

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА ТА БІОЛОГІЯ

DOI 10.31718/2077-1096.21.2.131

УДК 615.31:[546.46+547.466.22]:616.45-001.1/3-084

Дев'яткіна Н.М.

СТРЕСПРОТЕКТИВНА ДІЯ НОВОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ З ГЛІЦИНОМ ТА МАГНІЮ ЦИТРАТОМ

Українська медична стоматологічна академія, м. Полтава

Вступ. Стресорні розлади часто зустрічаються в клінічній практиці, а їх лікування потребує індивідуалізованої фармакокорекції. Серед засобів з анксиолітичною та седативною дією досліджуються гліцин і сполуки магнію, розглядається можливість створення сублінгвальних таблеток з цими речовинами. Мета дослідження – на основі вивчення впливу гліцину, магнію цитрату та їх комбінацій на загально-соматичні показники при стресі (тріаду Сельє) визначити найефективнішу композицію цих речовин для нової лікарської форми – сублінгвальних таблеток. Матеріали та методи. Експерименти проведені на 76 білих щурах. Досліджувані речовини вводили сублінгвально, після чого тварини знаходилися в клітках-пеналах 6 годин для моделювання іммобілізаційного стресу. Після завершення стресорного впливу щурів піддавали етаназії і визначали відносну масу тимусу та надниркових залоз, наявність виразок і крововиливів у шлунку. Статистичну обробку здійснювали за програмами Statistica for Windows 8.0. Результати та їх обговорення. На тлі іммобілізаційного стресу в щурів спостерігалось зменшення відносної маси тимусу без суттєвих змін маси надниркових залоз та інтенсивне утворення виразок у шлунку. Профілактичне застосування досліджуваних сполук та їх комбінацій попереджувало стресорну інволюцію тимусу. Найбільш виразний захисний ефект справляли комбінація гліцину 100 мг з цитратом 250 мг та сам гліцин. Відносна маса надниркових залоз при цьому не зазнала вірогідних змін. Найменша частота виразкових уражень спостерігалась у групах тварин, які отримували комбінації гліцину 100 мг з магнію цитратом 250-350 мг або окремо гліцин 100 мг. Це супроводжувалося зменшенням множинності та площі виразок шлунка в порівнянні з контрольною патологією. Магнію цитрат у дозах 250 мг і 350 мг був не таким активним у захисті слизової оболонки шлунка. Висновки. Гострий іммобілізаційний стрес (6 годин) викликає інволюцію тимусу та утворення виразок шлунка за відсутності гіпертрофії надниркових залоз. За результатами дослідження тріади Сельє, найвищий профілактичний ефект виявили комбінація гліцину 100 мг з магнію цитратом 250 мг та окремо гліцин у дозі 100 мг.

Ключові слова: стрес, гліцин, магнію цитрат, сублінгвальні таблетки.

Робота виконана в межах планової ініціативної НДР кафедри експериментальної та клінічної фармакології Української медичної стоматологічної академії «Фармакологічне дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів для розробки та оптимізації показань до їх застосування в медичній практиці» (№ державної реєстрації 0120U103921).

Вступ

Відомо, що стресорні розлади, такі як генералізований тривожний розлад або посттравматичний стресорний розлад, досить часто зустрічаються в клінічній практиці, а їх лікування потребує не тільки психотерапії, а й індивідуалізованої фармакокорекції [1, 2]. Оскільки зазначене лікування тривале й супроводжується побічними явищами, актуальним є пошук анксиолітиків і седативних засобів природного походження з низьким ризиком ускладнень або синдрому відміни [3, 4, 5]. Серед інших природних сполук досліджується гліцин (Гл) та гліцинергічні речовини [6]. Увагу вчених також привертають сполуки магнію, дефіцит якого в організмі провокує тривогу та депресію [7]. При цьому розробляються нові лікарські форми природних анксиолітиків і седативних засобів та нетрадиційні шляхи їх введен-

ня [8]. Досліджується можливість створення сублінгвальних таблеток, для яких за активні фармацевтичні інгредієнти обрані Гл та магнію цитрат (МЦ) [9]. Для підготовки такої композиції одним з найбільш важливих етапів є визначення оптимальної кількості лікарських речовин у ній.

Мета дослідження – на основі вивчення впливу Гл, МЦ та їх комбінацій на загально-соматичні показники при стресі (тріаду Сельє) визначити найефективнішу композицію цих речовин для нової лікарської форми – сублінгвальних таблеток.

Матеріали та методи

Експерименти проведені на 76 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 220-250 г, яких утримували за стандартних умов віварію. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист

хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей». Розподіл тварин за групами був наступний: інтактний контроль, стрес (контрольна патологія), стрес із введенням Гл (100 мг), стрес із введенням МЦ у дозах 250 мг та 350 мг, стрес із введенням комбінацій Гл (100 мг) з різними дозами МЦ (250 та 350 мг).

Досліджувані речовини вводили сублінгвально, для чого таблетку вміщували в марлевий пакет з лігатурами, який фіксували за нижніми рідцями, а лігатури зав'язували за вухами щурів [10]. Враховуючи незначну кількість слини в щурів, за 1 хв до фіксації пакету на таблетку наносили краплю фізіологічного розчину натрію хлориду, що сприяло її швидкому розсмоктуванню. Експозиція тривала 15 хв, що було достатньо для всмоктування препарату з ротової порожнини. Тварини в цей період знаходилися в спеціальних малих клітках-пеналах для обмеження рухів. У групі контрольної патології тваринам фіксували марлевий пакет, змочений фізіологічним розчином натрію хлориду, але без таблеток. Після цього всі тварини знаходилися в клітках-пеналах ще протягом 6 год з метою моделювання гострого іммобілізаційного стресу [11]. Після завершення стресорного впливу тварин виводили з експерименту. Забій проводили під тіопенталовим наркозом (100 мг/кг маси тіла) шляхом забирання крові з серця до його зупинки.

Після розтину видаляли стрес-компетентні органи: тимус, надниркові залози та шлунок. Органи звільняли від зайвої сполучної та жирової тканини, зважували й визначали відносну масу тимусу та надниркових залоз як відношення маси органу до маси тіла. Для вивчення виразкоутворення шлунок розтинали повздовжнім розрізом вздовж малої кривизни, промивали проточною водою та досліджували слизову оболонку за допомогою збільшувального скла (x8). Визначали рельєф слизової оболонки, наявність виразок і крововиливів. Частоту ураження шлунка визначали як відношення кількості виразок, у яких були виразки, до загальної кількості тварин у групі, множинність ураження – як відношення кількості виразок у всіх щурів до кількості тварин у групі [12].

Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали методом варіаційної статистики. Вірогідність різниці між показниками оцінювали з використанням параметричного t-критерію Ст'юдента та непараметричного метода Манна-Вітні за допомогою стандартних комп'ютерних програм Statistica for Windows 8.0.

Результати та їх обговорення

Результати впливу іммобілізаційного стресу та досліджуваних сполук на фоні стресу на відносну масу тимусу та надниркових залоз наведені в табл. 1.

Таблиця 1
Вплив гліцину, магнію цитрату та їх комбінацій на відносну масу тимусу та надниркових залоз за умов іммобілізаційного стресу ($M \pm t$)

Група тварин	Відносна маса тимусу	Відносна маса надниркових залоз
Інтактний контроль, n=10	0,083 ± 0,003	0,017 ± 0,001
Контрольна патологія (стрес), n=10	0,048 ± 0,004 p<0,001	0,016 ± 0,002 p<0,5
Стрес+гліцин 100 мг +магнію цитрат 250 мг, n=13	0,070 ± 0,003 p ₁ <0,001	0,022 ± 0,001 p ₁ <0,25
Стрес+гліцин 100 мг +магнію цитрат 350 мг, n=13	0,061 ± 0,003 p ₁ <0,02	0,025 ± 0,002 p ₁ >0,5
Стрес+магнію цитрат 250мг, n=10	0,060 ± 0,004 p ₁ <0,05	0,015 ± 0,001 p ₁ >0,5
Стрес+ магнію цитрат 350мг, n=10	0,063 ± 0,005 p ₁ <0,05	0,014 ± 0,001 p ₁ >0,5
Стрес+гліцин 100 мг, n=10	0,066 ± 0,005 p ₁ <0,001	0,012 ± 0,002 p ₁ <0,25

Примітка: p – вірогідність різниці у порівнянні з інтактним контролем;
p₁ – вірогідність різниці у порівнянні з контрольною патологією.

На тлі іммобілізаційного стресу в щурів спостерігалось вірогідне зменшення відносної маси тимусу без суттєвих змін маси надниркових залоз, що може бути зумовлене особливостями обраної моделі стресу й моменту визначення показників.

Профілактичне застосування як окремих досліджуваних сполук, так і їх комбінацій різною мірою попереджувало стресорну інволюцію тимусу. Найбільш виразний захисний ефект справляли комбінація Гл 100 мг з МЦ 250 мг та сам Гл у дозі 100 мг, під дією яких відносна маса тимусу була в 1,5 разу та в 1,4 разу більша за таку

при контрольній патології. Відносна маса надниркових залоз під впливом застосованих речовин та їх комбінацій не зазнала вірогідних змін.

Показники стану слизової оболонки шлунка на фоні стресу та його корекції наведені в табл. 2.

Як представлено в табл. 2, розвиток стресу супроводжувався утворенням виразок слизової оболонки шлунка в 90 % тварин, а множинність ураження, середня площа виразкових уражень та кількість крововиливів були вірогідно вищими за інтактний контроль.

Таблиця 2

Вплив гліцину, магнію цитрату та їх комбінацій на слизову оболонку шлунка за умов іммобілізаційного стресу (M±t)

Група тварин	Частота утворення виразок	Множинність, одиниці	Площа виразок, мм ²	Крововиливи, кількість
Інтактний контроль, n=10	0/0	0	0	0
Контрольна патологія (стрес), n=10	9/10	2,70±0,40 p<0,001	6,90±1,46 p<0,001	1,70±0,56 p<0,001
Стрес+гліцин 100 мг +магнію цитрат 250мг, n=13	2/13	0,15±0,10 p ₁ <0,001	0,38±0,25 p ₁ <0,001	0,46±0,20 P ₁ <0,1
Стрес+гліцин 100 мг +магнію цитрат 350мг, n=13	2/13	0,15±0,10 p ₁ <0,001	0,46±0,30 p ₁ <0,001	0,61±0,25 p ₁ <0,25
Стрес+магнію цитрат 250 мг, n=10	5/10	1,20±0,39 p ₁ <0,02	3,60±1,42 p ₁ <0,25	1,20±0,44 P ₁ <0,5
Стрес+ магнію цитрат 350 мг, n=10	5/10	1,30±0,45 p ₁ <0,05	3,80±1,62 p ₁ <0,25	0,80±0,23 p ₁ <0,25
Стрес+гліцин 100 мг, n=10	2/10	0,50±0,38 p ₁ <0,001	2,10±1,47 p ₁ <0,05	0,80±0,24 p ₁ <0,25

Примітка: p – вірогідність різниці у порівнянні з інтактним контролем;
p₁ – вірогідність різниці у порівнянні з контрольною патологією.

Застосування досліджуваних сполук та їх комбінацій запобігало uszkodженню слизової оболонки шлунка, викликаному іммобілізаційним стресом. Найменша частота виразкових уражень спостерігалась у групах тварин, які отримували комбінації речовин Гл 100 мг з МЦ 250 мг, Гл 100 мг з МЦ 350 мг та окремо Гл 100 мг, що становило 15 %, 15 % та 20 %, відповідно. Це супроводжувалося вірогідним зменшенням множинності та площі виразок слизової оболонки шлунка й тенденцією до зменшення крововиливів у ній в 3,7 та 2,1 разу, відповідно, в порівнянні з контрольною патологією. МЦ у дозах 250 мг та 350 мг однаково зменшував частоту утворення виразок слизової оболонки шлунка до 50 % та більше, ніж у 2 рази знижував множинність виразкового uszkodження проти контрольної патології. Площа виразок та кількість крововиливів у слизовій оболонці шлунка при корекції стресу обома дозами МЦ істотно не відрізнялася від показників тварин з контрольною патологією.

Отже, усі сполуки виявили здатність попереджувати виразкоутворення в шлунку та інволюцію тимусу, що є характерною ознакою стреспротективної дії лікарського засобу [13]. При цьому найбільш виразний гастропротективний ефект спостерігався при застосуванні обох комбінацій сполук та окремо Гл, що вказує на головну роль Гл в реалізації їх стреспротективного ефекту. Водночас, беручи до уваги й захисний вплив на тимус, і гастропротекцію, лікерною слід вважати композицію з Гл у дозі 100 мг та МЦ у дозі 250 мг, яку, вочевидь, доцільно використати в нових сублінгвальних таблетках седативної дії.

Висновки

1. Гострий іммобілізаційний стрес тривалістю 6 год викликає інволюцію тимусу та утворення виразок шлунка за відсутності гіпертрофії надниркових залоз.

2. За результатами оцінки стреспротективної дії за тріадою Сельє можна стверджувати, що найвищий профілактичний ефект виявила комбінація Гл 100 мг з МЦ 250 мг та окремо Гл у до-

зі 100 мг.

Перспективи подальших досліджень

У наступних серіях експериментів планується вивчити вплив комбінацій Гл та МЦ для сублінгвального введення на вияви тривожності в поведінкових тестах різної аверсивності.

Література

1. Maron E, Nutt D. Biological markers of generalized anxiety disorder. *Dialogues Clin Neurosci*. 2017 Jun;19(2):147-158.
2. Qi W, Gevonden M, Shalev A. Prevention of post-traumatic stress disorder after trauma: current evidence and future directions. *Curr Psychiatry Rep*. 2016 Feb;18(2):20.
3. Lakhani SE, Vieira KF. Nutritional and herbal supplements for anxiety and anxiety-related disorders: systematic review. *Nutr J*. 2010 Oct 7;9:42.
4. Akkol EK, İlhan M, Karpuz B, et al. Sedative and anxiolytic activities of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill.: an experimental assessment in mice. *Molecules*. 2020 Apr 16;25(8):1844.
5. Shi MM, Piao JH, Xu XL, et al. Chinese medicines with sedative-hypnotic effects and their active components. *Sleep Med Rev*. 2016 Oct;29:108-18.
6. Lara CO, Murath P, Muñoz B, et al. Functional modulation of glycine receptors by the alkaloid gelsemine. *Br J Pharmacol*. 2016 Jul;173(14):2263-77.
7. Młyniec K, Davies CL, Gómez de Agüero Sánchez I, et al. Essential elements in depression and anxiety. Part I. *Pharmacol Rep*. 2014 Aug;66(4):534-44.
8. Jung JH, Kim SJ. Anxiolytic action of taurine via intranasal administration in mice. *Biomol Ther (Seoul)*. 2019 Mar 25;27(5):450-456.
9. Yakovenko OV, Ruban OA, Hrynenko VV. The marketing research of drugs for prevention and treatment of stress conditions at the pharmaceutical market of Ukraine. *News of Pharmacy*. 2018 Nov;4:52-6.
10. Balabanian VYu, Voronina TA, Yulina EV, Fomina EG. izobretatel. Balabanian VYu. patentoobladatel. Sublingvalnaya forma 6-metil-2-etil-3-gidroksipiridina i eye primeneniye v kachestve sredstva. obladayushchego stimuliruyushchey, anoreksigennoy, antidepressivnoy, anksioliticheskoy, protivogipoksicheskoy, antiamnestichekoy (nootropnoy) i antialkogolnoy aktivnostyu [Sublingual form of 6-methyl-2-ethyl-3-hydroxypyridine and its use as a means of stimulating, anorexigenic, antidepressant, anxiolytic, antihypoxic, antiamnestic (nootropic) and anti-alcoholic activity] Patent RU 2012133273/15A. 2014 Avg 27. (Russian)
11. Khabriyev RU. red. Rukovodstvo po eksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv: metodicheskoye rekomendatsii [Guidelines for experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. Moscow: Meditsina. 2005. 832 s. (Russian)
12. Stefanov OV, red. Doklinichni doslidzhenia likarskykh zasobiv : metodychni rekomendatsii [Preclinical study of drugs: guidelines]. Kiev, 2001. 528 s. (Ukrainian)
13. Deviatkina TO, Vazhnycha OM, Vlasenko NO. Stresorni mekhanizmy hostroi krovovtraty ta ikh farmakologichna korektsiia v eksperymenty [Stress mechanisms of acute blood loss and their pharmacological correction in the experiment]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*. 2017; 4 (3(141)):117-22. (Ukrainian)

Реферат

СТРЕСПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ НОВОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ С ГЛИЦИНОМ И МАГНИЯ ЦИТРАТОМ

Десяткина Н.Н.

Ключевые слова: стресс, глицин, магния цитрат, сублингвальные таблетки.

Вступление. Стрессорные расстройства часто встречаются в клинической практике, а их лечение требует индивидуализированной фармакокоррекции. Среди средств с анксиолитическим и седативным действием исследуются глицин и соединения магния, рассматривается возможность создания сублингвальных таблеток с этими веществами.

Цель исследования – на основе изучения влияния глицина, магния цитрата и их комбинаций на общесоматические показатели при стрессе (триаду Селье) определить эффективную композицию этих веществ для новой лекарственной формы – сублингвальных таблеток.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 76 белых крысах. Исследуемые вещества вводили сублингвально, после чего животные находились в клетках-пеналах 6 часов для моделирования иммобилизационного стресса. После завершения стрессорного воздействия крыс подвергали эвтаназии и определяли относительную массу тимуса и надпочечников, наличие язв и кровоизлияний в желудке. Статистическую обработку осуществляли по программам Statistica for Windows 8.0.

Результаты и их обсуждение. На фоне иммобилизационного стресса у крыс наблюдалось уменьшение относительной массы тимуса без существенных изменений массы надпочечников и интенсивное образование язв в желудке. Профилактическое применение исследуемых соединений и их комбинаций предупреждало стрессорную инволюцию тимуса. Наиболее выраженный защитный эффект оказывали комбинация глицина 100 мг с цитратом 250 мг и сам глицин. Относительная масса надпочечников при этом не претерпела достоверных изменений. Наименьшая частота язвенных поражений наблюдалась в группах животных, получавших комбинации глицина 100 мг с магния цитратом 250-350 мг или отдельно глицин 100 мг. Это сопровождалось уменьшением множественности и площади язв желудка по сравнению с контрольной патологией. Магния цитрат в дозах 250 мг и 350 мг был не таким активным в защите слизистой оболочки желудка.

Выводы. Острый иммобилизационный стресс вызывает инволюцию тимуса и образование язв в желудке при отсутствии гипертрофии надпочечников. По результатам исследования триады Селье, высокий профилактический эффект обнаружили комбинация глицина 100 мг с магния цитратом 250 мг и отдельно глицин в дозе 100 мг.

Summary

STRESS-PROTECTIVE EFFECTS OF NEW MEDICINAL FORM WITH GLYCINE AND MAGNESIUM CITRATE

Deviatkina N. M.

Key words: stress, glycine, magnesium citrate, sublingual tablets.

Introduction. Stress disorders are common in clinical practice, and their treatment requires selective medication choice. Among the drugs having anxiolytic and sedative effects, glycine and magnesium compounds are being intensively investigated and the options of producing sublingual tablets based on these substances seem to be promising. The aim of this study is to investigate the effects of glycine and magnesium citrate and their combination on glycine and magnesium citrate on somatic parameters (Selye's triad) under the stress conditions and to determine the most effective composition of the compounds.

Materials and methods. The experiments were carried out on 76 white rats. The substances were administered sublingually and then the animals were kept in the small cages for 6 hours in order to simulate immobilization stress. At the end of the stress exposure, the rats were euthanized and the relative masses of the thymus and adrenal glands as well as a presence of ulcers and haemorrhages in the stomach were determined. Statistical processing was performed using the Statistica for Windows 8.0 software.

Results and discussion. Immobilization stress resulted in a decrease in the relative weight of the thymus in the rats without significant changes in the weight of the adrenal glands and intense ulceration in the stomach. Prophylactic use of the compounds under the study and their combinations prevented the stress-induced involution of the thymus. The most pronounced protective effect was demonstrated by the combination of 100 mg glycine and 250 mg magnesium citrate and glycine itself. At the same time, the relative mass of the adrenal glands did not change significantly. The lowest incidence of ulcerative lesions was observed in the groups of animals who received the combinations of glycine (100 mg) and magnesium citrate (250-350 mg) or glycine (100 mg) separately. This scheme leads to a decrease in the number and area of gastric ulcers as compared to the control group. Magnesium citrate in doses of 250 mg and 350 mg was found not as effective in protecting the gastric mucosa.

Conclusion. Acute immobilization stress causes involution of the thymus and gastric ulceration, but does not result in adrenal hypertrophy. According to the findings obtained by the Selye triad study, a combination of 100 mg glycine and 250 mg magnesium citrate and glycine separately in a dose of 100 mg have showed the highest prophylactic effect.