

**ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА,  
СОДЕРЖАЩЕГО СИЛДЕНАФИЛА ЦИТРАТ, НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПЕРВИЧНОЙ  
ДИСМНОРЕИ У БЕСПОРОДНЫХ МЫШЕЙ**

*Васильева Е. Н.<sup>1</sup>, Павленко В. С.<sup>1</sup>, Фарбер В. Л.<sup>2</sup>, Фадеев В. И.<sup>2</sup>, Гапанович В. Н.<sup>1</sup>, Андреев С. В.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр ЛОТИОС», г. Минск, Республика Беларусь;*

*<sup>2</sup>ООО «Рубикон», г. Витебск, Республика Беларусь*

**Реферат.** Структурно-функциональные нарушения в матке являются одной из причин первичной дисменореи и, как следствие, болезненных менструаций, наиболее часто отмечаемых в подростковом возрасте и активном репродуктивном периоде. Болевой синдром значительно снижает качество жизни

женщин, приводит к временному снижению трудоспособности и существенным экономическим потерям. С учетом вышеизложенного поиск новых лекарственных средств для терапии данного заболевания приобретает не только сугубо медицинское, но и важное социальное значение. Белорусскими учеными разрабатывается новый препарат на основе силденафила цитрата, изучению фармакотерапевтических свойств которого посвящена данная работа.

**Ключевые слова:** силденафила цитрат, первичная дисменорея, суппозитории, мыши, тест «корчи».

**Введение.** Первичная дисменорея является распространенным гинекологическим расстройством, затрагивающим 40–50 % женщин репродуктивного возраста [1]. Начало заболевания обычно происходит через 0,5–1 год от первой менструации, когда устанавливается овуляторный цикл [2, 3], и характеризуется острой абдоминальной болью в течение первого или второго дня менструального цикла, но без видимых патологических изменений половых органов [1]. Болевой синдром может сопровождаться вегетативными и эмоционально-психическими симптомами: боли в сердце, головная боль, учащенное сердцебиение и др. [4].

Большинство исследований, направленных на изучение механизмов патогенеза и терапии первичной дисменореи, проводится в модельных постановках, учитывающих влияние оцениваемого воздействия на изолированные рога матки, что позволяет выявить лишь отдельные процессы, протекающие в органе, и не в полной мере раскрывает общую картину формирования патологического процесса в органе, равно как и системного действия разрабатываемой фармакотерапии [1].

Для воспроизведения первичной дисменореи нами использовалась экспериментальная модель *in vivo* на мышах с применением окситоцина [1]. Ноцицептивный ответ на введение препарата регистрировали в виде «корчей», представляющих собой сокращение брюшной стенки, поворот таза и вытягивание задних конечностей. Наличие «корчей» у мышей и их количество за фиксированный промежуток времени являются основными показателями, используемыми для оценки аналгетического действия разрабатываемого ЛС.

**Цель работы** — изучение целевых фармакотерапевтических свойств ЛС на основе силденафила цитрата на экспериментальной модели первичной дисменореи при вагинальном введении беспородным белым мышам.

**Материалы и методы.** Исследование выполнено на беспородных половозрелых самках мышей массой 24–26 г, которые были разделены на 5 серий (3 опытные и 2 контрольные) по 10 животных в каждой.

Для воспроизведения модели «первичной дисменореи» мышам 1, 2 и 3-й опытных серий в течение 3-х дней вагинально вводили разрабатываемое ЛС, предоставленное ОАО «Рубикон», в виде суппозитория, в дозах 421,3, 842,8 и 1263,9 мг/кг или в пересчете на активное действующее вещество — 16,85, 33,71 и 50,56 мг/кг соответственно. Для удобства введения суппозитории были расплавлены при температуре 38 °С.

Параллельно в те же сроки животным опытных групп внутрибрюшинно вводили 0,1 %-й раствор эстрадиола валерата (Zhejiang Xianji Pharmaceutical Co, Ltd., China, с. 170302-1) в дозе 1 мг/кг.

Животным 1-й контрольной серии никаких введений не осуществляли (интактный контроль), мышам 2-й контрольной серии в течение 3-х дней вводили 0,1 %-й раствор эстрадиола валерата в дозе 1 мг/кг.

На 4-е сут от начала эксперимента животным опытных серий за 20 мин до введения окситоцина (УНП Ветлюкс, с. 01230118) в дозе 0,4 Ед/20 г вводили изучаемое ЛС, мышам 2-й контрольной серии — окситоцин в аналогичной дозе с последующим отслеживанием болевой реакции в виде «корчей» в течение 30 мин.

После оценки аналгетического действия у всех животных под наркозом (внутривенное введение 2 %-го тиопентала натрия, с. 178124, ОАО «Киевмедпрепарат», 40 мг/кг) из аксиллярного сплетения в гепаринизированный капилляр (100 мкл) были взяты образцы крови для определения содержания  $Ca^{2+}$  с помощью анализатора газов и электролитов Easy Stat (Medica Corporation, США).

После взятия крови животные всех экспериментальных групп были декапитированы. Оценку соматометрических параметров выделенной из брюшной полости матки проводили с точностью до 0,5 мг на весах AR-2140 (Ohaus Corporation, США).

Основные правила содержания животных и ухода за ними соответствовали [5], все рутинные манипуляции выполняли в соответствии со стандартными операционными процедурами отдела экспериментальной медицины и фармации республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр ЛОТИОС».

Исследования проведены с соблюдением принципов, отраженных в «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» [6].

Описательная статистика результатов исследования представлена как в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего значения ( $M \pm m$ ), так и медианы ( $Me$ ) и процентилей (25-75). Статистический анализ проводили с помощью лицензионной программы «GraphPad Prism 7.00». Вывод о различии средних значений делали, используя One-way ANOVA и критерий достоверно значимой разности Ньюмена — Кейсла, а также t-критерий (unpaired t-test).

**Результаты и их обсуждение.** Статистический анализ значений абсолютной и относительной массы маток мышей (рисунок) в опытных сериях выявил статистически значимое ( $p < 0,05$ ) повышение при сравнении с интактными животными. На уровне тенденции данные показатели были увеличены относительно значений, полученных во 2-й контрольной серии. Данный эффект носил дозозависимый характер. Абсолютная масса маток мышей 1, 2 и 3-й опытных серий была увеличена на 313,5, 417,6 и 475,3 %, соответственно по сравнению с 1-й контрольной серией, а также на 22,0 и 35,6 % — во 2 и 3-й опытных сериях соответственно при сравнении со 2-й контрольной серией.

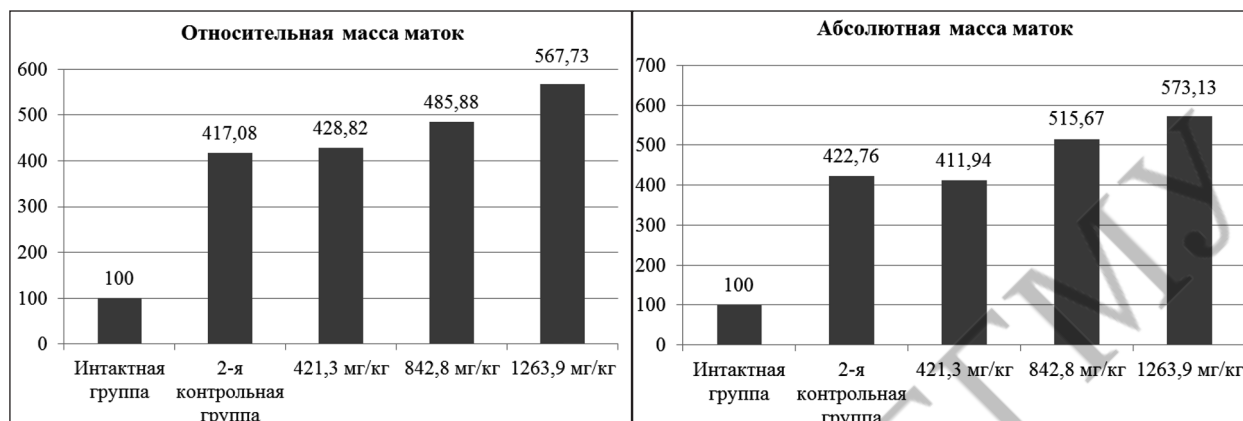


Рисунок — Абсолютная и относительная масса маток мышей при моделировании первичной дисменореи

Относительная масса маток мышей 1, 2 и 3-й опытных серий также возрастала на 328,8, 385,9 и 467,7 % соответственно относительно значений данного показателя у интактных животных и на 2,8, 16,5 и 36,1 % соответственно — при сравнении со 2-й контрольной серией.

Таким образом, введение ЛС на основе силденафила цитрата в дозах 842,6 и 1263,9 мг/кг (33,71 и 50,56 мг/кг по действующему веществу) при моделировании первичной дисменореи у мышей увеличивало на уровне тенденции утеротропную активность эстрадиола валерата ( $p > 0,05$ ).

При изучении анальгетической активности ЛС на основе силденафила цитрата в тесте «корчи» в трех опытных сериях были обнаружены неоднозначные эффекты влияния исследуемого препарата на уменьшение болевой чувствительности после внутривентриального введения окситоцина (таблица).

Таблица — Показатели в тесте «корчи» и содержание ионов кальция ( $Ca^{2+}$ ) в крови мышей

Показатели	1-я контрольная серия (интактные животные)	2-я контрольная серия	1-я опытная серия (421,3 мг/кг)	2-я опытная серия (842,6 мг/кг)	3-я опытная серия (1263,9 мг/кг)
Тест «корчи»**, Ме (25–75)		9,5 (3,8÷21,8)	2,5 (0,0÷15,3)	0,0 (0,0÷2,5)*	7,5 (0,0÷24,0)
Уровень значимости в тесте «корчи»			$p = 0,14$	$p = 0,02$	$p = 0,77$
Содержание $Ca^{2+}$ , ммоль/л	1,23±0,02	1,25±0,02	1,22±0,02	1,28±0,02	1,24±0,02

\* — достоверность различий при сравнении со значениями во 2-й контрольной серии по t-критерию (unpaired t-test) при  $p < 0,05$ ;  
 \*\* — количество в тесте «корчей» указано в абсолютных единицах.

В 1-й опытной серии (доза 421,3 или 16,85 мг/кг в пересчете на активное действующее вещество) у 4 мышей ноцицептивных ответов на введение окситоцина зафиксировано не было. У остальных 6 мышей количество «корчей» варьировало от 1 до 20. В итоге исходя из уровня значимости ( $p = 0,14$ ) можно сделать вывод, что введение изучаемого ЛС в данной дозе не оказывало статистически достоверного влияния на снижение болевой чувствительности по сравнению с результатами, полученными во 2-й контрольной серии животных, однако в целом была зарегистрирована тенденция к ее уменьшению.

Во 2-й опытной серии (доза 842,6 или 33,71 мг/кг по силденафилу цитрату) регистрируемый показатель в «тесте корчи» был ниже значений, наблюдавшихся во 2-й контрольной серии животных с достоверным уровнем значимости ( $p = 0,02$ ). У 60 % мышей данной серии полностью отсутствовала реакция

контролируемых изменений в поведении мышей на введение окситоцина. Из 10 тестируемых животных только у одной мыши данный показатель имел высокое значение (19 корчей в течение 30 мин).

В 3-й опытной серии (доза ЛС 1263,9 или 50,56 мг/кг по действующему веществу) 1 животное погибло на 4-е сут эксперимента. При вскрытии и макроскопическом исследовании внутренних органов (тимус, сердце, легкие, печень, селезенка, почки, надпочечники, головной мозг, матка) существенных отклонений от нормы не установлено. У 3 животных во время проведения теста «корчи» отсутствовала реакция на окситоцин, у 1 — после вагинального введения ЛС, еще до введения окситоцина, наблюдали характерные признаки болевой реакции в виде «корчей», тогда как после введения окситоцина появились клинические признаки интоксикации: неподвижность, коллапс. У остальных животных данной опытной серии регистрировали от 1 до 67 ответов в виде «корчей» на введение окситоцина. Из них у 3 животных (количество «корчей» от 18 до 67) наблюдали снижение двигательной активности, отсутствие проявления исследовательского поведения в течение постановки теста.

Таким образом, статистически значимое снижение болевой реакции у мышей 2-й опытной серии при вагинальном введении исследуемого ЛС в дозе 842,6 мг/кг (33,71 мг/кг по силденафилу) в течение 4 дней на фоне моделирования состояния первичной дисменореи является одним из подтверждений специфической фармакологической активности исследуемого ЛС. В 1-й опытной серии изменения данного показателя регистрировали только на уровне тенденции, а при введении в дозе 1263,9 мг/кг (50,56 мг/кг по силденафилу) выявлена высокая вариабельность индивидуальной чувствительности животных на введение исследуемого препарата.

Анализ содержания ионов кальция в крови мышей (таблица) не обнаружил статистически значимых отличий между экспериментальными сериями. Во 2-й опытной серии мышей регистрировали недостоверное увеличение значений данного показателя как относительно интактных животных, так и при сравнении со значениями, полученными во 2-й контрольной серии. В 1 и 3-й опытных сериях содержание ионов кальция претерпевало колебания в пределах диапазона, регистрируемого у мышей контрольных серий.

**Заключение.** Результаты проведенного исследования подтверждают наличие у разрабатываемого лекарственного средства анальгетической и утеротропной активности, что позволяет рассматривать его для возможной терапии абдоминальной боли при первичной дисменорее.

#### Литература

1. An *in vivo* mouse model of primary dysmenorrhea / L. Yang [et al.] // *Exp. Anim.* — 2015. — Vol. 4, № 3. — P. 295–303.
2. Primary dysmenorrhea in adolescents: prevalence, impact and recent / V. De Sanctis [et al.] // *Pediatr. Endocrinol. Rev.* — 2015. — Vol. 13, № 2. — P. 465–473.
3. Ожогина, Е. В. Первичная дисменорея в практике врача акушера-гинеколога / Е. В. Ожогина, В. Г. Мозес // *Мать и дитя в Кузбассе.* — 2015. — № 1 (60). — С. 4–10.
4. Буралкина, Н. А. Дисменорея: патогенетическое обоснование фармакотерапии / Н. А. Буралкина, А. С. Каткова, И. А. Киселева // *Мед. современ. акуш. и гинекол.* — 2018. — № 7. — С. 23–26.
5. Надлежащая лабораторная практика: ТКП 125-2008 (02040). — Введ. 28.03.2008. — Минск : М-во здравоохранения Республики Беларусь, 2008. — 35 с.
6. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях / Совет Европы. — Страсбург, 1986.

### THE STUDY OF THE PHARMACO-THERAPEUTIC PROPERTIES OF THE DRUG CONTAINING SILDENAFIL CITRATE IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF PRIMARY DYSMENORRHEA IN OUTBRED MICE

Vasilyeva E. N.<sup>1</sup>, Pavlenko V. S.<sup>1</sup>, Farber V. L.<sup>2</sup>, Fadeev V. I.<sup>2</sup>, Gapanovich V. N.<sup>1</sup>, Andreev S. V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Republican Unitary Enterprise “Scientific and Practical Center LOTIOS”, Minsk, Republic of Belarus;

<sup>2</sup>Limited Liability Company “Rubikon», Vitebsk, Belarus”, Vitebsk, Republic of Belarus

Structural and functional disorders in the uterus are one of the causes of primary dysmenorrhea and painful menstruation, which is often observed in adolescence and active reproductive period. Pain syndrome significantly reduces the quality of life of women, leads to a temporary decrease in working capacity and considerable economic costs. Therefore, the search of new drugs for the treatment of this disease is important medical and social significance. The new medication based on sildenafil citrate is under development by Byelorussian scientists. The work is devoted to study the special pharmacotherapeutic properties of this drug.

**Keywords:** sildenafil citrate, primary dysmenorrhea, suppositories, mice, writhing test.

Поступила 24.07.2018