

© Коллектив авторов, 2002

П. В. Сергеев¹, И. С. Гущин², М. Э. Каминка³, Д. Г. Фридлянд², К. Г. Гуревич⁴,
Н. Л. Шимановский¹

ДИАЦИН — НОВЫЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ КОМПЛЕКСНЫЙ АНТИАЛЛЕРГИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ

¹ РГМУ, Москва;

² Институт иммунологии МЗ РФ, Москва;

³ ЦХЛС – ВНИХФИ, Москва;

⁴ Московский государственный медико-стоматологический университет

Диазолин (Д) — избирательный блокатор H₁-гистаминовых рецепторов [1, 2], используемый в клинической практике с конца 1960-х годов. Широкому клиническому применению препарата препятствует наличие у него побочных эффектов, в т.ч. ulcerогенное действие [3–7]. Исходя из того, что цинк, как один из основных микроэлементов, регулирует реактивность иммунной системы, оказывает ранозаживляющее, противовоспалительное и антиulcerогенное действие [8], нами разработан новый комплексный антиаллергический препарат диацин (Д+) в виде таблеток, содержащих диазолин (0,2 г) и цинка сульфат (0,01 г) (№ Госрегистрации 99/91/12 от 18.03.99). Состав Д+ подобран так, что он представляет собой комбинацию рекомендуемой средней терапевтической дозы диазолина [2] и суточной дозы цинка [9–10].

Методика исследования

1. Экспериментальные исследования проводили на мышах, крысах, морских свинках, кроликах, полученных из питомника РАМН “Столбовая”. Животные в течение 2 недель адаптировались к условиям вивария. До начала проведения экспериментов их содержали в пищевом и питьевом режиме *ad libitum* при температуре 19–21 °С, световом режиме 12/12 (свет с 8 до 20 ч). Все эксперименты начинали через 2 ч после включения света в виварии.

1а. Влияние на функциональную активность ЦНС изучали на 27 беспородных белых мышах – самцах массой 20–22 г. Животным вводили в желудок (с помощью зонда) измельченные в порошок таблетки Д или Д+ в дозе 100 мг/кг за 1 ч до гексенала, который вводили внутрибрюшинно в дозе 100 мг/кг. Длительность снотворного эффекта определяли по времени восстановления рефлекса переворачивания со спины.

1б. Влияние на сердечно-сосудистую систему определяли на 72 беспородных нормотензивных крысах-самцах массой 200–250 г. Артериальное давление и частоту сердечного ритма регистрировали на хвостовой артерии бескровным методом с использованием полуавтоматического измерителя фирмы “Ugo Basile” (Италия). Препараты вводили в желудок в виде порошка в дозе 100 мг/кг за 1, 2, 4 и 24 ч до проведения

измерений. Животным контрольной группы вводили плацебо.

1в. Ulcerогенную активность [11] исследовали на 31 беспородных крысах – самцах массой 160–180 г, которых лишали корма в течение 14 ч, при этом воду давали в режиме *ad libitum*. Исследуемые препараты в виде порошка вводили в желудок в дозе 100 мг/кг за 1 ч до операции. Под общим эфирным наркозом вскрывали брюшную полость, накладывали лигатуру на пилорический отдел желудка. Через 4 ч после операции животных забивали, собирали содержимое желудков, отфильтровывали, определяли объем, свободную соляную кислоту и общую кислотность.

1г. Антиulcerогенную активность [11] изучали на 71 беспородных крысах – самцах массой 160–180 г, которых лишали корма в течение 14 ч, при этом воду давали в режиме *ad libitum*. В желудок вводили исследуемые препараты в виде порошка в дозе 200 мг/кг за 1 ч до введения в желудок повреждающих веществ — этанола (1 мл на животное) или индометацина (20 мг/кг) в сочетании с 0,6н. соляной кислотой (5 мл/кг). Через 1 ч после введения этанола или через 4 ч после введения индометацина в сочетании с соляной кислотой животных забивали, извлекали желудки и определяли длину полосовидных геморрагических повреждений желудка.

1д. Антиаллергическую активность исследовали на 61 беспородных крысах – самцах массой 160–180 г, сенсibilизированных овальбумином (1 мкг внутрибрюшинно однократно) и Al(OH)₃ (100 мг) в 0,5 мл 0,9 % NaCl. Через 14 дней в правую заднюю лапу субплантарно вводили разрешающую дозу (1 мкг) овальбумина в 0,1 мл 0,9 % NaCl, в левую лапу, служившую контролем, — 0,1 мл 0,9 % NaCl без овальбумина. Объем лапы измеряли с помощью плетизмометра “Ugo Basile” (Италия) через 1 ч после введения разрешающей дозы антигена. Об интенсивности реакции судили по проценту отека [12], который рассчитывали как $(a - b) / b \cdot 100\%$, где *a* — объем правой лапы, *b* — объем левой лапы. Крыс с процентом отека не менее 50 % использовали для дальнейшей работы. На следующий день после определения интенсивности отека лапы крысам вводили

разрешающую дозу овальбумина (10 мкг в 0,1 мг 0,9 % NaCl). Через час оценивали местную экссудативную реакцию. Таблетки Д и Д+ вводили в желудок в виде порошка в дозе 200 мг/кг за 1, 2, 4 и 24 ч до введения разрешающей дозы. Контролем служили крысы, которым вводили плацебо. В каждой группе было 6 животных.

Ие. Противогистаминную активность изучали на 174 морских свинках массой 300 – 350 г. Д+ или Д в виде порошка вводили в желудок в дозах 2,5; 5; 10; 25; 50; 100 и 200 мг/кг за 1, 24, 48 или 72 ч до ингаляции 1 % раствором гистамина, приготовленного на 5 % водном растворе глицерина, в течение 5 мин в камере объемом 8 л, соединенной с ингалятором фирмы “Хирана” (Чехословакия). В каждой группе было 6 животных. Контролем служили 6 морских свинок, которым вводили плацебо. Определяли смертность животных в течение 1 ч после ингаляции. Активность препаратов рассчитывали по эффективной дозе, способной предотвращать гибель 50 % животных (ЭД₅₀).

Иж. Определение параметров фармакокинетики Д и Д+ [13] проводили на 5 кроликах породы Шиншилла массой 2,8 – 3,3 кг. За сутки до эксперимента животных не кормили, оставляя при этом питьевой режим *ad libitum*. Препараты вводили в таблетках в дозе 400 мг на животное на корень языка без предварительного измельчения. Пробы крови отбирали из ушной вены через 0,5; 1, 2, 4, 6 и 24 ч после приема препаратов, центрифугировали. К 400 мкл полученной сыворотки добавляли 50 мкл 1н. NaOH и проводили экстракцию эфиром. Эфирный слой упаривали в токе инертного газа и остаток растворяли в 100 мл этанола. Извлечение Д в виде основания из плазмы крови составило 80 %. Концентрацию препаратов определяли по содержанию основания Д в пробах на хроматографе Waters с объемом петли 50 мкл. Была использована колонка μ -Bondapak C₁₈, 10 мкм (300 · 4,6 мм). Элюент: метанол/фосфатный буфер (рН 6,7 80/20), скорость потока — 1 мл/мин. Время выхода основания — 7,5 мин. Предел обнаружения — 0,1 мкг/мл. Фармакокинетические параметры определяли согласно [14].

2. Клинические испытания эффективности Д+ проводили на 25 пациентах с аллергическим риноконъюнктивитом, с повышенной чувствительностью к аллергенам пыльцы березы (*Betula*) и тимopheевки (*Pleum pratense*). Диагноз поллиноза устанавливали на основании данных аллергологического анамнеза, положительных кожных прик-тестов и провокационных назальных тестов с пыльцевыми аллергенами. Исследование антигистаминной и антиаллергической активности Д+ и других блокаторов Н₁-гистаминовых рецепторов проводили в период клинической ремиссии заболевания, с декабря 1999 года по март 2000 года.

Противогистаминную и антиаллергическую активность антагонистов исследуемых препаратов определяли в тестах *in vivo*, используя метод кожного прик-титрования десятикратными разведениями гистамина и аллергена и провокационного назального титрования двукратными разведениями последних. Вызванные гистамином и аллергеном реакции тестировали в период максимального противогистаминного действия препаратов (для Д+ тестирование проводили через 1,5 ч после приема таблеток внутрь). Тестирование препаратов проводили через произвольные интервалы времени, но не ранее, чем через 72 ч после предыдущего тестирования. Каждый пациент тестирован со всеми блокаторами Н₁-гистаминовых рецепторов (в виде таблеток) — с Д+ (400 мг), лоратадином (10 мг), эбастином (10 мг), фексофенадином (120 мг), цетиризином (10 мг) и клемастином (1 мг). Размеры гистамин- и аллерген-индуцированных волдырей до и после приема препаратов выражали в абсолютных значениях и в относительных величинах, выраженных в процентах по отношению к исходным показателям. Пороговым прик-титром гистамина и аллергена считали их минимальную концентрацию, дающую положительную волдырную реакцию диаметром не менее 3 мм. Пороговым титром при провокационном назальном титровании считали минимальную концентрацию гистамина и аллергена, дающую положительную реакцию, фиксируемую исследователем на слизистой нижней носовой раковины. Результаты оценены инди-

Таблица 1

Влияние диазолина и диацина на повреждение слизистой оболочки желудка у крыс, вызванное этанолом и индометацином в комбинации с соляной кислотой

Препараты	Длина участка повреждения в мм
Контроль	
Этанол (n = 12)	69 ± 7,7
Индометацин + HCl (n = 10)	78,6 ± 11,4
Диацин + этанол (n = 14)	4,2 ± 0,6**
Диацин + индометацин + HCl (n = 12)	42 ± 5,2**
Диазолин + этанол (n = 12)	87,8 ± 13,2*
Диазолин + индометацин + HCl (n = 11)	84,4 ± 11,1*

* p < 0,05.
** p < 0,01 по сравнению с контролем

Таблица 2

Влияние диацина и диазолина на антиген-индуцированный отек лапы у активно сенсибилизированных крыс

Препарат	Время применения препарата до введения разрешающей дозы антигена, ч	Отек лапы, % по сравнению с контролем
Диацин	1	85,3 ± 1,6*
	2	74,4 ± 3,1*
	4	72,8 ± 4,4*
	24	81,5 ± 1,7*
Диазолин	1	98,7 ± 1,9
	2	91,0 ± 3,0
	4	78,0 ± 2,9*
	24	92,3 ± 2,8

* p < 0,05 по сравнению с контролем

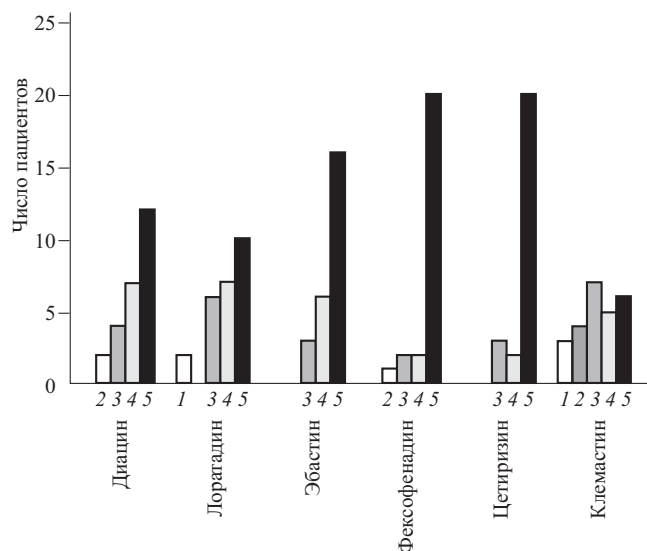


Рис. 1. Противогистаминная активность диацина и известных блокаторов H_1 -гистаминовых рецепторов. 1-й столбик – торможение волдырной реакции на гистамин (0,1 мг/мл) в диапазоне 0 – 20 %, 2-й столбик — 21 – 40 %, 3-й столбик — 41 – 60 %, 4-й столбик — 61 – 80 %, 5-й столбик — 81 – 100 %.

видуально для каждого пациента. 15 пациентам, у которых отмечено торможение под влиянием $D+$ гистамин-индуцированной реакции более чем на 70 % $D+$ препарат был отобран в качестве базисной терапии в сезон клинических проявлений.

Статистическая обработка результатов исследования. Для статической обработки были использованы непараметрические методы: U-критерий Манна – Уитни, V-критерий Вилкоксона. Для сравнения величин, выраженных в процентах, использовали метод ф-преобразований Фишера [15].

Результаты и их обсуждение

Установлено, что в дозе 100 мг $D+$ и D не влияют на длительность снотворного эффекта гексенала, величину систолического давления и частоту пульса, а также на кислотообразующую функцию желудка. Однако, в отличие от D , $D+$ не только не усиливает повреждающее действие этанола и индометацина в сочетании с HCl на желудок, но и ослабляет его (табл. 1).

Как следует из данных, приведенных в табл. 2, через 1, 2, 4 и 24 ч после введения $D+$ оказывает антианафилактическое действие, угнетая экссудативную

Таблица 3
Влияние диазолина и диацина на токсическое действие аэрозоля гистамина у морских свинок

Препарат	ЭД ₅₀ , мг/кг, после введения препарата через			
	1 ч	24 ч	48 ч	72 ч
Диазин	3,9 ± 0,8	5,8 ± 1,1	9,9 ± 2,7	32,7 ± 6,4*
Диазолин	4,1 ± 0,5	6,5 ± 0,9	11,2 ± 2,4	49,6 ± 7,3

* $p < 0.05$ по сравнению с диазолином

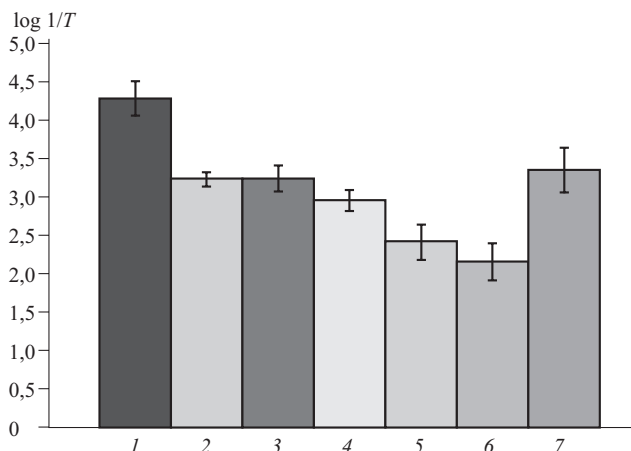


Рис. 2. Изменение титра аллерген-индуцированной кожной реакции (прик-тест) после однократного приема блокаторов H_1 -гистаминовых рецепторов. Условные обозначения: по оси ординат — модуль десятичных логарифмов пороговой концентрации аллергена при десятикратном разведении у 25 пациентов, по оси абсцисс: 1 — контроль, 2 — диазин, 3 — лоратадин, 4 — эбастин, 5 — фексофенадин, 6 — цетиризин, 7 — клемастин.

реакцию. При этом пик активности препарата наблюдается при его применении за 4 ч до введения разрешающей дозы антигена. При этом D оказался менее эффективным.

В тесте токсичности с гистамином максимальный эффект D и $D+$ проявляется через 1 ч после их введения (табл. 3). В дальнейшие сроки наблюдения происходило снижение ЭД₅₀, что свидетельствует об уменьшении противогистаминной активности препаратов, которая была наименьшей через 72 ч после их введения.

Установлено, что фармакокинетика D и $D+$ описывается двухкамерной моделью. Как следует из данных, приведенных в табл. 4, фармакокинетические параметры D и $D+$ практически не отличаются между собой, что говорит об отсутствии влияния цинка на фармакокинетику диазолина. Таким образом, различие в антиаллергических эффектах препаратов, по всей видимости, связано с влиянием цинка на иммунную систему. Действительно, как показано в литературе

Таблица 4
Фармакокинетические параметры диацина и диазолина

Параметр	Диазолин	Диазин
Клиренс, л/ч	13,4 ± 1,2	15,7 ± 2,4
Кажущийся объем распределения, л	385 ± 39,4	340 ± 19,6
Константа скорости выведения, ч ⁻¹	0,035 ± 0,005	0,040 ± 0,005
Время полувыведения, ч	19,8 ± 1,6	17,3 ± 2,5
Площадь под фармакокинетической кривой, мкг/мл · ч	31,2 ± 3,6	28,9 ± 6,1
Максимальная концентрация, мкг/мл	0,98 ± 0,09	0,99 ± 0,09
Время достижения максимальной концентрации, ч	4	4

[8 – 10], цинк оказывает противоаллергическое действие, стимулируя дифференцировку Т-хелперов по пути Т-хелперы первого типа.

Клинические испытания показали, что наибольшая степень торможения кожной реакции на гистамин (от 81 до 100 %) отмечается у большего числа пациентов, получавших Д+, эбастин, фексофенадин и цетиризин (торможение Д+ кожной реакции на гистамин менее 20 % не отмечено ни у одного пациента). Клемастин и лоратадин проявляют низкую степень торможения (менее 20 %) при тестировании на тех же пациентах (рис. 1).

Как видно из рис. 2, по противогистаминной активности Д+ не отличается от современных препаратов.

При изучении торможения блокаторами H₁-гистаминовых рецепторов реакции слизистой носа на гистамин показано, что степень торможения назальной гистамин-индуцированной реакции соответствует кожной реакции на гистамин. Это позволяет предположить, что системное применение изученных блокаторов H₁-гистаминовых рецепторов в одинаковой степени угнетает чувствительность к гистамину обеих тканей (кожи и слизистой носа). Статистически достоверных различий в степени подавления назальной реакции на гистамин между Д+, лоратадином и эбастинном не выявлено. Д+ тормозит и назальную, и кожную реакцию на гистамин значительно сильнее, чем препарат первого поколения клемастин.

Терапевтическую эффективность Д+ при его назначении по 200 мг 2 раза в сутки в течение 2 недель оценивали по 3-х балльной шкале по влиянию на назальные и неназальные проявления риноконъюнктивита: выделения из носа, чихание, зуд в носу, заложенность носа, зуд глаз, слезотечение, покраснение глаз, зуд в ушах, зуд неба. Учитывали объективные и субъективные симптомы в течение 2 недель при 3 визитах пациентов (входной визит, последующие контрольные визиты через 7 и 14 дней). Пациенты вели ежедневное самонаблюдение, результаты которого заносили в дневник наблюдения и предоставляли для оценки исследователю при контрольных визитах. В течение всего сезона опыления проводилось ежедневное монито-

рирование содержания зерен пыльцы в воздухе при помощи пылевой ловушки Бургарда.

Уже при содержании пыльцы в воздухе $56,6 \pm 30,6$ зерен/м³ пациенты обращались с выраженными клиническими проявлениями риноконъюнктивита, оцененными по 3-балльной шкале на $2,3 \pm 0,08$ балла.

Терапевтическая эффективность Д+ установлена у пациентов: у 93,3 % пациентов, принимавших препарат, подавление симптомов риноконъюнктивита составляет не менее 50 % и у 46,7 % пациентов — 75 %. Только у 1 пациента клинический эффект менее 50 %.

Терапевтическая эффективность индивидуально подобранного Д+ сопоставима с таковой других блокаторов H₁-гистаминовых рецепторов.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. И. Балаболкин, Т. Э. Боровик, И. М. Воронцов и др., *Научно-практическая программа "Атопический дерматит у детей: диагностика, лечение и профилактика"*, Москва (2000).
2. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Новая волна, Москва (2000).
3. R. Guzzetti and F. Saggiorato, *Clin. Ther.*, **166**, 109 – 114 (1986).
4. J. Waitzinger, H. Lenders, G. Pabst, et al, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **33**, 373 – 383 (1995).
5. E. Yaniv, D. Oppenheim, and C. Fushs, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, **23**, 51 – 57 (1992).
6. G. Singh, *Int J. Dermatol.*, **23**, 627 – 628 (1984).
7. М. М. Десницкая, Г. Н. Червериков, Р. Г. Дианова, *Фармакол. токсикол.*, **43**, 62 – 65 (1980).
8. A. S. Prasad, *Moll. Cell. Biochem.*, **188**, 63 – 69 (1998).
9. П. В. Сергеев, Н. Л. Шимановский, К. Г. Гуревич, *Аллергия, астма и клин. иммунол.*, № 12, 19 – 23 (2000).
10. П. В. Сергеев, Н. Л. Шимановский, К. Г. Гуревич, *Международ. мед. журн.*, № 4, 99 – 102 (2000).
11. H. Shay, S. Komarov, and S. Fels, *Gastroenterol.*, **5**, 43 – 61 (1945).
12. Н. Ф. Измеров, И. В. Саноцкий, К. К. Сидоров, *Параметры токсикологии промышленных ядов при однократном воздействии*, Медицина, Москва (1977).
13. В. Р. Юдашева, М. В. Икрамова, *Суд. мед. эксперт.*, **34**, 46 – 48 (1991).
14. С. Д. Варфоломеев, К. Г. Гуревич, *Биокинетика*, Фаир-пресс, Москва (1999).
15. В. Ю. Урбах, *Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях*, Медицина, Москва (1975).

Поступила 05.07.01.