

На правах рукописи

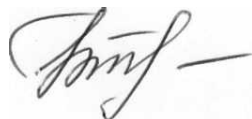
БАХРОМИ
Мунаввара Тохирджановна

ФАРМАКО-БИОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ «ТРИОИН»-А
(экспериментальное исследование)

**14.03.06 - фармакология,
клиническая фармакология**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук



Душанбе-2010

Работа выполнена в лаборатории фармакологии Института химии им. В.И. Никитина АН Республики Таджикистан и отделе клинической биохимии института гастроэнтерологии МЗ РТ

Научные руководители: доктор медицинских наук, профессор,
академик АН РТ
Хайдаров К.Х.

доктор химических наук, профессор
Кадыров А.Х.

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор
Асадуллаев С.Х.

доктор биологических наук, профессор
чл.корр. Академии образования РТ
Бобиев Г.М.

Ведущая организация: Государственный научно исследовательский
институт питания министерства энергетики
и промышленности Республики Таджикистан

Защита диссертации состоится 21 декабря 2010г. в 13 часов на заседании диссертационного совета КМ 047.003.01 при институте химии им. В.И. Никитина АН Республики Таджикистан по адресу: 734063, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2.

Сайт института: www.chemistry.tj. E-mail: rif52@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Института химии им. В.И. Никитина АН Республики Таджикистан

Автореферат разослан «19» ноября 2010 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук



Рахимов И.Ф.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Проблема желчнокаменной болезни является сложной и многоплановой, связанной с прогрессирующим ростом уровня заболеваемости, экономическими потерями, временной утратой трудоспособности, а иногда и инвалидностью в трудоспособном возрасте.

Кроме того, вопросы соответствующей диагностики и лечения ее осложнений, опасных для жизни больных, остаются окончательно не решенными, привлекая внимание широкого круга практикующих врачей, клиницистов, биохимиков, фармакологов и других научных исследователей.

Только в странах СНГ по поводу острого и хронического холецистита ежегодно производится более 150000 оперативных вмешательств, в т. ч. 60% из них – у лиц пожилого и старческого возраста.

В таких случаях зачастую наблюдаются тяжелые сопутствующие заболевания, при большом операционном риске. Следовательно оперативные методы лечения резидуальных и рецидивных камней не лишены недостатков. На повторную операцию больные соглашаются с большим трудом, из-за состояний связанных с функциональными изменениями со стороны печени, а также наличия послеоперационного спаечного процесса. При наличии противопоказаний к выполнению папиллосфинктеротомии или неудачах, возникающих при удалении желчных камней через дренирующий общий проток, предпочтительными являются методы их растворения.

Вследствие этого, поиск наиболее эффективных и безвредных препаратов, растворяющих холестериновые и пигментные желчные камни, остается по прежнему одной из актуальных научных проблем, решению которых посвящено наше исследование.

Цель исследования: разработка оптимального метода получения литолитического препарата «Триоин» на основе производных жирных и желчных кислот и экспериментальное обоснование показаний к его применению в качестве гипотензивного и желчегонного средства.

Задачи исследования:

- разработка технологии получения «Триоин»-а;
- определить способность раствора «Триоин»-а растворять холестериновые камни в желчном пузыре и желчных протоках (in vitro);
- изучить литолитические свойства «Триоин»-а (in vivo);
- изучить влияние раствора «Триоин»-а на сердечно-сосудистую систему;
- изучить острую и хроническую токсичность раствора «Триоин»-а;

- выявить действие раствора «Триоин»-а на функции отдельных органов в остром эксперименте.

Научная новизна.

Впервые разработан метод получения «Триоин»-а на основе производных желчных и высших жирных кислот.

Экспериментально установлено, что раствор «Триоин»-а является эффективным средством для растворения холестериновых и пигментных камней в желчном пузыре и желчных протоках (in vitro и in vivo).

Впервые дана полная фармако-биохимическая характеристика и экспериментальное обоснование для его клинического исследования в качестве желчегонного, гипотензивного и литолитического средства.

Практическая значимость.

1. Разработан метод синтеза «Триоин»-а, получен соответствующий патент № ТЈ 358 зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Республики Таджикистан от 30.07.2010г.

2. В экспериментальных условиях «Триоин» растворяет холестериновые и пигментные камни желчного пузыря и желчных протоков (in vitro) в 2 раза интенсивнее, чем препараты, использованные в медицинской практике.

Положения, выносимые на защиту:

- Синтезированный «Триоин» обладает желчегонным и литолитическим свойствами, не оказывает токсического действия на лабораторных животных и на окружающую среду.

- Исследовано влияние раствора «Триоин»-а на физико-химические свойства дестабилизированной желчи у лабораторных животных при холелитиазе.

Достоверность полученных результатов подтверждается следующим:

- высокой чувствительностью и специфичностью использованных биохимических, физико-химических и фармакологических методов исследования;

- проведением статистической обработки полученных экспериментальных результатов общепринятыми методами.

Апробация работы.

Основные положения диссертационной работы доложены: – на расширенном заседании лабораторий фармакологии, органического синтеза и гетероциклических соединений института химии АН РТ (Душанбе, 2008); – на заседании отдела клинической биохимии института гастроэнтерологии МЗ РТ (Душанбе, 2009); – на годичной научно-практической конференции

молодых ученых «Современная медицина и новые технологии» (Душанбе, 2010); – на научно-практической конференции, Республиканского медицинского колледжа (Душанбе, 2010).

Публикации.

Материалы диссертации работы опубликованы в 9 изданиях: 5 — в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, 4 — в трудах научно-практических конференций. Получен один патент Республики Таджикистан.

Личный вклад автора в работу.

Исследования проводились в соавторстве, личный вклад состоял в постановке задач исследования, определении путей и методов их решения, получении и обработке экспериментальных данных, анализе и обобщении результатов экспериментов, формулировке положений и основных выводов диссертации.

Структура и объем диссертации.

Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав, основных результатов и выводов, списка использованной литературы из 147 источников. Общий объем — 102 страницы компьютерного набора, иллюстрированных 11 таблицами и 12 рисунками.

Материал и методы исследования

Эксперименты были проведены на 110 белых крысах обоего пола массой 140-205 г, 20 белых мышах массой 20-25 г, 10 морских свинках массой 260-300 г, 20 золотистых хомячках, 6 кроликах и 6 кошках. Поставлено 86 серий опытов, проведено более 160 анализов биологических проб.

Предметом исследования явился образец «Триоин»-а, синтезированный в Институте химии им. В.И. Никитина АН РТ.

Образцы холестерина желчных камней взяты у больных при хирургическом вмешательстве. Количественное содержание холестерина, желчных и жирных кислот в составе камней определяли методом газожидкостной хроматографии.

Разработана оптимальная методика синтеза метиловых эфиров жирных и желчных кислот с целью определения их содержания в биологических объектах. Для определения степени чистоты исходных и различных фракций очищенных веществ использован метод тонкослойной хроматографии, для подтверждения их индивидуальности — метод газожидкостной хроматографии.

В сыворотке крови животных определяли ряд показателей, отражающих функциональное состояние печени и желчевыделительной

системы: содержание общего билирубина, жира, холестерина, жирных кислот, желчных кислот; изучали активность ферментов процесса переаминирования (АсАТ, АлАТ) и щелочной фосфатазы.

Содержание общего билирубина определяли по Иендрашику-Графу (Колб, Камышников, 2003).

Использовали биохимический анализатор АБ–ФК-02-(НПП-ТМ) и метод газожидкостной хроматографии. Содержание фосфолипидов в желчи определяли по методу (Марховского Ю.Х., 1985).

Индекс литогенности желчи и холатохолестериновый коэффициент рассчитывали математически как отношение суммарных желчных кислот к холестерину отдельно для каждой порции желчи. Содержание индивидуальных желчных кислот в желчи изучали методом газожидкостной хроматографии на приборе «Хром-5» с использованием пламенно-ионизационного детектора (Кадыров А.Х., 2009).

Экспериментальный холелитиаз и сопутствующие гиперхолестеринемия и гиперлипидемия вызывали с помощью метода, разработанного Зубайдовой Т.М., (1993) т.е. применением сухой холелитогенно-гиперлипидемической диеты (ХГЛД).

Цифровые показатели исследований обработаны методом вариационной статистики. Для оценки достоверности различий использован критерий Стьюдента. Связь между признаками определялась вычислением коэффициента корреляции (Белоус А.К., Колодяжный В.И., 1971).

ПОЛУЧЕНИЕ «ТРИОИН»-А И ИССЛЕДОВАНИЕ ЕГО ЛИТОЛИТЕСКИХ СВОЙСТВ

Разработка наиболее приемлемых способов некоторых производных стероидов, а также высших жирных кислот, на основе использования их карбоксильных и эфирных групп открывает новое направление в фармако-биохимической области, которое позволяет вести направленное создание новых препаратов, растворяющих холестериновые желчные камни.

Получение и свойства «Триоин»-а

Получение «Триоин»-а в качестве препарата растворяющего холестериновые и пигментные камни желчного пузыря и желчных протоков, заключается в следующем. Брали смесь моноглицеринового эфира каприловой кислоты, моноглицериновый эфир хенодезоксихолевой кислоты и добавляли моноглицериновый эфир пеларгоновой кислоты, который синтезировали путем взаимодействия натриевой соли пеларгоновой кислоты с α -монохлорглицерином, осуществляемом при температуре 65-70°C в течение 12-13 ч.

В первую очередь был осуществлен синтез трех сложных эфиров на основе производных холановых и высших жирных кислот.

Поскольку природные желчные и высшие жирные кислоты могут являться средством лечения желчнокаменной болезни, исследование было направлено на поиск путей обоснования их применения в медицинской практике, а также через выявление взаимосвязи их структуры и биологической активности. При этом в качестве вторичного компонента для конденсации подбирали соединения, которые известны как составные части биологически активных веществ, в частности лекарственных препаратов.

При этом осуществлен синтез моноглицеринового эфира хенодезоксихолевой кислоты, который по структуре близок к известным холелитическим препаратам.

Нейтрализация хенодезоксихолевой кислоты осуществлена реакцией взаимодействия с метилатом натрия с последующим осаждением соли в насыщенном растворе хлористого натрия. Натриевую соль кислоты можно получить также с хорошим выходом путем взаимодействия хенодезоксихолевой кислоты с гидроксидом натрия в среде диоксана.

Проведенные нами исследования показали, что натриевая соль хенодезоксихолевой кислоты легко реагирует с α -монохлоргидрином глицерина при температуре 80-85⁰С в растворе абсолютного метилового и этилового спиртов в течение 3-4 ч. Выход целевого продукта моноглицеринового эфира хенодезоксихолевой кислоты составляет 86%.

Синтез моноглицидного эфира хенодезоксихолевой кислоты был осуществлен путем взаимодействия натриевой соли соответствующей кислоты с эпихлоргидрином в запаянной ампуле при 65⁰С в течение 5-6 ч.

Синтез препаратов, растворяющих холестериновые желчные камни в желчных протоках, осуществлен на основе реакции глицидного эфира и хенодезоксихолевой кислоты с использованием глицидной группы.

Изучено поведение эпоксидной группы в молекуле глицидного эфира хенодезоксихолевой кислоты. Реакция последнего с 20% раствором карбоната натрия показала, что при температуре 30-40⁰С за 2-3 ч наблюдается образование глицеринового эфира хенодезоксихолевой кислоты почти количественным выходом.

Полученные производные желчных кислот, обладают по сравнению с известными соединениями этой же группы наибольшей способностью растворять холестериновые камни. Как показывают эксперименты, глицериновый эфир хенодезоксихолевой кислоты способствует усилению активности ферментативной системы, что ведет к массивной утилизации холестерина в желчные кислоты.

Это, по-видимому, объясняется тем, что соединение под действием кишечной флоры подвергается гидролизу по сложноэфирной группе. При этом соответственно возрастает концентрация свободной хенодезоксихолевой кислоты в желчи. В свою очередь это приводит к ускорению растворения холестериновых желчных камней.

Поиск по изысканию новых биологически активных веществ в ряду функциональных производных пеларгоновой кислоты был проведен по пути разработки препаративного метода синтеза глицеринового эфира пеларгоновой кислоты.

Опытами было показано, что натриевая соль пеларгоновой кислоты легко реагирует с α -монохлоргидрином глицерина при 80⁰С в растворе абсолютного этилового спирта в течение 4-5 ч. Выход целевого продукта глицеринового эфира пеларгоновой кислоты составляет 83%.

Эксперименты показали, что значительно более эффективным растворителем холестериновых камней, чем производные холановой кислоты, является глицериновый эфир пеларгоновой кислоты.

Аналогичным образом нами был синтезирован глицериновый эфир октановой кислоты.

Нами найден оптимальный вариант получения «Триоин»-а на основе 45% глицеринового эфира пеларгоновой кислоты, 45% глицеринового эфира октановой и 10% глицеринового эфира хенодезоксихолевой кислоты, с целью изучения его на способность растворять холестериновые камни.

Таким образом, смеси этих трех веществ в работе идут под названием «Триоин».

Исследование литолитических свойств «Триоин»-а (in vitro)

Препарат «Триоин» разработан по специальной методике на основе сложных эфиров жирных и желчных кислот в Институте химии им. В.И. Никитина. Холестериновые желчные камни были изъяты у больных с желчнокаменной болезнью при хирургическом вмешательстве.

Анализировались многогранные камни диаметром 0,9-1,4 см, рассортированные по массе на 14 пар. Средняя масса камней была 250 мг и средняя процентная разница между массой камней была 16 мг (6,8%). Количественное содержание холестерина в камнях определяли методом газожидкостной хроматографии (рис. 1).

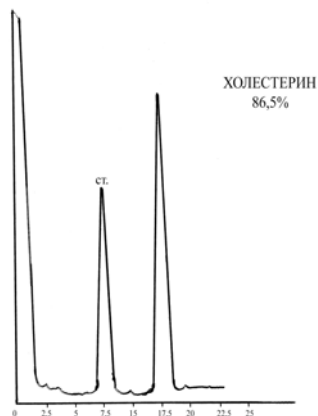


Рис. 1. Хромограмма содержания холестерина в желчном камне

Среднее содержание холестерина составляло 86,5% от массы камней. При газохроматографическом анализе в качестве внутреннего стандарта использован раствор трикосана.

Проведено сравнительное изучение скорости растворения камней «Триоин»-ом и другими растворителями в пересчете на 100 мл.

В табл. 1 приводится количество растворенных холестериновых камней на 100 мл различных органических растворителей при температуре 37°C.

Учитывая токсичность органических веществ, для растворения холестериновых желчных камней лучше всего использовать «Триоин».

Таблица 1

**Растворимость холестериновых камней при температуре 37°C
в органических растворителях**

Название растворителя	г/100 мл
Диэтиловый спирт	13,7
Монооктаноин	11,7
Триоин	12,8
Олеиновая кислота	14,6
Октиловый спирт	17,2
Этиловый спирт	3,2
Триоктаноин	5,3

Для определения скорости растворения холестериновых камней в растворе «Триоина» проведены серии экспериментов в сравнении с

используемым в зарубежной практической медицине препаратом 50%-ного раствора холата натрия и монооктаноина, выпускаемым под шифром (СAMPUL – 8210). (Рис. 2).



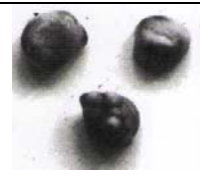
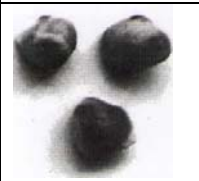

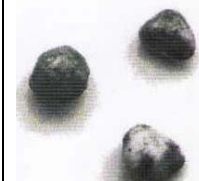






Название препарата	0	2	4	6
20 мл 50% -го раствора холата натрия				
20мл раствора монооктаноина (Сampul 8210)				
20 мл раствора «Триоин»				

Рис. 2. Продолжительность растворения холестериновых камней в днях

Установлено, что холестериновые камни желчного пузыря в растворе монооктаноина растворяется на 8-й, в растворе «Триоин»-а – на 6-й день. Что касается 50% раствора холата натрия, то только на 48-й день началось их дробление.

От известных препаратов «Триоин» отличается своей индифферентностью к тканям, отсутствием раздражающего эффекта и воспалительной реакции при непосредственном введении в желчные пути. Раствор «Триоин» хорошо смачивает камни и в соединении с желчью образует мелкую диспергированную эмульсию.

Полученные результаты свидетельствуют, что «Триоин» превосходит известный препарат СAMPUL-8210 и лучше растворяет желчные холестериновые камни. (Рис. 3).



Рис. 3. Растворимость холестерина в растворе холате натрия, монооктаноин и триоине

Поведение образца кристаллического холестерина в растворе известного монооктаноина, холата натрия и «Триоин»-а, изучали с использованием дискового аппарата с большой скоростью взбалтывания. Растворение моногидрата холестерина намного быстрее происходило в монооктаноине и «Триоин»-е, чем в растворе 50% холата натрия.

Изучение литолитических свойств «Триоина» (in vivo)

Свойства «Триоин»-а ингибировать синтез общих липидов, уменьшать концентрацию холестерина, триглицеридов, β -липопротеидов, повышать количество желчных кислот, содержание фосфолипидов в желчи послужили основой для изучения активности его при экспериментальном холелитиазе.

Опыты проводились на 20 хомяках обоего пола массой тела от 55 до 70 г. Животные были распределены на следующие группы:

1. Животные интактные, находившиеся на обычном рационе вивария;
2. Животные нелеченые, получавшие в течение 6 мес сухую ХГЛД (контроль);
3. Животные, которым с целью растворения желчных камней вводили раствор «Триоина» непосредственно в желчные пути, через Т-образную дренажную трубку, вставленную в общий желчный проток
4. Животные, которым по той же схеме вводили «Моноактаноин» непосредственно в желчные пути через Т-образную трубку, вставленную в общий желчный проток.

Об эффективности изучаемых препаратов судили:

1. По количеству и проценту оставшихся живыми в течение 6 мес хомячков;
2. По числу и проценту животных с наличием конкрементов;
3. По изменению содержания основных желчных кислот;
4. По состоянию химизма собранной пузырной желчи у опытных и контрольных хомячков.

После забоя животных методом декапитации вскрывали брюшную полость, затем, после сбора желчи, производили подсчет и измерение конкрементов.

В желчном пузыре 4 (80%) из 5 хомячков, получавших в течение 6 мес сухую ХГЛД, обнаружены конкременты разного размера.

Их среднее число на одного животного составило $3,9 \pm 0,1$ ($p < 0,001$) против $0,12 \pm 0,01$ у интактных животных (табл. 2, рис. 4).

Таблица 2

**Темп развития холелитиаза и характер конкрементов
желчного пузыря у интактных и опытных золотистых хомячков,
получавших в течение 6 мес. ХГЛД
(среднее по 6 животных в каждой группе)**

Серия опытов и дозы в мг/кг массы тела (число животных)	Число и % животных с конкрементами в желчном пузыре	Среднее число конкрементов на 1 животное		
		Всего	Камни от 2,3 до 5,5 мм	Песок
Интактные (обычная диета)	1 (20%)	$0,12 \pm 0,01$	$0,125 \pm 0,2$	—
Контроль+ХГЛД	4 (80%)	$\frac{3,9 \pm 0,1}{0,0002}$	$\frac{1,5 \pm 0,06}{0,0002}$	$2,2 \pm 0,2$
«Триоин»	0,5 (10%)	0,012	0,012	—
Монооктаноин	0,75 (15%)	$\frac{0,72 \pm 0,004}{0,002}$	$\frac{0,5 \pm 0,05}{0,001}$	$\frac{0,6 \pm 0,16}{0,001}$

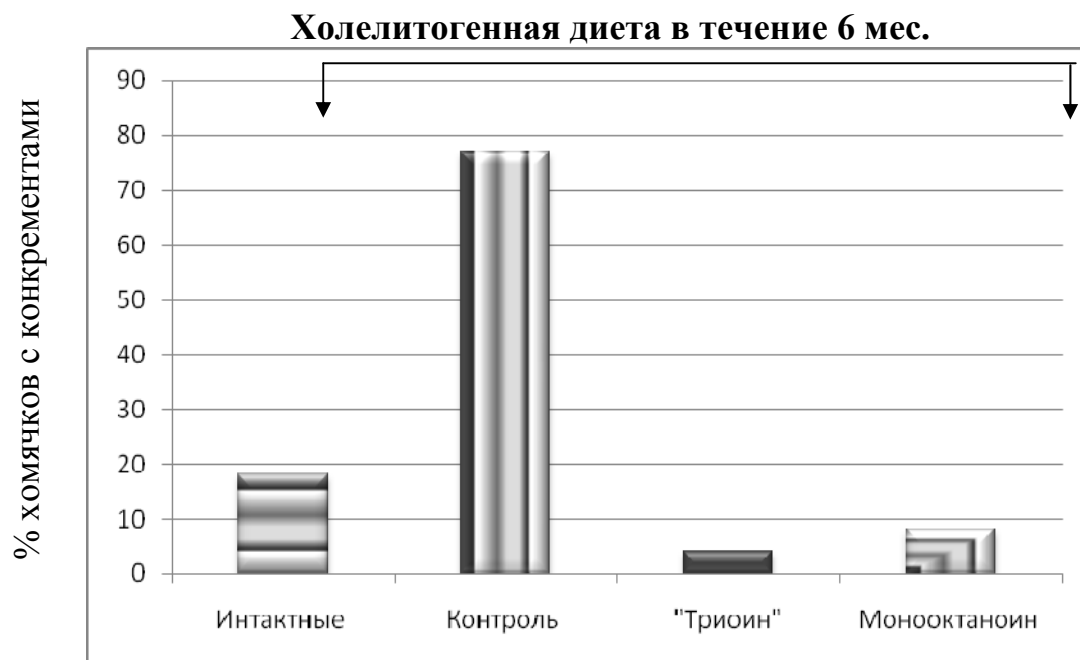


Рис. 4. Лечебное действие «Триоин»-а при экспериментальном холелитиазе

Желтые и коричневые конкременты размером 2 – 2,2 мм были дифференцированы как песок.

В контрольной группе среднее число камней размером 2,3-5,5 мм составляло $3,97 \pm 0,08$, среднее количество песка – $2,2 \pm 0,2$.

Исследование желчного пузыря интактных хомячков только в 2 случаях (9,3% из 5) обнаружило наличие камней размером 2,3-5 мм, среднее количество которых составило $0,125 \pm 0,2$ шт.

При дифференцировании конкрементов желчного пузыря, собранных у опытных контрольных животных в зависимости от их окраса, были обнаружены следующие закономерности: все (100%) конкременты желчного пузыря интактных животных имели черный окрас.

Конкременты желчного пузыря хомячков, получавших в течение 6 мес сухую ХГЛД, в 85% случаев имели бледно-желтый окрас. Конкрементов с коричневый окрасом было 9,6%.

В группе из 5 животных, которым «Триоин» вводили в течение 3 ч. через Т-образную дренажную трубку со скоростью 0,5-1мл/ч, только в желчном пузыре у 1 из них (0,3%) обнаружен 1 камень размером 1,6 мм. Песок и мелкие камни во всех случаях отсутствовали.

Растворяющая способность «Триоин»-а усиливается за счет глицеринового эфира хенодезоксихолевой кислоты. Таким путем добились положительного результата при исследовании литолитических свойств «Триоина» (in vivo).

В другой группе животных, при таком же названном способе введения монооктаноина и ежедневно получавших в течение 6 мес. сухой корм ХГЛД, в 85-86% случаев конкременты имели бледно-желтую окраску.

В данном случае у 1 животного в желчном пузыре (0,6%) из 5 был обнаружен 1 камень размером 2,1 мм. При этом песок и мелкие камни во всех случаях также отсутствовали.

Таким образом, растворяющая способность «Триоин»-а была в два раза выше, чем монооктаноина.

«Триоин» может быть эффективным при наличии холестериновых и пигментных камней в желчном пузыре и желчных протоках 80-90% случаев.

У хомячков, получавших в течение 6 мес. в качестве корма холелитогенную диету, резко нарушается химизм желчи в сторону повышения степени ее литогенности. Статистически достоверно повышалось количество холестерина и особенно билирубина ($P < 0,001$) в желчи (табл. 3).

Содержание суммарных желчных кислот уменьшалось в 3 раза ($P < 0,001$), концентрация фосфолипидов – почти в 2,5 раза ($P < 0,001$). Холатохолестериновый коэффициент у контрольных животных – в 2,5 раза ($P < 0,01$).

Таблица 3

Химизм желчи у золотистых хомячков, получавших в течение 6 мес. холелитогенно-гиперлипидемическую диету (среднее по 6 животных в каждой группе)

Серия опытов	Показатели химизма желчи $\bar{M} \pm m$ $P <$				
	Общий холестерин, ммоль/л	Общий билирубин, мкмоль/л	Сумма желчных кислот мкмоль/л	Общие фосфолипиды ммоль/л	Холато-холестериновый коэффициент (ХХК)
Интактные	5,4±0,007	6,3±0,01	3,2±0,02	3,4±0,028	0,59±0,005
Контроль + ХГЛД	<u>7,8±0,016</u> 0,08	<u>3,2±0,001</u> 0,001	<u>1,02±0,01</u> 0,001	<u>1,4±0,001</u> 0,011	0,13±0,019

Примечание: значение P для контрольной серии даны по сравнению с интактными животными.

С целью проведения достоверного биохимического исследования по изучению содержания желчных кислот в желчи у хомячков, получавших ХГЛД в течение 6 мес, по сравнению с интактными использовали метод газожидкостной хроматографии.

В качестве иллюстрации приводим 2 примера.

На рис. 5 показаны хроматограммы метиловых эфиров желчных кислот в желчи интактных и контрольных животных до и после воздействия ХГЛД.

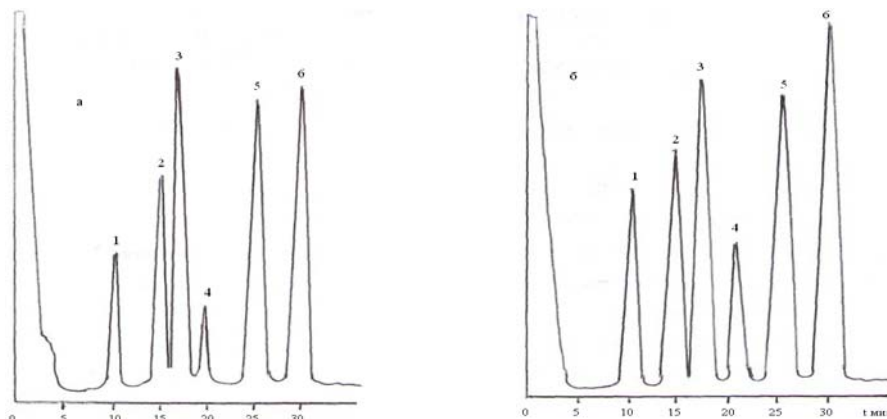


Рис. 5. Хроматограмма метиловых эфиров желчных кислот в желчи экспериментальных животных: (а) – до и (б) – после приема ХГЛД. 1 – ЛХК; 2 – ДХК; 3 – ХДХК; 4 – Дег.ХК; 5 – стандарт, 2,3-дигидрокси-12-кетометилхолат; 6 – ХК.

Как видно из хроматограммы, до кормления животных содержание дезоксихолевой кислоты (ДХК) составило 0,38, хенодезоксихолевой кислоты (ХДХК) – 0,98, холевой кислоты (ХК) – 0,88 мг/мл, при содержании литохолевой кислоты (ЛХК) – 0,26 мг/мл.

В желчи хомячков резко изменялось содержание желчных кислот в сторону повышения ее литогенности.

В группе контрольных животных количество ЛХК составило 0,41, ДХК – 0,63, ХДХК – 1,11, ХК – 1,81 мг/мл.

В случае повышения степени литогенности желчи у животных увеличивалось содержание холевой кислоты (рис. 5).

Таким образом, сухая холилитогенная диета при длительном введении способствовала развитию холилитиаза не менее чем у 86% хомячков. Механизм образования желчных камней связан с повышением синтеза холестерина и билирубина, при резком повышении уровня холевой кислоты в желчи.

«Триоин» проявляет выраженную способность к растворению холестериновых и пигментных камней в желчном пузыре и протоках по сравнению с известным препаратом монооктоаином.

Влияние «Триоин»-а на сердечно-сосудистую систему

Влияние «Триоина» на сердечно-сосудистую и дыхательную системы изучено в опытах на 20 белых крысах массой 200-220 г. В дозах 50, 100, 200, 300 и 400 мг/кг массы, он, разведенный в подсолнечном масле в виде

эмульсии, при внутривенном и внутривентральном введении не оказывал какого-либо изменения кровяного давления и ритма дыхания, в дозах до 1000 мг/кг массы кровяное давление падало на 43% и держалось на этом уровне в течение 2-2,5 ч, дыхание становилось глубоким, без изменения частоты дыхательного ритма.

Изучение влияния «Триоин»-а на артериальное давление и периферические сосуды проводили на кошках массой 3 – 4 кг под уретановым наркозом (1,2 г/кг). Препарат вводили в вену бедра. В дозе 20 мг/кг он вызывал повышение кровяного давления на 15-17 мм. рт. ст. продолжительностью 25-30 мин. с последующим снижением до исходного уровня и ниже. Частота сердечных сокращений становилась реже на 20-22%, амплитуда пульсовой волны значительно увеличивалась, дыхательная деятельность оставалась без изменений. Доза 10 мг/кг вызывала едва заметное повышение кровяного давления, наблюдавшееся в течение 15-20 мин. Наблюдалось незначительное увеличение пульсовой волны и замедление темпа сердечной деятельности – на 8-10%. Через 35-40 мин. заметно снижалась частота сердечных сокращений – на 25-30%, увеличивалась пульсовая волна в 1,4 раза (рис. 6), одновременно отмечено урежение дыхания с небольшим увеличением амплитуды.

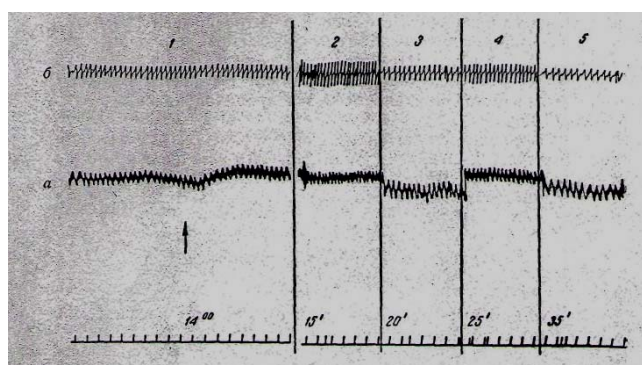


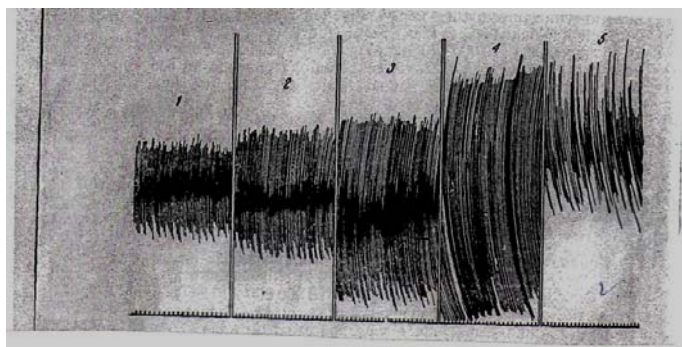
Рис. 6. Изменение (а) – артериального давления и (б) – дыхание у кошки под влиянием «Триоин»-а в дозе 0,1 мг/кг: 1 – до введения; 2- через 15 мин; 3 – через 20 мин; 4 – через 25 мин; 5 – через 35 мин после введения.

Влияние «Триоин»-а на артериальное давление исследовали также на здоровых интактных кроликах и кроликах с экспериментально вызванным атеросклерозом. Содержание холестерина в сыворотке крови достигало при этом в среднем до 840 мг % или 21,7 ммоль/л. У подопытных животных при вскрытии констатированы атеросклеротические бляшки в аорте и в крупных отходящих от нее сосудах. У здоровых животных «Триоин» в дозе 0,03-0,05 мг/кг вызывал повышение артериального давления на 10-13 мм. рт. ст.; у

кроликов с атеросклерозом прессорная реакция была выражена больше, особенно в аспекте ее длительности, в среднем составивших 12,2 мин., у здоровых кроликов – 6,3 мин.

Латентная фаза действия «Триоин»-а у кроликов с атеросклерозом была длительнее и доходила до 26 с, в то время как у здоровых животных она равнялась 3-5 с. Эти особенности действия «Триоина» у кроликов с атеросклерозом можно связать с морфологическими изменениями в аорте, отходящих от нее сосудах и сердце, в частности в интрамуральных ганглиях, а также с изменениями общей реактивности сердечно-сосудистой системы.

Влияние «Триоин»-а изучали на изолированных по методу Штрауба сердцах кошек *in Situ*. Животные обоих полов находились под искусственным дыханием и уретановым наркозом (1,2 г/кг). «Триоин» в дозах 0,4–0,5 мг/кг, введенный в вену, увеличивал амплитуду сердечных сокращений в 2-3 раза, урежал частоту сердечных сокращений на 15-20 % (рис. 7).



**Рис. 7. Изменение деятельности сердца *in Situ* у кошки под влиянием «Триоин»-а в дозе 0,5 мг/кг:
1 – до введения; 2 – через 4 мин; 3 – через 9 мин; 4 – через 20 мин;
5 – через 23 мин. после введения.**

Доза 0,1 мг/кг сначала вызвала увеличение амплитуды сердечных сокращений, затем – урежение темпа сердечной деятельности на 20-25%, при последующем учащении. Наблюдалась также синюшность сердца, иногда перистальтизм и остановка его в фазе систолы (рис. 8). Замедление темпа сердечных сокращений, хотя и менее выраженное, отмечалось как при целых и неблокированных блуждающих нервах, так и после ваготомии и атропинизации их. Следовательно, урежение сердечных сокращений связано с влиянием «Триоин»-а на нервно-мышечный аппарат сердца и на центр блуждающих нервов.

Таким образом, «Триоин» избирательно действует на нервно-мышечный аппарат сердца различных животных, вызывает удлинение диастолы и усиление систолы подобно другим известным препаратам.

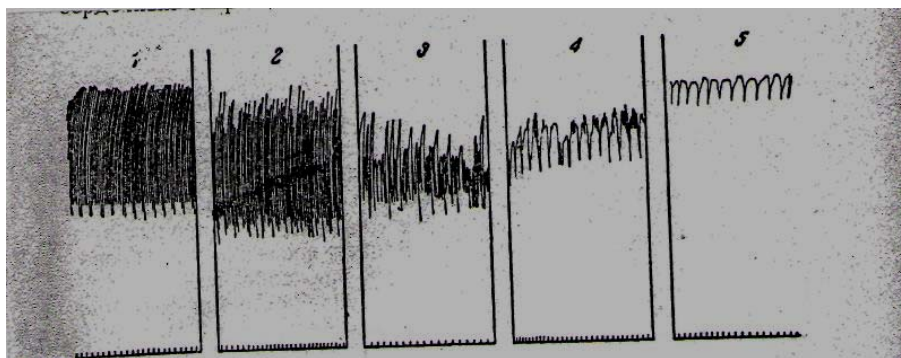


Рис. 8. Изменение деятельности сердца in Situ у кошки под влиянием «Триоин»-а в дозе 0,1 мг/кг:
 1- до введения; 2 – через 4 мин; 3 – через 9 мин ; 4 – через 20 мин;
 5 – через 23 мин. после введения.

Острая токсичность «Триоин»-а

Эксперименты проводили на 20 белых мышах массой 25-27 г и 16 беспородных белых крысах обоего пола массой 120-130 г. Раствор «Триоин»-а вводили в дозах от 10 до 50 мг/кг массы. Каждая доза «Триоина» испытывалась на 4 животных. Контрольные крысы получали соответствующий объем подсолнечного масла. Интервал наблюдения за подопытными животными при определении острой токсичности «Триоин»-а составил 10 сут. При внутрижелудочном его введении в дозах 10-50 мг/кг массы каких-либо изменений в общем состоянии животных не наблюдалось.

При увеличении дозы до 10-20 мг при парентеральном и оральном введении наблюдались единичные случаи летальных исходов, свыше 14 мг/кг для белых мышей и 30-50 мг/кг для белых крыс через 30-50 мин. (в зависимости от пути введения) у животных возникало двигательное возбуждение, учащение дыхания и повышение чувствительности к механическим, световым и звуковым раздражителям. Через 40 мин возбуждение сменялось угнетением. Гибель животных после введения токсических доз «Триоин»-а во всех случаях наступала вследствие остановки дыхания.

ЛД-50 «Триоин»-а при внутрижелудочном введении белым мышам равнялись 1320 мг/кг, белым крысам – 3300 мг/кг (табл. 4).

При подкожном введении «Триоин»-а общая картина отравления в сущности не отличалась от описанной выше, однако явления интоксикации развивались быстрее, приводя к гибели животных в более ранние сроки.

Таблица 4

Токсичность «Триоин»-а для лабораторных животных

Пути введения	ЛД минимальная мг/кг массы	ЛД-50 мг/кг	ЛД-100 г/кг
Для белых мышей			
Внутрижелудочно	10300	1320	1739
Подкожно	8500	1160	1351
Для белых крыс			
Внутрижелудочно	1690	3300	3466
Подкожно	1220	3680	2896

Примечание: «Триоин» из-за низкой степени токсичности вводился в смеси с подсолнечным маслом (1:1) дробно по 1 мл на 25-30 г массы тела мышей или на 100 г массы тела крыс через каждые 30-40 мин.

ЛД–50 «Триоин»-а при подкожном введении для белых мышей составляла 1160 мг/кг, для белых крыс – 3680 мг/кг массы.

ЛД–100 при внутрижелудочном введении составляла для белых мышей 1739 мг/кг, для белых крыс – 3466 мг/кг массы.

Следовательно, «Триоин» является более токсичным для белых мышей. Возможно, это связано с введением большого объема «Триоин»-а, причем его низкая токсичность – с тем, что он резко стимулирует потоотделение и диурез, при которых элиминируется из организма.

Результаты изучения хронической токсичности «Триоин»-а

Исследование безвредности раствора «Триоин»-а в условиях хронического (пятимесячного) эксперимента проведено на 20 белых беспородных крысах массой 120–150 г с использованием перорального способа введения.

Животные были распределены на 4 группы: 1-я – контрольные, получали подсолнечное масло в дозе 2 мг/кг; 2-я – «Триоин» в дозе 20; 3-я – в дозе 35; 4-я – в дозе 50 мг/кг массы.

«Триоин» вводили внутрижелудочно ежедневно 1 раз в сутки в течение 5 мес. Наблюдения за животными на протяжении хронического эксперимента показали, что «Триоин» в названных дозах не оказывал отрицательного влияния на поведение белых крыс.

Животные, получавшие «Триоин», по внешнему виду не отличались от контрольных, имели гладкий шерстный покров, сохраняли двигательную активность, охотно поедали корм.

У животных, получавших в течение 1 мес. «Триоин» в дозе 20, 35, 50 мг/кг, прирост массы в среднем составлял 13–14,3% против 3% у контрольных крыс. На протяжении 3 и 5 мес. прирост массы у опытных и контрольных животных во всех случаях был идентичным (табл. 5).

Таблица 5

**Прирост массы крыс в течение пятимесячного
внутрижелудочного введения различных доз «Триоин»-а
(среднее по 6 животных в каждой группе)**

Серия опытов и дозы в мг/кг массы	Исходная массы, принятая за 100%	Динамика массы, $\frac{в \text{ г}}{в \%}$ через				
		1 мес.	2 мес.	3 мес.	4 мес.	5 мес.
Интактное подсолнечное масло – 2 мг/кг	$\frac{130 \pm 0,19}{100}$	$\frac{134 \pm 0,6}{101}$	$\frac{137 \pm 0,6}{103}$	$\frac{142,5 \pm 0,6}{108}$	$\frac{150,3 \pm 1,07}{113}$	$\frac{163 \pm 2,9}{123}$
«Триоин» - 20 мг/кг	$\frac{136 \pm 0,6}{100}$	$\frac{169,7 \pm 0,4}{113}$	$\frac{169,7 \pm 0,4}{118}$	$\frac{174,1 \pm 0,8}{122}$	$\frac{185,2 \pm 0,86}{131}$	$\frac{205,8 \pm 1,1}{144}$
«Триоин» - 35 мг/кг	$\frac{151 \pm 0,66}{100}$	$\frac{165,8 \pm 0,7}{105,3}$	$\frac{174,2 \pm 0,7}{111}$	$\frac{186,1 \pm 0,8}{120}$	$\frac{201,3 \pm 1,8}{127}$	$\frac{208,9 \pm 3,0}{134}$
«Триоин» - 50 мг/кг	$\frac{127 \pm 0,54}{100}$	$\frac{158 \pm 0,7}{125}$	$\frac{169,5 \pm 0,7}{134}$	$\frac{179 \pm 0,7}{140}$	$\frac{189,7 \pm 0,8}{150}$	$\frac{211,3 \pm 1,9}{167}$

Примечание: числитель – масса в г, а знаменатель – показатель массы в % по отношению к соответствующему сроку у интактных групп животных.

Влияние «Триоин»-а на антитоксическую функцию печени определяли по продолжительности барбитурового сна у животных.

Результаты экспериментов показывают, что внутрижелудочное введение «Триоина» в дозах 20, 35 и 50 мг/кг в течение 5 мес. вызывает достоверное ($P < 0,01 - 0,001$) уменьшение продолжительности барбитурового сна у подопытных животных (табл. 6).

Показатели тимол-вероналовой пробы через 3 и 5 мес. у опытных и контрольных животных во всех случаях были идентичными.

В условиях хронического эксперимента скорость элиминации бромсульфалеина из организма, находится в зависимости от активности участия гепатоцитов. Данная проба имеет важное диагностическое значение для выявления разных признаков паренхиматозного поражения печени.

Таблица 6

**Состояние антитоксической и экскреторной функции
печени у белых крыс, получавших в течение 5 мес.
внутрижелудочно «Триоин»
(среднее по 6 животных в каждой группе)**

Серия опытов и дозы в мг/кг массы	Антитоксическая функция		Экскреторная функция	
	Тимол- вераноловая проба, нм/л	Барбамилловый сон (50 мг/кг, в/б) в мин	Бромсульфалеиновая проба в мг, через	
			10 мин	30 мин
Через 2,5-3 мес от начала внутрижелудочного введения (весенний период)				
Контрольные подсолнечное масло – 2 мг/кг	0,64±0,017	90,2±10,5	10,5±1,1	5,8±0,2
«Триоин» - 20 мг/кг	0,61±0,02	<u>50,7±5,2</u> 0,01	<u>7,8±5,4</u> 0,04	<u>4,6±0,19</u> 0,03
«Триоин» - 35 мг/кг	0,62±0,25	<u>43,03±</u> 0,009	<u>6,9±1,5</u> 0,01	<u>3,9±0,48</u> 0,0008
«Триоин» - 50 мг/кг	0,64±0,011	<u>40,5±2,9</u> 0,009	<u>5,4±0,39</u> 0,0007	<u>3,6±0,5</u> 0,0007
Через 5 мес от начала внутрижелудочного введения (летний период)				
Контрольные подсолнечное масло – 2 мг/кг	0,25±0,001	1,24±16,1	12,6±0,3	6,0±0,1
«Триоин» - 20 мг/кг	0,20±0,001	<u>97,1±0,7</u> 0,09	<u>9,1±0,2</u> 0,05	<u>4,6±0,6</u> 0,05
«Триоин» - 35 мг/кг	0,18±0,001	<u>91,9±0,18</u> 0,009	<u>6,9±0,4</u> 0,05	<u>3,7±0,3</u> 0,01
«Триоин» - 50 мг/кг	0,20±0,005	<u>76,8±0,2</u> 0,001	<u>7,6±0,5</u> 0,05	<u>3,6±0,05</u> 0,001

У подопытных крыс, получавших в течение 5 мес. разные дозы «Триоин»-а, наблюдалось статистически достоверное ($P < 0,05-0,001$). ускорение скорости элиминации бромсульфалеина из организма.

Экскреторная функция печени наиболее активно проявилась у животных ($P < 0,001$), получавших в течение 5 мес. «Триоин» в дозе 50 мг/кг массы.

ВЫВОДЫ

1. Предложены оптимальные условия синтеза «Триоин»-а в реакции с участием карбоксильной группы высших жирных и желчных кислот новых биологически активных соединений с комплексом практически ценных фармакологических свойств.
2. Раствор «Триоин»-а (*in vitro*) обладает способностью растворять в желчном пузыре и желчных протоках, холестериновые и пигментные камни в 2 раза эффективнее, чем известный препарат монооктаноин.
3. «Триоин» отличается индифферентностью к тканям, отсутствием раздражающего эффекта и воспалительной реакцией при непосредственном введении в желчные пути.
4. «Триоин» оказывает желчегонное, гипохолестеринемическое, гиполипидемическое и литолитическое действие, повышает содержание хенодезоксихолевой кислоты и фосфолипидов желчи, избирательно действует на нервно-мышечный аппарат сердца животных, вызывая удлинение диастолы, усиление систолы, подобно другим известным препаратам.
5. «Триоин» является малотоксичным фармакологическим средством – внутрижелудочное ведение препарата в дозе 25, 35 и 50 мг/кг массы в течение 5 мес. не оказывает токсического воздействия на печень, нервно-эндокринную, сердечно-сосудистую, кроветворную и пищеварительную систему.

Основное содержание диссертации изложено в следующих публикациях:

1. Бахроми М.Т., Кадыров А.А. Исследование литолитических свойств «Триоин»-а // Годичная науч.-практ. конф. молодых ученых «Современная медицина и новые технологии», посвященная году образования и технической культуры. – Душанбе, 2010. – С. 210-213.
2. Бахроми М. Т., Кадыров А.Х., Хайдаров К.Х. «Триоин» – растворитель холестериновых желчных камней при желчнокаменной болезни. – Здравоохранение Таджикистана. – 2010 - №1.– С. 69-72.
3. Бахроми М. Т., Кадыров А.Х., Хайдаров К.Х. «Триоин» и его литолитические свойства (*in vivo*). – Изв. АН РТ. – 2010. - №1. – С. 74-78.
4. Бахроми М.Т., Кадыров А.Х., Хайдаров К.Х. Литолитические свойства «Триоин»-а. – Здравоохранение Таджикистана. – 2010 - №2. – С. 21-24.
5. Бахроми М.Т. Влияние сухой холелитогенной гиперлипидемической диеты на характер изменения содержания желчных кислот и других

- компонентов желчи у экспериментальных хомяков.–Вестник Авиценны. – 2010 - №3. – С. 21-24.
6. Бахроми М.Т., Кадыров А.Х., Хайдаров К.Х. Растворение желчных камней «Триоин»-ом (in vivo) // Науч.-теорет. конф. профессорско-преподавательского состава и студентов, посвященная году образования и технических знаний. – Душанбе, 2010. – С. 192-193.
 7. Бахроми М.Т., Кадыров А.Х., Хайдаров К.Х. Синтез и исследование литолитических свойств «Триоин»-а // Науч.-теорет. конф. профессорско-преподавательского состава и студентов, посвященная году образования и технических знаний. – Душанбе, 2010. – С. 193-194.
 8. Бахроми М.Т., Кадыров А.Х., Сайфудинов А.К. Определение содержания желчных кислот в желчи интактных и контрольных хомяков методом газожидкостной хроматографии // Науч.-теорет. конф. профессорско-преподавательского состава и студентов, посвященная году образования и технических знаний. – Душанбе, 2010. – С. 194-195.
 9. Бахроми М.Т., Кадыров А.Х., Хайдаров К.Х. Влияние «Триоин»-а на сердечно-сосудистую систему. – Здоровоохранение Таджикистана. – 2010. - №2 (приложение) – С. 151-153.

Изобретения

«Триоин» в качестве препарата, растворяющего холестериновые и пигментные камни желчного пузыря и желчных протоков / Патент № ТЈ 358 зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Республики Таджикистан от 30.07.2010г. // А.Х. Кадыров, М.Т. Бахроми с соавт.