| Контроль | 2,4 ± 1,2 | 5,9 ± 2,6 | 34,9 ± 10,5 | 131,7 ± 46,4 |
| 10 ⁻¹⁰ моль/кг | 6,4 ± 0,9 * | 2,9 ± 0,7 * | 105,5 ± 29,3 * | 47,1 ± 15,4 * |
| 0,1 мг/кг | 4,2 ± 0,6 * | 5,1 ± 2,3 | 87,7 ± 11,7 * | 38,4 ± 12,8 * |

* Различие с контролем достоверно при $P < 0,05$.

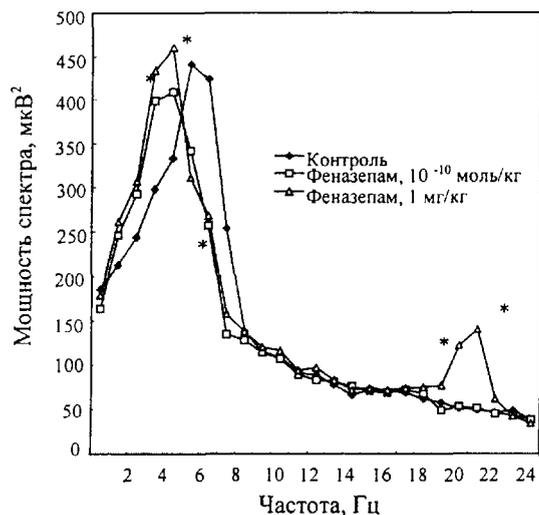


Рис. 2. Влияние феназепама, вводимого в разных дозах, на спектр мощности электроэнцефалограммы сенсомоторной коры крысы.

* Различие с контролем достоверно при $P < 0,05$

троэнцефалограммы феназепам в сверхмалых дозах влияния не оказывает. При введении в обычных дозах (1 мг/кг) феназепам также вызывает перестройку тета-активности, сдвигая доминирующий пик в диапазон 4–5 Гц. Кроме того, при дозе 1 мг/кг происходит усиление активности в бета-диапазоне (рис. 2), что свидетельствует о седативном эффекте.

Установлено также, что эффекты транквилизатора в сверхмалой и обычных дозах начинают проявляться через 15–30 мин после его введения и достигают максимума через 60–90 мин, длительность эффекта составляет 2–3 ч.

Таким образом, феназепам в сверхмалой дозе (10^{-10} моль/кг) оказывает отчетливое действие на биоэлектрическую активность мозга животных, а именно, сдвигает доминирующий пик в тета-диапазоне в сторону более низких частот. Аналогичный эффект, который отражает анксиолитическое действие, дают все известные транквилизаторы, в том числе и феназепам в традиционных дозах. Однако в противоположность эффекту феназепама в обычных дозах его сверхмалые дозы не вызывают появления пика в бета-диапазоне, что подтверждает отсутствие седативного эффекта.

Противосудорожное действие феназепама в сверхмалых дозах

Феназепам обладает мощным противосудорожным действием и нередко используется в качестве антиконвульсанта, поэтому представлялось целесообразным исследовать противосудорожную активность его в сверхмалых дозах.

Противосудорожное действие феназепама определяли по антагонизму с известным конвульсантом коразолом на мышцах (масса 18–22 г). При этом оценивали способность транквилизатора предупреждать тонико-клонический компонент судорожного приступа. Коразол в дозе 110–130 мг/кг (SD_{95} — доза, вызывающая судороги у 95% животных) вводили за 10 мин до проявления максимального эффекта феназепама, т.е. через 20–30 мин после его введения в дозах 10^{-7} – 10^{-10} моль/кг.

Показатели влияния феназепама на судорожный синдром, вызванный коразолом

| Доза феназепама, моль/кг | Латентный период (в с) | | |
|--------------------------|--------------------------------------|----------------------|----------------|
| | первого приступа клонических судорог | тонической экстензии | гибели |
| Контроль | 324,7 ± 54,9 | 355,8 ± 52,3 | 368,7 ± 53,0 |
| 10^{-7} | 972,9 ± 145,7* | 863,6 ± 149,2* | 837,8 ± 152,2* |
| 10^{-8} | 499,4 ± 165,5 | 502,6 ± 165,7* | 676,1 ± 240,0* |
| 10^{-9} | 414,4 ± 101,9 | 512,2 ± 104,4 | 560,9 ± 109,2* |
| 10^{-10} | 246,6 ± 49,4 | 266,0 ± 47,9 | 347,7 ± 60,7 |

* Различие с контролем достоверно при $P < 0,05$.

Установлено, что феназепам в сверхмалых дозах оказывает защитное действие при судорогах, вызванных коразолом. Эффект проявляется в снижении тяжести судорожного синдрома и увеличении латентного периода судорог (табл. 4). Эффект, наиболее выраженный в дозе 10^{-7} моль/кг, достоверен, но уступает по выраженности противосудорожному эффекту транквилизатора, вводимого в обычных дозах.

Таким образом, из полученных данных можно сделать следующие выводы: во-первых, с резким уменьшением дозы выраженность противосудорожного эффекта снижается, что опять-таки сближает феназепам в сверхмалых дозах с дневными транквилизаторами; во-вторых, противосудорожное действие проявляется в дозах на 2–3 порядка выше, чем анксиолитический эффект. Это соответствует имеющимся данным о различии механизмов анксиолитического и противосудорожного действия.

Следовательно, на основании анализа анксиолитического и противосудорожного действия феназепама и его влияния на биоэлектрическую активность головного мозга можно сделать вывод о приобретении препаратом в сверхмалых дозах свойств дневного транквилизатора.

Седативное действие феназепама в сверхмалых дозах

В наших работах исследовались также побочные эффекты сверхмалых доз феназепама со сравнительной оценкой их выраженности с побочными эффектами при использовании препарата в обычно принятых дозах.

Из широкого спектра фармакологической активности феназепама существенный интерес представляет его влияние на двигательную активность — седативный эффект. Двигательную активность животных (крыс) при воздействии феназепама в сверхмалых и традиционных дозах регистрировали в опытах, проводимых методом конфликтной ситуации. С этой целью пол экспериментальной камеры разбивали на четыре квадрата и визуально оценивали горизонтальную активность животных (по числу пересеченных квадратов), вертикальную активность (число вставаний на задние лапы) и число актов груминга.

Анализ активности, как горизонтальной, так и вертикальной, в условиях конфликтной ситуации позволил обнаружить, что у контрольных животных оба вида активности значительно угнетаются во время эксперимента по сравнению с тренировкой (без пода-

Показатели влияния феназепама в сверхмалой и обычной дозах на двигательную активность крыс в конфликтной ситуации

| Доза феназепама | Горизонтальная активность | | Вертикальная активность * | | Число актов груминга | |
|---------------------------|---------------------------|----------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | тренировка | конфликтная ситуация | тренировка | конфликтная ситуация | тренировка | конфликтная ситуация |
| Контроль | 17,9 ± 1,7 | 8,2 ± 1,72 * | 21,5 ± 3,2 | 8,3 ± 1,94 ** | 4,0 ± 0,61 | 2,5 ± 0,45 * |
| 10 ⁻¹⁰ моль/кг | 18,95 ± 1,19 | 12,9 ± 1,28 * | 17,26 ± 1,4 | 11,27 ± 1,31 * | 3,0 ± 0,34 | 2,27 ± 0,28 |
| 10 мг/кг | 21,4 ± 3,6 | 7,9 ± 1,4 ** | 18,4 ± 1,9 | 3,1 ± 1,2 ** | 4,5 ± 0,9 | 1,1 ± 0,6 ** |

* Различие с тем же показателем во время тренировки достоверно при $P < 0,05$.

** То же при $P < 0,01$.

чи тока) (на 54 и 61%, соответственно). Феназепам в дозе 10⁻¹⁰ моль/кг оказывает меньшее воздействие на двигательную активность животных по сравнению с контролем. Угнетение двигательной активности в конфликтной ситуации по сравнению с тренировкой после введения феназепама в дозе 10⁻¹⁰ моль/кг составляет 32 и 35 % соответственно. Транквилизатор в дозе 10 мг/кг существенно подавляет локомоцию животных в условиях эксперимента на 63 и 83% соответственно (табл. 5).

Амнезирующее действие феназепама в сверхмалых дозах

Изучение влияния феназепама в сверхмалых дозах на формирование и воспроизведение памятного следа проводили по базисной традиционной методике воспроизведения условного рефлекса пассивного избегания [29-31].

В опытах использовались белые беспородные крысы-самцы. Крысу помещали на освещенную, находящуюся на некоторой высоте платформу, соединенную с темной камерой, на пол которой подается ток. В силу свойственного грызунам норкового рефлекса животное переходит в камеру, где получает обучающее электрошоковое раздражение. Электрошоковое раздражение наносится до тех пор, пока животное не возвратится на освещенную платформу.

Таким образом животное обучается не заходить в темную камеру и пассивно избегать неприятную ситуацию, находясь в светлом отсеке. О степени обучения судят по латентному времени первого захода в темную камеру и длительности нахождения на платформе при повторном помещении туда животного через 24 ч после обучения. Феназепам в дозах 10⁻¹⁰ моль/кг, 10⁻¹¹ моль/кг, 5 мг/кг и 7,5 мг/кг вводили внутривентрикулярно за 40 мин до обучения.

Таблица 6

Показатели влияния феназепама в сверхмалых и обычных дозах на воспроизведение условного рефлекса пассивного избегания у крыс

| Доза феназепама | Латентное время рефлекса, с |
|---------------------------|-----------------------------|
| Контроль | 81,3 ± 8,4 |
| 10 ⁻¹⁰ моль/кг | 78,5 ± 15,4 |
| 10 ⁻¹¹ моль/кг | 85,4 ± 11,3 |
| 5 мг/кг | 44,8 ± 12,2 * |
| 7,5 мг/кг | 24,8 ± 7,2 * |

* Различие с контролем достоверно при $P < 0,05$.

Контрольные животные (без введения препарата) при повторном помещении в светлый отсек камеры через 24 ч после обучения хорошо помнят опасность и заходят в темный отсек в среднем через 81,3 с.

Феназепам в дозах 10⁻¹⁰—10⁻¹¹ моль/кг не оказывает отрицательного влияния на память животных, о чем свидетельствуют высокие показатели латентного времени условного рефлекса пассивного избегания при воспроизведении рефлекса через 24 ч (табл. 6).

В противоположность этому феназепам в обычных дозах 5 и 7,5 мг/кг вызывает ослабление памяти (амнезия обученного), что выражается в уменьшении времени захода в темный «опасный отсек».

Миорелаксантный эффект феназепама

Миорелаксантное действие препаратов изучали на крысах методом вращающегося стержня при его вращении с частотой 0,5 и 3 об/мин, а также методом горизонтальной перекладки. Фиксировали число животных, не удержавшихся на стержне или перекладке в течение 2 мин после введения им препаратов, и латентные периоды их падений.

Установлено, что феназепам и флюнитразепам в малых дозах (10⁻⁷—10⁻¹⁵ моль/кг) не проявляют миорелаксантного действия, на что указывает сохранение животными способности удерживаться на вращающемся стержне и горизонтальной перекладке. В то же время при введении в обычных дозах оба препарата, как и дневной транквилизатор медазепам (использовался в качестве препарата сравнения), вызывают выраженную миорелаксацию.

Таблица 7

Миорелаксантное действие транквилизаторов в обычных дозах.

Тест вращающегося стержня

| Препарат | ЭД ₅₀ , мг/кг |
|---------------|--------------------------|
| Феназепам | 2,48 (1,65 + 3,72) |
| Флюнитразепам | 2,72 (1,89 + 3,96) |
| Медазепам | 16,7 (9,27 + 30,06) |

В табл. 7 приведены значения половинной эффективной дозы ЭД₅₀, т.е. дозы, вызывающей фармакологический эффект (в данном случае падение с вращающегося стержня половины от общего количества испытуемых животных). Чем ниже эта доза, тем

ется большой интерес к механизмам биологической активности соединений в сверхмалых дозах.

В 1983 г. сотрудниками ИХФ РАН была обнаружена активность соединений в дозах до миллиона раз меньших, чем обычно применяемые (впоследствии это уникальное явление нашло подтверждение в работах других исследователей у нас в стране и за рубежом). При этом степени эффективности вещества в сверхмалых и обычных дозах соизмеримы, но между двумя диапазонами активности лежит так называемая «мертвая зона», в которой активность соединений не обнаруживается. Такие эффекты были найдены, например, для нейропептидов, антиоксидантов, активаторов роста растений, противоопухолевых и антиметаболических препаратов [37–52].

В настоящее время выдвинуто несколько гипотез о механизмах действия веществ при введении в сверхмалых дозах. Среди них концепция параметрического резонанса, который возникает, когда частота встречи биологически активного вещества с его рецептором сопоставима с частотой внутренних структурных перестроек возбужденного состояния рецептора [49]; представление о структурных переходах в мембранах, определяющих переход клетки в новое метаболическое состояние под влиянием даже одной молекулы — триггера перехода [48]. В последнее время особенно часто природу эффектов сверхмалых доз рассматривают с позиции роли структуры среды (воды) и ее структурной памяти, возникающей под влиянием веществ в сверхмалых дозах [53].

В заключение отметим, какие перспективы в медицинской практике открывает эффект малых доз феназепама.

При значительном снижении доз феназепама, а возможно и других фармакологических веществ, имеет место модификация спектра его фармакологической активности: он приобретает свойства мягкого дневного анксиолитика, который при сохранении основного, транквилизирующего действия (правда, на более низком, чем при обычных дозах, уровне) практически лишен нежелательных побочных эффектов. В этом диапазоне доз феназепам, благодаря мягкому анксиолитическому действию и отсутствию нежелательных побочных эффектов, может найти широкое применение в амбулаторной и клинической практике для профилактики и лечения широкого круга невротических и неврозоподобных расстройств, для преодоления ситуационных трудностей и стрессорных состояний. Весьма полезен он может оказаться для лечения лиц пожилого возраста, у которых чувствительность к лекарственным препаратам, и особенно к их побочным эффектам, повышена.

Что касается обычных доз, то для феназепама рациональным остается традиционное использование для лечения тяжелых тревожных расстройств, тревожных синдромов, сопровождающих другие психические и соматические заболевания. Препарат также останется полезен в некоторых областях медицины, где его побочные эффекты (миорелаксантами и амнестический) обеспечивают нужное положительное воздействие (хирургия, анестезиология, реаниматология, стоматология).

ЛИТЕРАТУРА

1. Воронина Т.А. Гидазепам. Киев: Наукова думка, 1992, с. 63–75.
2. Voronina T.A. Edinburgh-Graffham Press Ltd., 1994, p. 39.
3. Молодавкин Г.М. Дисс. на соискание ученой степени доктора биологических наук. М., 1998, 429 с.
4. Dubovsky S.L. J. Clin. Psychiatry, 1993, v. 54 Suppl, p. 75.
5. Mosconi M., Chiamulera C., Recchia G. Int. J. Clin. Pharmacology Research., 1993, v. 13, N 6, p. 331–344.
6. Rickels K. J. Clin. Psychiatry, 1990, v. 51 Suppl., p. 51–54.
7. Taylor D.P. Ann. N.-Y. Acad. Sci., 1990, v. 600, p. 545–556.
8. Taylor D.P., Moon S.L. Neuropeptides, 1991, v. 19 Suppl, p. 15–19.
9. Broocks A. Fortsch. Neurol.-Psychiat., 1992, Bd. 60, S. 227.
10. Kehne J.H., McCloskey T.C., Baron B.M. e. a. Eur. J. Pharmacol., 1991, v. 193, p. 283–292.
11. Dubovsky S.L. J. Clin. Psychiatry, 1990, v. 51 N Suppl., p. 3–10.
12. Moore N.A., Tye N.C., Axton M.S., Risius F.C. J. Pharmacol. and Exp. Ther., 1992, v. 262, p. 545–551.
13. Александровский Ю.А. Клиническая фармакология транквилизаторов. М.: Медицина, 1972, 335 с.
14. Александровский Ю.А. Пограничные психические расстройства. М.: Медицина, 1993, 400 с.
15. Воронина Т.А., Вихляев Ю.И., Неробкова Л.Н. и др. Феназепам. Киев: Наукова думка, 1982, с. 87–151.
16. Воронина Т.А., Молодавкин Г.М., Рамхин Е.Я. Эксперим. и клинич. фармакология, 1993, т. 56, № 3, с. 3–5.
17. Авт. свид. СССР № 629926, 1978.
18. Незнамов Г.Г., Молодавкин Г.М., Жердев В.П. Тревога и обсессии. Под ред. А.Б. Смулевича. М.: НЦПЗ РАМН, 1998, с. 191–204.
19. Патент РФ № 1312771, 1987.
20. Молодавкин Г.М., Кашевская О.П., Кампов-Полевой А.Б., Буров Ю.В. Тр. НИИ фармакологии АМН СССР, Москва, 1987, с.113–116.
21. Молодавкин Г.М., Воронина Т.А. Эксперим. и клинич. фармакол., 1995, т. 58, № 2, с. 54–56.
22. Vogel J., Beer B., Clody T. Psychopharmacologia, 1971, v. 21, p. 1–7.
23. Barrett J.E. Animal Models in Psychopharmacology. Basel: Birkhauser Verlag, 1991, S. 37–52.
24. File S.E., Mabbutt P.S., Hitchcott P.K. Psychopharmacology, 1990, v. 102, p. 98–101.
25. Клыгуль Т.А., Кривопапов В.А. Фармакол. и токсикология, 1966, № 2, с. 241–244.
26. Бурлакова Е.Б., Чернявская Л.И., Воронина Т.А. и др. Бюл. эксперим. биол. и мед., 1996, т.121, № 2, с. 63–66.
27. Воронина Т.А., Молодавкин Г.М. Там же, 1996, т.121, № 1, с. 63–66.
28. Воронина Т.А., Молодавкин Г.М., Чернявская Л.И. и др. Там же, 1997, т. 124, № 9, с. 308–310.
29. Воронина Т.А. Фармакология ноотропов. Под ред. А.В. Вальдмана, Т.А. Ворониной. М.: Медицина, 1989, с.91.
30. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Эксперим. и клинич. фармакол., 1998, т. 61, № 4, с. 3–9.
31. Воронина Т.А., Островская Р.У. Ведомости Фармакологического комитета, 1998, № 2, с. 25–31.
32. Daval J.L., Werck M.C., Nehlig A., Pereira de Vasconcelos A. Int. J. Developmental Neuroscience, 1991, v.9, p.307–320.
33. Olsen R.W., Bureau M.H., Endo S., Smith G. Neurochemical Res., 1991, v. 16, p. 317–325.
34. Ruano D., Vizuete M., Cano J. e. a. J. Neurochem., 1992, v. 58, p. 485–493.
35. Sigel E., Baur R., Trube G. e. a. Neuron., 1990, v. 5, p. 703.
36. Taguchi J., Kuriyama K. J. Pharmacol. and Exp. Ther., 1990, v. 253, p. 558–566.
37. Бурлакова Е.Б., Греченко Т.Н., Соколов Е.Н., Терехова С.Ф. Биофизика, 1986, т. 31, № 5, с. 921–923.
38. Богатыренко Т.Н., Редкозубова Г.П., Конрадов А.А. и др. Там же, 1989, т. 34, № 26, с. 327–329.
39. Robertson A.-D., Grutsch I.F. J. Theor. Biol., 1987, v. 25, № 1, p. 41–47.
40. Zaitsev S.V., Sazanov L.A. Koshkin A.A. e. a. FEBS Lett., 1991, v. 291, № 1, p. 84–86.
41. Dawis J.M., Svendsgaard D.J. J. Toxic a Env. Heth., 1990, v. 30, p. 71–83.
42. Пальмина Н.П., Мальцева Е.Л., Курнакова Н.В., Бурлакова Е.Б. Биохимия, 1994, т.52, с.193–203.

43. *Safrit J., Tsuchitani T., Zighubolm J., Bonavida B.* Ultra-low doses I. Ed. C. Doutrempuich Univ. Bordeaux, France, Tavior and France. London, Washington, D.C., 1991, p. 27–43.
44. *Коновалова Н.П., Франчи Ф., Дьячковская Р.Ф., Волкова Л.Н.* Изв. РАН. Сер. биол., 1998,
45. *Blumenfeld L.A., Grosberg A.Ju., Tikhonov A.N.* J. Chem. Phys., 1991, v. 95, № 10, p. 7541–7544.
46. *Лелекова Т.В., Романовский П.Я., Александров П.Н., Ашмарин И.П.* Бюл. эксперим. биол. и мед., 1989, т. 108, № 7, с. 8–10.
47. *Zaiuev S.V., Sazanov L.A.* J. Chem. and Biochem. Kin., 1991, v. 1, № 3, p. 21–26.
48. *Бурлакова Е.Б., Конрадов А.А., Худяков И.В.* Изв. РАН. Сер. биол., 1990, № 2, с. 184–193.
49. *Блюменфельд Л.А.* Биофизика, 1993, № 1, с. 129–132.
50. *Sergeeva M.G., Yonchar M.V., Chistyakov V.V., Merkh A.T.* Appl. Biochem. and Biotech., 1996, v. 61, p. 167–171.
51. *Пальмина Н.П., Мальцева Е.Л., Бурлакова Е.Б.* Хим. физика, 1995, т. 14, № 11, с. 47–60.
52. *Мальцева Е.Л., Пальмина Н.П., Бурлакова Е.Б.* Биол. мембраны, 1998, т. 15, № 2, с. 199–212.
53. *Lo S.Y.* Proceedings of the 1-st International Symposium. Ed. L.I. Brady, World Scientific Publishing Co., PTC Ltd., 1998, p. 3–47.

УДК 576.345 + 576.809.7

Действие некоторых цитотоксинов в сверхмалых концентрациях на клеточное звено иммунитета

Т. И. Новожилова, С. И. Малекин, В. К. Курочкин,
С. Бугхлала, М. В. Киселевский

ТАТЬЯНА ИВАНОВНА НОВОЖИЛОВА — кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биорегуляторов Государственного научно-исследовательского института органической химии и технологии (ГУП ГосНИИОХТ). Область научных интересов: токсины растительного, животного и микробного происхождения, механизмы их действия.

СЕРГЕЙ ИВАНОВИЧ МАЛЕКИН — доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией биорегуляторов ГУП ГосНИИОХТ. Область научных интересов: биоорганическая химия, соотношение структура-активность природных и синтетических биологически активных соединений.

111024 Москва, шоссе Энтузиастов, 23, ГУП ГосНИИОХТ, тел. (095) 273-87-03, факс (095) 273-27-70.

САМИРА БУГХЛАЛА — аспирант лаборатории клеточного иммунитета Онкологического научного центра им. Н. Н. Блохина (ОНЦ) РАМН. Область научных интересов: иммуномодулирующее действие природных биологически активных веществ.

МИХАИЛ ВАЛЕНТИНОВИЧ КИСЕЛЕВСКИЙ — доктор медицинских наук, заведующий лабораторией клеточного иммунитета ОНЦ РАМН. Область научных интересов: биотерапия рака, механизм цитотоксического действия эффекторов противоопухолевого иммунитета.

115478 Москва, Каширское шоссе, 24, ОНЦ РАМН, тел. (095) 324-27-94.

В работах последних лет по стратегии лечения рака выделяются две проблемы — регуляция иммунного статуса организма и химиотерапевтическое воздействие, приводящее к гибели опухолевых клеток. Развитие второго направления привело к созданию нового поколения препаратов, действие которых основано на принципе адресной доставки цитотоксических агентов к клетке-мишени. В настоящее время синтезировано значительное количество препаратов (иммунотоксинов), в которых в качестве эффекторной части молекулы выступают рибосоминактивирующие белки или их субъединицы (рицин, абрин, дифтерийный токсин, шигатоксин и др.) [1–5]. Следует отметить, что при создании иммунотоксинов наиболее часто используется рибин или его субъединица А, что связано в основном с большей доступностью этого токсина для исследований. Сообщается о доклинических испыта-

ниях иммунотоксинов с А-цепью рибина при лечении лейкемии и лимфомы [6], множественной миеломы [7] и др.

Вместе с тем существенной проблемой в клиническом использовании иммунотоксинов была и остается избирательность транспорта цитотоксического агента к клетке-мишени. Поиск новых переносчиков цитотоксинов, высокоспецифично взаимодействующих с клеткой-мишенью, среди моноклональных антител, молекулярных, генетических или метаболических маркеров опухолевых клеток, вирусоподобных структур [8] и т.д. приводит во многих случаях к созданию чрезвычайно дорогостоящих лекарств.

Наряду с химиотерапией получает развитие новое направление противоопухолевой терапии — биотерапия. Это метод лечения рака путем активизации естественных защитных механизмов, в которых централь-