

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
MEDICINOS AKADEMIJA

Asta Kubilienė

**IBOGAINO IR NORIBOGAINO
TOKSIŠKUMO IR FARMAKOKINETINIŲ
SAVYBIŲ TYRIMAS**

Daktaro disertacija
Biomedicinos mokslai,
farmacija (08B)

Kaunas, 2013

Disertacija rengta 2005–2013 metais Lietuvos sveikatos mokslų universitete.

Moksliniai vadovai:

prof. dr. Audrius Sveikata (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, biomedicinos mokslai, farmacija – 08B) nuo 2012 m. lapkričio 14 d.

prof. habil. dr. Paulius Vainauskas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, biomedicinos mokslai, farmacija – 08B) 2005–2012 m.

Konsultantė:

dr. Ilona Sadauskienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, biomedicinos mokslai, biologija – 01B)

TURINYS

SANTRUMPOS	6
IVADAS	7
1. LITERATŪROS APŽVALGA	10
1.1. Ibogaino ir noribogaino cheminė struktūra ir fizikinės savybės.....	12
1.1.1. Ibogaino ir noribogaino cheminė struktūra	12
1.1.2. Fizikinės ibogaino savybės.....	13
1.2. Ibogaino ir noribogaino nustatymo <i>in vivo</i> metodikos	13
1.3. Ibogaino ir noribogaino farmakologinių savybių apžvalga	17
1.3.1. Farmakodinaminės savybės.....	18
1.3.1.1. Ibogaino ir noribogaino veikimo mechanizmas	18
1.3.1.1.1. <i>Poveikis dopamininei sistemai</i>	20
1.3.1.1.2. <i>Poveikis opioidinei sistemai</i>	21
1.3.1.1.3. <i>Poveikis serotonino sistemai</i>	23
1.3.1.1.4. <i>Poveikis glutamato receptoriams</i>	24
1.3.1.1.5. <i>Poveikis viduląstelinio Ca^{2+} reguliacijai</i>	25
1.3.1.1.6. <i>Poveikis cholinerginei sistemai</i>	25
1.3.1.1.7. <i>Poveikis GABA sistemai</i>	26
1.3.2. Ibogaino ir noribogaino farmakokinetinės savybės.....	26
1.3.2.1. Ibogaino ir noribogaino absorbcija organizme	27
1.3.2.2. Ibogaino ir noribogaino pasiskirstymas organizme	27
1.3.2.3. Ibogaino biotransformacija.....	29
1.3.2.4. Ibogaino ir noribogaino eliminacija	31
1.4. Ibogaino ir noribogaino ikiklinikinių saugumo tyrimų duomenys	32
1.4.1. Ibogaino ir noribogaino toksinis poveikis gyvūnams.....	32
1.4.1.1. Ūminės ir kartotinių dozių neurotoksinis poveikis	33
1.4.1.2. Poveikis širdies ir kraujagyslių sistemai	34
1.4.2. Ikiklinikinių tyrimų rezultatai	35
1.5. Pirmieji ibogaino klinikiniai tyrimai	37
1.5.1. Ibogaino vartojimo ypatumai priklausomybės nuo psichotropinių medžiagų mažinimui	37
1.5.2. Ibogaino vartojimas lengvinant abstinencijos požymius.....	38
2. TYRIMŲ OBJEKTAS IR METODAI	39
2.1. Tyrimų objektas ir reagentai.....	39
2.2. Tyrimų metodai	41
2.2.1. Tiriamosios medžiagos ir pelių paruošimas	41
2.2.2. Tiriamosios medžiagos įvedimas ir mėginių paėmimas.....	41
2.2.3. Kietosios fazės ekstrakcija	42
2.2.4. Efektyvioji skysčių chromatografinė analizė	43
2.2.5. Vidutinės mirtinosios dozės (LD_{50}) nustatymas.....	44

2.2.6. Tiriamųjų medžiagų koncentracijų pelių organuose nustatymas praėjus parai po jų vienkartinės dozės instiliavimo ir po 14 dienų kartotinių dozių	45
2.2.7. Farmakokinetinių parametrų nustatymas	46
2.2.8. Duomenų statistinis įvertinimas	47
3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	48
3.1. Ibogaino ir noribogaino vidutinės mirtinosios dozės nustatymas	48
3.2. Efektyviosios skysčių chromatografijos metodikos pritaikymas ir validacija ibogaino ir noribogaino koncentracijų pelių kraujo plazmoje ir organuose nustatymui	50
3.3. Ibogaino, jo biotransformacijos metu susidariusio metabolito N ₁ ir noribogaino koncentracijų pelių organuose nustatymas, praėjus 24 val. po vienkartinės tiriamų medžiagų dozių instiliavimo į skrandį	55
3.3.1. Ibogaino ir noribogaino koncentracijų organuose nustatymas ir palyginimas, praėjus 24 val. po instiliavimo į laboratorinių pelių skrandį ...	56
3.3.2. Ibogaino biotransformacijos metu susidariusio metabolito koncentracijos pelių organuose nustatymas, praėjus 24 val. po vienkartinės ibogaino dozės instiliavimo į laboratorinių pelių skrandį	58
3.3.3. Noribogaino ir metabolito N ₁ koncentracijų po 24 val. laboratorinių pelių organuose palyginimas	63
3.3.4. Rezultatų apibendrinimas	63
3.4. Ibogaino ir noribogaino farmakokinetinių savybių tyrimas	65
3.4.1. Ibogaino ir noribogaino farmakokinetinių parametrų pelių kraujo plazmoje nustatymas	65
3.4.1.1. Ibogaino, noribogaino ir metabolito N ₁ absorbcija pelių kraujo plazmoje	66
3.4.1.2. Ibogaino, noribogaino ir metabolito N ₁ pasiskirstymas pelių kraujo plazmoje	69
3.4.1.3. Ibogaino, noribogaino ir metabolito N ₁ eliminacija iš pelių kraujo plazmos	69
3.4.2. Ibogaino ir noribogaino farmakokinetinių parametrų tyrimas laboratorinių pelių organuose	71
3.4.2.1. Farmakokinetiniai parametrai pelių blužnyje	71
3.4.2.2. Farmakokinetiniai parametrai pelių kepenyse	72
3.4.2.3. Farmakokinetiniai parametrai pelių širdyje	74
3.4.2.4. Farmakokinetiniai parametrai pelių griaučių skersaruožuose raumenyse	75
3.4.2.5. Farmakokinetiniai parametrai pelių smegenyse	76
3.4.2.6. Farmakokinetiniai parametrai pelių inkstuose	79
3.4.3. Rezultatų apibendrinimas	80
3.5. Keturiolikos dienų ibogaino ir noribogaino vartojimo įtakos šių medžiagų kaupimuisi pelių organuose tyrimas	82
3.5.1. Ibogaino ir metabolito N ₁ koncentracijos pelių organuose ir poveikis pelių kūno masės kitimui po kartotinių ibogaino dozių	83

3.5.1.1. Ibogaino poveikis pelių kūno masės kitimui	83
3.5.1.2. Kartotinių dozių įtaka ibogaino kaupimuisi laboratorinių pelių organuose.....	84
3.5.2. Noribogaino koncentracija organuose ir poveikis pelių kūno masės kitimui po kartotinių noribogaino dozių.....	88
3.5.2.1. Noribogaino poveikis pelių kūno masės kitimui	88
3.5.2.2. Kartotinių dozių įtaka noribogaino kaupimuisi laboratorinių pelių organuose.....	89
3.5.3. Rezultatų apibendrinimas	91
IŠVADOS.....	93
BIBLIOGRAFIJOS SĄRAŠAS	94
DISERTACIJOS TEMA PASKELBTŲ PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS.....	108

SANTRUMPOS

18-MC	18-metoksikoronaridinas, sintetinis alkaloidas
5-HT	5-hidroksitriptaminas (serotoninas)
AC	adenililciklazė
AKS	arterinis kraujospūdis
AUC _{tot}	plotas po koncentracijos ir laiko kreive (angl. <i>area under curve</i>), bendra sisteminė ekspozicija
CL	klirensas
C _{max}	didžiausioji koncentracija
CNS	centrinė nervų sistema
D	dopaminas
DC	dujų chromatografija
ESC	efektyvioji skysčių chromatografija
GABA	gama aminosviesto rūgštis
GDNF	neurotrofinio augimo veiksnys (ang. <i>glial cell line-derived neutrophic factor</i>)
GFAP	glijos skaidulinis rūgštinis baltymas (ang. <i>glial fibrillary acidic protein</i>)
K _i	slopinamoji (inhibuojamoji) koncentracija
LD ₅₀	vidutinė mirtinoji dozė; dozė, kuri žudo pusę (50 proc.) tiriamų gyvūnų
MS	masių spektrometrija
n	tiriamųjų skaičius
NMDA	N-metil-D-aspartatas
Rs	skiriamoji geba
SC	skysčių chromatografija
SERT	serotonino perkėlikliai
SFE	sausos fazės ekstrakcija
SN	standartinis nuokrypis
ŠSD	širdies susitraukimų dažnis
t _{1/2}	pusinės eliminacijos laikas
TFA	trifluoracto rūgštis
Vd	pasiskirstymo tūris
UESC	ultra efektyvioji skysčių chromatografija

IVADAS

Europos narkotikų ir narkomanijos stebėsenos centro (EMCDDA) duomenimis, Europos regione atsiranda ir vartojama vis daugiau naujų psichoaktyviųjų medžiagų [Europos narkotikų vartojimo paplitimo ataskaita, 2013]. Tai leidžia teigti, kad įvairių psichoaktyviųjų medžiagų vartojimas ir piktnaudžiavimas jomis yra aktuali problema.

Pradedantieji opiatų ir amfetamino vartotojai nurodo narkotiką vartoję parenteraliai [Europos narkotikų vartojimo paplitimo ataskaita, 2013]. Dažnos intraveninės injekcijos gali sukelti sunkių nepageidaujamų reakcijų, neleidžiančių gydymo tikslais naudoti švirkščiamųjų preparatų. Geriamųjų preparatų vartojimas gydymui nuo psichotropinių medžiagų priklausomybės metu laikytinas saugesniu bei veiksmingesniu.

Atliekant tyrimus pastebėta, kad alkaloidas ibogainas, kurį kaupia Afrikoje augantis *Apocynaceae* Juss (liet. stepukinių) šeimai priklausantis augalas *Tabernanthe iboga* Baill. (liet. šventasis stogenis), mažina priklausomybę nuo opiatų [Dzolfic ir kt., 1988] ir lengvina abstinencijos požymius [Alper ir kt., 1999], todėl XX a. pabaigoje pradėti moksliniai tyrimai, kurių pagrindinis tikslas – ištirti ibogaino veikimo mechanizmą. Ibogaino farmakodinamika yra labai sudėtinga: nustatyta, kad ibogainas veikia CNS, tačiau fiziologinis ir psichotropinis veikimas nėra pilnai išaiškintas [Mačiulaitis ir kt., 2008], o farmakokinetika ir toksiškumas mažai ištirti. Literatūroje paskelbti farmakokinetiniai duomenys yra prieštaringi: vieni šaltiniai teigia, kad didžiausia ibogaino koncentracija graužikų kraujyje nustatoma praėjus 30 min. po injekcijos į veną [Hough ir kt., 2000], kiti – praėjus 1 min. [Baumann ir kt., 2001]. Mokslinės literatūros šaltiniuose dažniausiai ibogainas į organizmą įvedamas švirkščiant į paodį ar į pilvo ertmę. Paskelbti rezultatai apie ištirtus žmonių, kaip įtariama apsinuodijusių *T. iboga* augalu, organus [Kontrimavičiūtė ir kt., 2006a; Cheze ir kt., 2008] neinformatyvūs, nes nėra tikslių duomenų apie ibogaino vartojimo būdą, trukmę ir dozę. Paskelbta duomenų apie ibogaino poveikį priklausomybę nuo psichotropinių medžiagų turintiems žmonėms, tačiau tyrimai nepatikimi, nes nustatyta mažai duomenų apie šios medžiagos poveikį organizmui. Nauji tyrimų rezultatai padės geriau įvertinti kokybinius ir kiekybinius ibogaino kitimus organizme, nes farmakokinetiniai parametrai lemia ir medžiagos veiksmingumą, ir toksinio poveikio riziką.

1995 m. nustatyta, kad ibogainas organizme biotransformuojasi į aktyvųjį metabolitą noribogainą, kuris gali lemti ilgalaikį ibogaino poveikį [Mash ir kt. 1995; Hearn ir kt., 1995]. Šio metabolito mokslinių farmakologinių tyrimų kol kas atlikta nedaug. Remiantis pirminiais tyrimų

rezultatais, manoma, kad noribogainas yra saugesnis, mažiau toksiškas ir sukelia mažiau nepageidaujamų reiškinių, lyginant su jo pirmtaku. Dažniausiai tiriamas po ibogaino pavartojimo organizme susidaręs metabolitas noribogainas, o ne po sintetinio noribogaino įvedimo į organizmą.

Siekiant nustatyti, ar noribogainas tikrai yra mažiau toksiškas ir gali būti veiksmingesnis gydant priklausomybes nei ibogainas, tikslinga atlikti toksiškumo tyrimą, nustatant ir palyginant šių medžiagų mirtinašias dozes, bei farmakokinetinį tyrimą, įvertinant farmakokinetinius parametrus bei savybes kauptis organizme, pasirinkus vieną tiriamų gyvūnų rūšį. Literatūros duomenimis, kokybiniam ir kiekybiniam ibogaino ir jo metabolito – noribogaino – nustatymui taikytos įvairios metodikos. Labai svarbu parinkti tinkamiausią ir prieinamiausią instrumentinės analizės metodiką. Farmakokinetinių parametrų nustatymas padeda parinkti tinkamą medžiagos dozę ir vartojimo intervalą, kad ji būtų veiksminga, bet nesukeltų toksinio poveikio.

Svarbu ieškoti naujų biologiškai aktyvių medžiagų, greitai ir efektyviai koreguojančių potraukį narkotinėms ir psichotropinėms medžiagoms, tuo pat metu sukeliant kaip galima mažiausią šalutinį poveikį, kurį būtų galima valdyti suprantant jo farmakologinius mechanizmus. Tikime, kad mūsų tyrimo duomenys bus naudingi planuojant tolimesnius klinikinius tyrimus su žmonėmis bei siekiant vartoti ibogainą ir noribogainą priklausomybių ligoms gydyti.

Darbo tikslas: ištirti ibogaino ir noribogaino toksiškumą ir farmakokinetines savybes taikant eksperimentinį laboratorinių pelių modelį.

Uždaviniai:

1. Nustatyti ibogaino ir noribogaino toksiškumą, apskaičiuojant šių medžiagų vidutinę mirtinąją dozę (LD_{50}) laboratorinėms pelėms.
2. Pritaikyti ir validuoti efektyviosios skysčių chromatografijos (ESC) metodiką ibogaino ir noribogaino analizei laboratorinių pelių kraujo plazmoje ir vidaus organuose.
3. Išskirti ibogainą ir noribogainą iš laboratorinių pelių kraujo plazmos ir vidaus organų mėginių ir atlikti kiekybinį įvertinimą.
4. Nustatyti ibogaino ir noribogaino farmakokinetinius parametrus pelių kraujo plazmoje ir organuose.
5. Ištirti vienkartinės ir kartotinių ibogaino ir noribogaino dozių įtaką šių medžiagų kaupimuisi pelių organuose.

Mokslinio darbo naujumas ir mokslinė reikšmė. Atliktas tyrimas, kurio metu ibogaino ir noribogaino patekimui į organizmą pasirinkta ins-

tiliavimo tiesiai į pelės skrandį metodika. Pasiekus klinikinių tyrimų etapą su žmonėmis, geriamasis būdas būtų patogiausias medžiagų vartojimui.

Pirmą kartą nustatytas ibogaino ir noribogaino ūminis toksiškumas (LD_{50}) pelėms. Nustatyti tiriamų medžiagų ir biotransformacijos metu susidariusio metabolito farmakokinetiniai parametrai pelių kraujo plazmoje leidžia praplėsti žinias apie ibogaino ir noribogaino absorbciją, pasiskirstymą bei šalinimąsi iš organizmo. Lyginant mūsų tyrimo metu nustatytus su literatūroje aprašytais tiriamų medžiagų farmakokinetiniais parametrais pelių kraujo plazmoje po skirtingų įvedimo į organizmą būdų galima spręsti, kuris vartojimo būdas yra racionalesnis.

Tyrimuose su gyvūnais, ibogaino ir noribogaino farmakokinetiniai parametrai nustatyti tik pelių smegenyse, todėl mūsų atliktas tyrimas, nustatant šiuos parametrus ir kituose organuose yra neabejotinai aktualus, siekiant įvertinti kiekybinius ibogaino ir noribogaino kitimus organizme, įtakojančius biologiškai aktyvios medžiagos veiksmingumą.

Literatūroje teigiama, kad ibogaino ilgalaikį poveikį lemia metabolitas – noribogainas, kuris yra saugesnis ir mažiau toksiškas, lyginant su pirmtaku. Tyrimo metu nustatyti ir įvertinti noribogaino farmakokinetiniai parametrai po sintetinio noribogaino ir po ibogaino pavartojimo.

Apskaičiuotos ibogaino, jo biotransformacijos metu susidariusio noribogaino ir sintetinio noribogaino koncentracijos pelių organuose praėjus 24 val. po vienkartinio medžiagos instiliavimo į skrandį ir po 14 d. kartotinių dozių. Gauti tyrimų rezultatai parodė, kad ibogainas turi polinkį kauptis pelių širdyje, o noribogainas – smegenyse. Tokio pobūdžio tyrimas yra naujas, nes mokslinės literatūros šaltiniuose duomenų apie ibogaino ir noribogaino kaupimosi galimybę organizme mums rasti nepavyko, o gauti duomenys svarbūs tiek vertinant biologiškai aktyvios medžiagos veiksmingumą, tiek toksinio poveikio riziką. Gauti tyrimų rezultatai naudingi ir informatyvūs siekiant toliau atlikti klinikinius tyrimus su žmonėmis.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

Ibogainas yra indolo grupės alkaloidas, priskiriamas prie psichoaktyviųjų alkaloidų grupės. Šis alkaloidas mažina priklausomybę nuo opiatų [Dzoljic ir kt., 1988], lengvina abstinencijos požymius [Alper ir kt., 1999] bei mažina potraukį į alkoholį [Rezvani ir kt., 1995; He ir kt., 2005]. Tačiau jo toksiškumas mažai ištirtas. Be to, yra išskirtas ir analizuojamas ibogaino aktyvusis metabolitas noribogainas, kuris susidaro biotransformuojantis ibogainui kepenyse veikiant citochromo P450 fermentams [Obach ir kt., 1998] ir sukelia panašų poveikį, kaip ibogainas: mažina potraukį į morfiną ir kokainą, slopina judėjimo funkciją [Glick ir kt., 1996].

Ibogainas išgaunamas iš krūmo *Tabernanthe iboga* Baill., augančio drėgnose atogrąžų Vakarų ir Centrinės Afrikos srityse. Šis augalas priklausančio stepukinių (*Apocynaceae* Juss) šeimai, *Tabernanthe* genčiai, *Iboga* rūšiai. *Tabernanthe iboga* auga. Šiai šeimai priklauso nedideli krūmai ir medžiai. *T. iboga* dažniausiai auga iki 2 metrų aukščio, kartais gali siekti ir 10 metrų aukštį. Lapai smulkūs, žalios spalvos. Žiedai balti arba rožiniai. Vaisiai saldūs, oranžinės spalvos, ištįsusio ovalo arba ovalūs rutulio formos, ant šakelių dažniausiai auga poromis. Šakniavaisiai geltonos spalvos, kartaus skonio.

Tabernanthe iboga augalo šakniavaisiuose kaupiasi daug indolo grupės alkaloidų. Iš šio augalo išskirti sekantys alkaloidai: ibogainas, ibogalinas, tabernantinas, ibogaminas, iboluteinas, desmetoksiiboluteinas, gaboninas, kisaninas, kimvulinas [Neuss, 1959]. Pagrindinis ir svarbiausias jų yra ibogainas, kuris sudaro maždaug 80 proc. visų šių alkaloidų. Didžiausia šio alkaloido koncentracija (5-6 proc.) nustatoma šakniavaisių žievėje.

XIX amžiuje belgų ir prancūzų mokslininkai pradėjo tirti šį augalą, augantį Afrikoje. Vietos gyventojai pastebėjo, kad šio krūmo šaknų žievė yra veiksmingas stimulatorius ir afrodiziakas – pavartojus jos, raumenys būna stipresni ir ištvermingesni, padidėja lytinis potraukis [Cousins ir kt., 2002]. Kelios gentys pastebėjo, kad suvalgius didelę dozę šių šaknų atsiranda regėjimai, o kartais net ištinka mirtis. Šis augalas pradėtas vartoti per religinius ritualus [Pope, 1969], kurių tikslas buvo susisiekti su protėvių dvasiomis [Alper ir kt., 2008]. Kai kurios augalo dalys vartotos kūno negalavimams gydyti: sultis vartojo sifiliui ir raupams, lapų sakus – dantų ligoms gydyti [Cousins ir kt., 2002]. 1958 m. paskelbta, kad ibogainas veikia lytinę elgseną. Afrikoje jis vartotas kaip afrodiziakas. Farmakologinių duomenų, kad ibogainas skatina lytinę funkciją, nėra [Popik ir kt., 1995a]. *T. iboga* augalas buvo siūlomas nevaisingumui gydyti [Fernandez, 1982].

Nuo 1998 m. pradėtas tirti antimikrobinis šio augalo poveikis. Tyrimų *in vitro* duomenimis, jis veikia *Mycobacterium tuberculosis* [Rastogi ir kt., 1998], atogrąžų parazitų *Leishmania amazonensis* [Delorenzi ir kt., 2002], turi poveikį žmogaus vėžinėms ląstelėms [Kam ir kt., 2004] ir žmogaus imunodeficito 1 tipo virusui [Silva ir kt., 2004]. Tyrimuose su gyvūnais nustatyta, kad *T. iboga* aktyviai veikia *Candida albicans* [Yordanov ir kt., 2005].

1950 m. pastebėta, kad ibogainas yra kai kurių haliucinogeninių mišinių sudedamoji dalis. Kai kurie gydytojai susidomėjo galimybe ibogainu gydyti psichozę [Alper ir kt., 2008] arba naudoti kaip pagalbinę psichoterapijos priemonę [Snelders ir kt., 2002]. 1962 m. mokslininkai ibogainą pradėjo tirti kaip medžiagą, lengvinančią abstinencijos simptomus. Pastebėta, kad asmenys, vartoję ibogainą, abstinencijos simptomų nepatyrė [Lotsof ir kt., 2001].

Pasaulyje 1990–2006 metais pranešta apie vienuoliką atvejų, kai žmogus mirė 72 val. laikotarpiu po ibogaino pavartojimo. Kai kurie autoriai mirties priežastimi laiko Purkinė ląstelių degeneraciją, nors toks poveikis įrodytas tik vartojant dideles ibogaino dozes (100 mg/kg į pilvaplovę) [Alper, 2001; Popik ir kt., 1998; Glick ir kt., 2001]. Kai kuriais atvejais mirties priežastimi laikomas opioidų perdozavimas arba ibogaino sukeltas padidėjęs šių medžiagų toksiškumas [Alper, 2001; Popik ir kt., 1998]. Dažniausiai mirties priežastimi laikoma toksinis ibogaino poveikis širdies ir kraujagyslių sistemai: miokardo infarktas, kardiomiopatija, širdies vožtuvo ligos ar plaučių tromboembolija. Iškelta hipotezė, kad mirtis po ibogaino pavartojimo ištinka staiga sustojus širdžiai – šį sutrikimą lemia autonominės nervų sistemos sutrikimai, sukelti psichologinės įtampos [Maas, 2006].

Nėra pateikta tikslių išvadų, kokie pažeidimai ir priežastys lemia mirtį. Manoma, kad labiausiai ibogainas veikia CNS, širdies ir kraujagyslių sistemą [Cousins ir kt., 2002; Huffman ir kt., 2007].

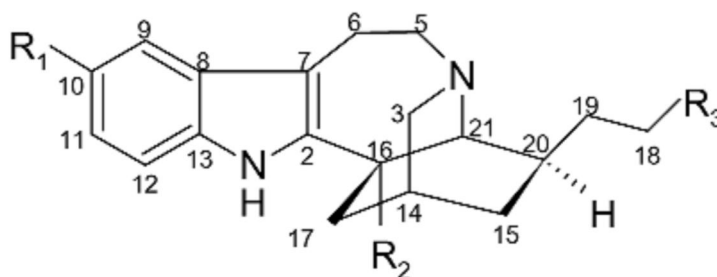
Mokslo duomenų bazėse galima rasti daug informacijos apie ibogaino tyrimus, tuo tarpu noribogainas yra mažai ištirta medžiaga. Ibogaino biotransformacijos metu organizme susidaręs noribogainas pradėtas tirti 1972 m. [Zetler ir kt., 1972], tačiau duomenų apie jo toksiškumą ir farmakokinetiką yra nedaug. Tad mūsų vykdomas tiriamasis darbas yra aktualus ir reikšmingas tolesniam šių dviejų medžiagų (ibogaino ir noribogaino) tyrimui.

1.1. Ibogaino ir noribogaino cheminė struktūra ir fizikinės savybės

1.1.1. Ibogaino ir noribogaino cheminė struktūra

Pirmą kartą ibogainą 1901 m. išskyrė J. Dybowski ir E. Landrinas [Pope, 1969]. Ibogaino ir jam giminingų alkaloidų cheminė struktūra nustatyta 1957 m. [Taylor, 1957]. Jo molekulinė formulė – $C_{20}H_{26}N_2$, molekulinė masė – 310. Į ibogaino struktūrą panašūs alkaloidai yra harmalinas, tabernantinas, ibogaminas, gaboninas, kisantinas, iboluteninas, iboksigainas. Ibogaino sintezė paskelbta 1965 m. [Büchi ir kt., 1966]. Sintezė vyksta iš nikotinamido per 14 pakopų [Rosenmund ir kt., 1975]. Naujų sintezės būdų ieškoma iki šiol [Repke ir kt., 1994; Jana ir kt., 2012]. 1976 m. publikuoti kelių *T. ibogos* alkaloidų ^{13}C magnetinio rezonanso spektrai [Wenkert ir kt., 1976].

Noribogainas yra aktyvusis ibogaino metabolitas [Mash ir kt., 1995; Hearn ir kt., 1995], kurį galima gauti ir sintezės būdu [Mash ir kt., 2003; Jana ir kt., 2012; Moriarty ir kt., 2012]. Noribogaino molekulinė masė – 296.



Alkaloidas	R ₁	R ₂	R ₃
Ibogainas	OCH ₃	H	H
Noribogainas	OH	H	H
18-metoksikoronaridinas	H	CO ₂ CH ₃	OCH ₃

Tiriant, kokią įtaką cheminė struktūra turi *T. ibogos* alkaloidų veikimui, pastebėta tendencija – kojų ir rankų drebinimą lemia 10 ir 11 padėčių metoksigrupės, o mažina – 16 padėties karbometoksigrupė [Zetler ir kt., 1972; Singbartl ir kt., 1973]. Tai patvirtino tyrimas, kurio metu 40 mg/kg noribogaino, skirtingai nei ibogainas, neturintis metoksigrupės 10 padėtyje, drebulio žiurkėms nesukelia [Glick ir kt., 1996]. Tokie patys tyrimo duomenys gauti ir skiriant 100 mg/kg 18-metoksikoronaridino (18-MC, sin-

tetinis *T. ibogos* rūšies atstovas), kuris, skirtingai nei ibogainas, neturi 10 padėties metoksigrupės, bet turi 16 padėties karbometoksigupę [Glick ir kt., 1996a]. 18-MC neturi ir poveikio CNS, kuris pasireiškia pavartojus ibogainą [Levi ir kt., 2002].

1.1.2. Fizikinės ibogaino savybės

Šio alkaloido bazė beveik netirpi vandenyje, tačiau labai gerai tirpsta alkoholyje, ypač šiltame, eteriye, chloroforme, acetone, benzene. Ibogaino hidrochlorido druska tirpi vandenyje ir alkoholyje, tačiau sunkiai tirpsta acetone, chloroforme ir visai netirpsta eteriye.

Ištirpinus ibogainą 80 proc. metilceliuliozės tirpale rūgštingumo konstanta $pK_a = 8,1$. Tai rodo, kad jis yra silpna bazė. Nustatyta lydimosi temperatūra 152 °C. Metanolinio tirpalo didžiausia absorbcija 226–296 nm. Etanoliniuose tirpaluose ibogainas kristalizuojasi į mažas, rausvas, prizmės formos adatėles.

Ibogainas jautrus šviesai ir šilumai, todėl būtina užtikrinti tinkamas laikymo ir saugojimo sąlygas. Jis lengvai oksiduojasi ore, vandeniniai tirpalai oksiduojasi į iboluteiną ir ibochiną [Popik ir kt., 1995a].

Šios fizikinės savybės svarbios ruošiant ibogaino tirpalus ir parenkant jo naudojimo būdą tolimesnio tyrimo metu. Vandeniniai tirpalai greitai oksiduojasi, todėl tirpalus reikia gaminti *ex tempore* prieš tyrimą, o vandenyje netirpi alkaloido bazė neleidžia gryno ibogaino naudoti injekcijų forma.

1.2. Ibogaino ir noribogaino nustatymo *in vivo* metodikos

Palyginę šiuolaikinius analizės metodus ir jau kelis dešimtmečius taikomus metodus galime pasirinkti tinkamiausią, selektyviausią ir veiksmingiausią metodą tiriamai medžiagai nustatyti.

Ibogainas *T. iboga* ekstraktuose ir biologiniuose skysčiuose (šlapime, plazmoje) nustatytas plonasluoksnės chromatografijos, UV ir IR spektrofotometrijos [Dhahir ir kt., 1972], dujų chromatografijos (DC) ir dujų chromatografijos-masių spektrometrijos (DC-MS) metodais [Gallagher ir kt. 1995; Hearn ir kt. 1995; Alburges ir kt. 1995; Ley ir kt. 1996] bei skysčių chromatografijos su elektrocheminiu detektoriumi metodu [Glick ir kt., 1996]. Vėliau ibogainas ir noribogainas nustatyti kraujo plazmoje skysčių chromatografijos-fluorescenciniu metodu [Kontrimavičiūtė ir kt., 2005], o biologiniuose skysčiuose ir audiniuose – skysčių chromatografijos-masių spektrometriniu (SC-MS) [Kontrimavičiūtė 2006; 2006a; 2006b] ir SC-

MS/MS metodais [Cheze ir kt., 2008; Mazoyer ir kt., 2012]. Pagrindinės taikytų tyrimo metodų charakteristikos apibendrintos 1.2.1 lentelėje.

Kokybiniam ibogaino nustatymui pirmiausia naudoti plonasluoksnės chromatografijos bei UV spektrofotometrijos metodai [Dhahir ir kt., 1972]. Šiais metodais ibogainas nustatytas ir identifikuotas biologiniuose skysčiuose (kraujyje, šlapime) ir organuose (kepenyse, inkstuose ir smegenyse). Plonasluoksnės chromatografijos metodu nustatytas ibogainas, kurio kiekis mėginiuose buvo 1 µg. Buvo teigiama, kad šie metodai tinkami ibogainui identifikuoti, tačiau UV spektrofotometrinės analizės metu ibogainas nėra atskiriamas nuo savo metabolito, nes indolo chromoforą turinčios abi medžiagos absorbuoja vienodo spektro ilgio bangas [Hearn ir kt., 1995]. Vėliau mėginta nustatyti ibogainą šlapimo bandiniuose dujų chromatografijos metodu [Cartoni, 1972]. Šis metodas buvo per mažai jautrus, norint nustatyti išsiskyrusį alkaloidą, dėl jo mažo lakumo [Hearn ir kt., 1995]. 1995 m. pritaikytas DC-MS metodas [Gallagher ir kt., 1995]. Šio metodo metu atlikta organinė ibogaino ekstrakcija ir derivatizacija trifluoracto anhidridu, padedanti apskaičiuoti ibogaino koncentraciją žiurkių smegenyse po vienkartinės 40 mg/kg injekcijos į pilvaplėvę. Šio metodo trūkumas – analizę reikėjo atlikti per 24 val., nes derivatizuotas ibogainas buvo nepatvarus. Ibogaino kiekio nustatymo riba buvo 50 ng/ml. Ieškant dar tikslesnio ir jautresnio būdo kiekybiškai nustatyti ibogainą ir jo metabolitą biologiniuose skysčiuose (kraujyje, plazmoje, šlapime) ir smegenyse taikytas DC-MS metodas, derivatizacijai naudotas N-metil-N-(tertbutildimetilsilil)-trifluoracetamidas. Mėginiai išliko stabilūs tris mėnesius, o nustatymo riba buvo 10 ng/ml [Alburges ir kt., 1995]. Derivatizacijai naudojant etiljodidą, gauti derivatizuoti ekstraktai stabilūs buvo net keletą mėnesių, laikant juos vėsioje aplinkoje, o ibogaino ir noribogaino kiekio nustatymo riba buvo 5–10 ng/mg [Hearn ir kt., 1995].

1.2.1 lentelė. Ibogainui ir noribogainui identifikuoti taikomi tyrimo metodai ir jų charakteristikos

Autorius	Tiriama medžiaga	Tyrimo metodas	Tiriamas objektas	Ekstrakcija	Mažiausia nustatymo riba
Dhahir ir kt. (1972)	Ibogainas	Identifikavimas ir nustatymas PC su silikageliu UV spektrofotometrija	Šlapimas, kraujas, organai (kepenys, inkstai, smegenys)	Skysčių–skysčių	1 µg
Cartoni ir Giarusso (1972)	Ibogainas	Nustatymas DC	Šlapimas	Skysčių–skysčių	0,05 µg
Gallagher ir kt., (1995)	Ibogainas	Nustatymas DC-MS	Organai (smegenys)	Skysčių–skysčių Derivatizacija	180 ng/g
Alburges ir kt. (1995)	Ibogainas Noribogainas	Nustatymas DC-MS	Kraujo plazma	Skysčių–skysčių Derivatizacija	10 ng/ml
Hearn ir kt. (1995)	Ibogainas Noribogainas	Nustatymas DC-MS	Kraujo plazma, kraujas, šlapimas, organai (smegenys)	Skysčių–skysčių Derivatizacija	5–10 ng/ml 5 ng/g
Ley ir kt. (1996)	Ibogainas	Nustatymas DC – MS	Kraujo plazma	SFE	1–3 ng/ml
Kontimavičiūtė ir kt. (2005)	Ibogainas Noribogainas	Nustatymas ESC su fluorescenciniu detektoriumi	Kraujo plazma	SFE	Ibogainas: 0,89 ng/ml Noribogainas: 1 ng/ml
Kontrimavičiūtė ir kt. (2006)	Ibogainas Noribogainas	Nustatymas SC-MS	Kraujo plazma (PL), kraujas (K)	SFE	Ibogainas: 0,89 ng/ml (PL), 1,78 mg/ml (K) Noribogainas: 1 ng/ml (PL), 2 ng/ml (K)

1.2.1 lentelės tęsinys

Autorius	Tiriama medžiaga	Tyrimo metodas	Tiriamas objektas	Ekstrakcija	Mažiausia nustatymo riba
Kontrimavičiūtė ir kt. (2006b)	Ibogainas Noribogainas	Nustatymas SC-MS	Šlapimas	SFE	Ibogainas 1,78 ng/ml Noribogainas 2 ng/ml
Cheze ir kt. (2008)	Ibogainas Noribogainas	Nustatymas SC-MS/MS	Kraujas (K), šlapimas, plaukai, organai (tulžis, kepenys, inkstai, blužnis)	SFE	0,05 µg/ml (K)

Dėl ibogaino ir noribogaino didelių molinių masių ir mažo lakumo netikslinga taikyti dujų chromatografijos metodą šioms medžiagoms nustatyti. 1996 m. ibogainas ir noribogainas pradėti analizuoti taikant efektyviąją skysčių chromatografiją (ESC) naudojant elektrocheminį detektorių [Glick ir Pearl, 1996], o 2005 m. – fluorescencinį detektorių [Kontrimavičiūtė ir kt., 2005]. Pastarosios metodikos pagalba nustatyti labai maži ibogaino ir noribogaino kiekiai (atitinkamai 0,89 ng/ml ir 1 ng/ml) žmogaus kraujo plazmoje ir kraujyje (atitinkamai 1,78 ng/ml ir 2 ng/ml).

2008 m. atliktas tyrimas taikant SC-MS/MS metodą, kurio metu ibogaino ir noribogaino nustatymo riba kraujyje buvo 0,05 µg/ml, o plaukuose – atitinkamai 0,01 ng/mg ir 0,025 ng/mg [Cheze ir kt., 2008].

Efektviojoje skysčių chromatografijoje galima pritaikyti įvairius detektorius. Jų pasirinkimui įtakos turi tiriamos medžiagos savybės. Atlikus tam tikrų detektorių, naudojamų efektyviojoje skysčių chromatografijoje, jautrumo palyginimą nustatyta, kad jautriausias yra masių detektorius. Jautrumas labai svarbus atliekant pėdsakų analizę. Fluorescencinis detektorius taip pat yra labai jautrus ir atrankesnis, lyginant su kitais detektoriais, tačiau jį naudoti galima tik fluorescuojantiems junginiams.

Apžvelgę literatūroje aprašytas ibogaino ir noribogaino nustatymui biologiniuose skysčiuose ir organuose taikytas metodikas, matome, kad galima pritaikyti vis naujesnius ir efektyvesnius fizikocheminius analizės metodus – ESC-MS, UESC-MS ir kt. Jų tikslas yra kuo tiksliau nustatyti tiriamas medžiagas. Norint, kad sukurtos metodikos būtų plačiai naudojamos tiriamosiose laboratorijose, būtina atsižvelgti į metodikos paprastumą, greitumą ir prieinamumą.

1.3. Ibogaino ir noribogaino farmakologinių savybių apžvalga

Nuo 1962 m. mokslininkai ibogainą pradėjo tirti kaip medžiagą, lengvinančią abstinencijos simptomus [Lotsof ir kt., 2001]. Jo vartojimas opioidų nutraukimui gydyti išskiria jį iš kitų narkotinio poveikio medžiagų, pvz., serotonino 2A tipo receptorių antagonistai – klasikiniai haliucinogenai: lizergo rūgšties dietilamidas (LSD), psilocibinas ir meskalinas, ar serotonino išsiskyrimą skatinantis amfetaminas – 3,4-metilendioksimetamfetaminas (MDMA). Ikiklinikiniais tyrimais nenustatyta, kad klasikiniai haliucinogenai ar MDMA, skirtingai nei ibogainas, turi klinikinį poveikį ūmaus opioidų nutraukimo metu. Nutraukus opioidų vartojimą, ibogainas neskatina nei serotonino gamybos, nei išsiskyrimo [Wei ir kt., 1998; Glick ir kt.,

2001]. Yra duomenų, kad 5-HT sistema neturi reikšmingo poveikio opioidų nutraukimo simptomų pasireiškimui [Caille ir kt., 2002].

Subjektyvus pojūtis, pasireiškiantis vartojant ibogainą, prilyginamas „pabudimui iš miego“ ir skiriasi nuo įprastinių haliucinogenų sukeltos būklės [Goutarel ir kt., 1993; Lotsof ir kt., 2001]. Skirtingai nei klasikiniai haliucinogenai, dažnai sukeliantys regimosios erdvės pasikeitimą atsimerkus, ibogaino lemiamas regimasis pojūtis yra stipriausias užsimerkus ir sumažėja atmerkus akis. Remiantis gyvūnų, kuriems skirtas ibogainas, elektroencefalogramos (EEG) duomenimis, nustatyta, kad ši medžiaga sukelia būdravimo fazę, kuri panaši į akių greitųjų judesių miegą [Goutarel ir kt., 1993; Alper, 2001].

Duomenų bazėse pateikiami ibogaino ir noribogaino farmakodinaminiai ir farmakokinetiniai tyrimai, atskleidžiantys farmakologines šių medžiagų savybes.

1.3.1. Farmakodinaminės savybės

1.3.1.1. Ibogaino ir noribogaino veikimo mechanizmas

Remiantis iki šiol publikuotais duomenimis nustatyta, kad smegenyse ibogainas jungiasi su dopamino (D) ir serotonino (5-HT) perkėlikliais [Mash ir kt. 1995; Sershen ir kt., 1992b], kappa- (κ) ir miu- (μ) opioidiniais receptoriais [Deecher ir kt. 1992; Sweetnam ir kt., 1995] bei N-methyl-D-aspartato (NMDA) receptoriais [Popik ir kt., 1995].

Ibogaino veikimo mechanizmas siejamas su antagonistiniu poveikiu NMDA receptoriams [Skolnick, 2001]. 18-MC, kuris veikia NMDA receptorių, gyvūnams taip pat mažina opioidų sukeltus abstinencijos simptomus [Glick ir kt., 2001]. Moksliniai tyrimai, atlikti su *T. iboga* alkaloidais ir nikotino dariniais, leidžia daryti prielaidą, kad veikimo mechanizmas gali būti susijęs su antagonistiniu poveikiu nikotinui jautriems acetilcholino receptoriams (N-cholinerginiams receptoriams, N-AChR) [Pace ir kt., 2004; Fryer ir kt., 1999; Glick ir kt., 2002a; Glick ir kt., 2002b; Taraschenko ir kt., 2005; Taraschenko ir kt., 2007a; 2007b].

Ilgą laiką buvo manoma, kad ibogaino veikimo mechanizmas susijęs su neuroadaptacijos pasikeitimu, kurį lemia anksčiau vartotos narkotinės medžiagos [Alper, 2001; Glick ir kt., 2001; Rabin ir kt., 1996b; Popik ir kt., 1998; Sershen ir kt., 2001; Levant ir kt., 2004]. Neuromediatorių poveikis yra moduluojamas adenilciklazės (AC) aktyvumo [Zubaran, 2000]. Nustatyta, kad ibogainas ir noribogainas jos aktyvumo neveikia, tačiau gali sustiprinti opioidinių ar 5-HT (bet ne acetilcholino) receptorių nulemtą AC slopinimą [Rabin ir kt., 1996b]. Šis poveikis yra priešingas AC aktyvinimui,

kuris dažniausiai pasireiškia nutraukus opioidų vartojimą [Sharma ir kt., 1975]. Toks veikimas gali būti susijęs su farmakologiniu ibogaino ir noribogaino veikimu [Rabin ir kt., 1996b].

2005 m. mokslininkai iš Kalifornijos universiteto nustatė, kad ibogainas didina neuroglijos (paraminio nervinio audinio) ląstelių išskirto neurotrofinio augimo veiksnio (ang. *glial cell line-derived neurotrophic factor*, GDNF) kiekį vidurinėse smegenyse (lot. *mesencephalon*) [He ir kt., 2005]. Jo kiekį didina ir gydymas antidepresantais [Hisaoka ir kt., 2007]. Būtent GDNF mažina alkoholio suvartojimą [He ir kt., 2005; He ir kt., 2006]. 40 mg/kg ibogaino injekcija į pilvaplėvę didina GDNF kiekį vidurinėse smegenyse iki 24 val. po injekcijos [He ir kt., 2005]. Manoma, kad GDNF gali reguliuoti pasitenkinimą ir nuotikos gerėjimą esant lėtiniam narkotinių medžiagų vartojimo abstinencijos sindromui, tačiau tai nepaaiškina jų veiksmingumo ūminio opioidų nutraukimo metu.

Pastebėta, kad noribogaino farmakologija, atliekant tyrimus *in vitro*, skiriasi nuo ibogaino, t. y. jis panašesnis su 5-HT perkėlikliais [Staley ir kt., 1996], yra mažiau giminingas σ -1 ir σ -2 receptoriams [Bowen ir kt., 1995; Zubaran, 2000] nei ibogainas ir, visai priešingai nei jo pirmtakas, jungiasi prie delta- (δ) opioidinių receptorių [Pearl ir kt., 1995; Pablo ir kt., 1998; Staley ir kt., 1996]. Jis turi ir panašių biocheminių savybių, pvz., jungimąsi prie κ -opioidinių [Pearl ir kt., 1995; Layer ir kt., 1996] ir prie NMDA receptorių [Mash ir kt., 1995a] (1.3.1.1.1 lentelė).

1.3.1.1.1 lentelė. *Ibogaino ir noribogaino giminingumas nurodytiems receptoriams (K_i) [Glick ir Maisonneuve, 1998]*

Receptoriai	Ibogainas	Noribogainas
κ -opioidiniai	2–4 μ M	1 μ M
μ -opioidiniai	10–100 μ M	3 μ M
δ -opioidiniai	>100 μ M	25 μ M
glutamato NMDA	1–3 μ M	6 μ M
adrenerginiai σ -1	9 μ M	15 μ M
adrenerginiai σ -2	0,09–0,2 μ M	5 μ M
dopamino perkėlikliai	2 μ M	2 μ M
serotonino perkėlikliai	0,5 μ M	0,04 μ M
N-AChR (IC_{50})	0,02 μ M	1,5 μ M

Noribogainas, skirtingai nei ibogainas, didina [^3H]-inozitolio fosfato (IP_3 , medžiagos, kuri naudojama signalui ląstelėje perduoti) kiekį dryžuotame kūne (lot. *corpus striatum*) ir hipokampo (lot. *hippocampus*) dalyje. IP_3 padidėjimas gali būti susijęs su proteinkinazės, kurios pasikeitimas gali būti susijęs su ilgalaikiu neurocheminiu veikimu, aktyvumu. Manoma, kad būtent toks noribogaino veikimas ir yra ibogaino sukeliama poveikio rezultatas [Rabin ir kt., 1996].

1.3.1.1.1. Poveikis dopamininei sistemai

Psichostimuliatoriai, pvz., kokainas ar amfetaminas, sukelia pasitenkinimo pojūtį didindami sinapsėje dopamino (D) koncentraciją mezolimbiniuose srityse, ypač požieviniamame smegenų branduolyje (lot. *nucleus accumbens*) [Di Chiara ir kt., 1988 ir 1993]. Didėjant sinapsėje dopamino koncentracijai skirtingose smegenų srityse, poveikis skiriasi. Pavyzdžiui, dopamino padidėjimas mezolimbiniuose srityse susijęs su ekstrapiramidinės sistemos aktyvinimu, o jo sumažėjimas dryžuotajame kūne (lot. *corpus striatum*) siejamas su stereotipiško elgesio pokyčiais. Dopamino antagonistai mažina psichostimulantų sukeltą pasitenkinimo jausmą.

Ibogaino poveikis dopamino koncentracijos kaitai priklauso nuo ibogaino koncentracijos ir turi dvejopą veikimą: mažos koncentracijos (10^{-6} – 10^{-3} M) mažina, o didelės (5×10^{-4} – 10^{-3} M) didina dopamino koncentraciją, o dopamino metabolito 3,4-dihidroksifenilacto rūgšties koncentracijai poveikio neturi [Reid ir kt., 1996]. Manoma, kad didelės dozės imituoja sisteminio ibogaino ūminį poveikį dopamino išsiskyrimui, o mažos – veikimą po tam tikro laiko [Glick ir kt., 1993].

1992 m. suabejota, ar ibogainas tiesiogiai veikia dopamino receptorių (D_1 ir D_2). Tiriant žiurkių smegenis praėjus 2 val. ir 19 val. po ibogaino (40 mg/kg į pilvaplėvę) injekcijos, nustatyta, kad tarpląstelinė dopamino koncentracija dryžuotajame kūne labai sumažėja, bet kitą dieną ji sugrįžta į pradinę būklę [Maisonneuve ir kt., 1991a; Sershen ir kt., 1992b]. Požieviniam smegenų branduolyje jokių dopamino koncentracijos pokyčių nenustatyta [Maisonneuve ir kt., 1991a]. 50 mg/kg ibogaino injekcija į pilvaplėvę dopamino koncentraciją sumažina 2 valandoms [Ali ir kt., 1996]. Tokie rezultatai rodo, kad pats ibogainas nesukelia pasitenkinimo pojūčio, bet lemia stereotipiško elgesio pokyčius.

Tiriant ibogaino gebą sumažinti psichostimuliatorių sukeltą tarpląstelinės dopamino koncentracijos padidėjimą nustatyta, kad 40 mg/kg ibogaino injekcija žiurkėms į pilvaplėvę tiek prieš morfino (ar kokaino) injekciją, tiek ir po jos, mažina morfino ar kokaino sukeltą dopamino koncentracijos padidėjimą dryžuotajame kūne ir požieviniamame smegenų branduolyje [Maison-

neuve ir kt., 1990; 1991b; Maisonneuve, 1991a; Szumlinski ir kt., 2000]. Šio proceso padarinys – slopinamas pasitenkinimo jausmo sukėlimas.

Stebint gyvūnų lyties ir rūšies įtaką ibogaino gebai moduluoti psichostimuliantų lemiamą dopamino metabolizmą nustatyta, kad gydant pelių patinėlius ibogainu (40 mg/kg į pilvaplovę) mažėja amfetamino (5 mg/kg) sukeltos dopamino ir jo metabolitų koncentracijos dryžuotajame kūne [Sershen ir kt., 1992a]. Žiurkių patelėms ibogainas gali padidinti amfetamino sukeltą tarpląstelinę dopamino koncentraciją dryžuotajame kūne ir požieviniam smegenų branduolyje [Glick ir kt., 1993], o ibogaino geba mažinti dopamino metabolitų koncentraciją nenustatyta.

Taip pat atlikti tyrimai su vidurinėse smegenyse esančia branduolių grupe, vadinama ventraline smegenų padangte (angl. *Ventral Tegmental Area*, VTA), kur neuromediatorius yra dopaminas. Nustatyta, kad ibogainas skatina šiuos neuronus, tačiau jo poveikis yra trumpalaikis [French ir kt., 1996].

Ibogaino poveikis tarpląstelinio dopamino koncentracijos kitimui turėtų būti apibendrintas taip: iš pradžių tarpląstelinė dopamino koncentracija sumažėja, o po kurio laiko (savaitės laikotarpiu) ji grįžta į pradinę. Panašūs rezultatai gauti atliekant tyrimus tiek su žiurkėmis, tiek pelėmis. Jo geba moduluoti psichostimuliatorių poveikį dopamino koncentracijos kaitai ir hiperaktyvumui priklauso nuo gyvūno lyties, rūšies ir koncentracijos.

Tyrimų, kaip dopamininę sistemą veikia noribogainas, nėra daug. Nustatyta, kad požieviniam smegenų branduolyje ryškaus tarpląstelinės dopamino koncentracijos pokyčio jis nesukelia [Baumann ir kt., 2001].

1.3.1.1.2. Poveikis opioidinei sistemai

Opiatai yra psichoaktyviosios medžiagos, sukeliančios euforiją, analgeziją (nejautrumą skausmui), kai kuriems žmonėms net ir pripratimą. Mokslininkai, kurie domisi žalingų įpročių raida, intensyviai tyrinėja vaistų poveikį opioidinei sistemai. Duomenų bazėse galima rasti daug informacijos apie ibogaino poveikio šiai sistemai atliktus tyrimus.

Pradėjus tirti ibogaino poveikį opioidinei sistemai buvo nustatyta, kad šis alkaloidas veikia kapa- (κ) opioidinius receptorius, bet visai neveikia miu- (μ) ir delta- (δ) opioidinių receptorių [Deecher ir kt., 1992]. Jo susijungimas su κ -receptoriais yra grįžtamasis procesas [Deecher ir kt., 1992], todėl ilgalaikis ibogaino poveikis [Glick ir kt., 1991; Maisonneuve ir kt., 1992b; Serphen ir kt., 1994] priskirtas jo metabolitui, kurio pusinės eliminacijos laikas kur kas ilgesnis nei ibogaino [Maisonneuve ir kt., 1991a].

Tolesnių tyrimų metu nustatyta, kad ibogainas vis dėlto yra μ -opioidinių receptorių agonistas. Tai paaiškina jo veikimą opiatų sukeliamam

skausmo mažinimo slopinimui. Tiriant ibogaino poveikį morfino nulemtam skausmo malšinimui nustatyta, kad įtakos turi tiek morfino, tiek ir ibogaino koncentracija, t. y. 40 mg/kg. ibogaino injekcija į pilvaplėvę prieš 4 mg/kg morfino injekciją po oda labai sumažina pastarojo poveikį skausmo mažinimui [Bagal ir kt., 1996]. Prieš 7–10 mg/kg morfino injekciją po oda poveikio skausmo mažinimui neturi [Bhargava ir kt., 1997]. Visgi vartojant šias medžiagas kartu, skausmą slopinantis morfino ir kitų opioidų poveikis sustiprėja, nors pats ibogainas skausmo nemalšina [Schneider ir kt., 1956; Schneider ir kt., 1957a; Frances ir kt., 1992; Bagal ir kt., 1996]. 40 mg/kg ir 80 mg/kg ibogaino injekcija į pilvaplėvę 10 min. prieš morfino injekciją sustabdo pripratimo prie morfino skausmo malšinamojo poveikio atsiradimo, o mažesnė dozė (20 mg/kg į pilvaplėvę) tokio poveikio nesukelia [Cao ir kt., 1997].

Ibogaino poveikis μ -opioidiniams receptoriams leidžia paaiškinti ir abstinencijos požymius lengvinantį poveikį [Codd, 1995]. Atsižvelgiant į jo dozę ir gyvūnų rūšį, ibogainas geba sumažinti į veną švirkščiamojo morfino poveikį tiek iš karto po injekcijos, tiek ir kitą dieną [Glick ir kt., 1991]. Žiurkių patinėliams morfino poreikis sumažėja tik tą dieną, kai sušvirkščiamas ibogainas [Touchette, 1993]. Tuo tarpu žiurkių patelėms sumažėjęs morfino poreikis trunka kelias dienas, nors kai kurioms reikia papildomų ibogaino injekcijų, norint prailginti laiką tarp morfino dozių [Glick ir kt., 1994]. Nustatyta, kad ibogainas (40 mg/kg į pilvaplėvę) slopina psichostimuliatorių, pvz., kokaino ar amfetamino, poveikį. Sušvirkštus žiurkių patinėliams vienkartinę ibogaino injekciją į veną, kelias dienas 40 – 60 proc. sumažėjo kokaino vartojimo poreikis, o skiriant pakartotinai (40 mg/kg į pilvaplėvę) kas savaitę – net 60 – 80 proc. kelias savaites [Cappendijk ir kt., 1993].

Tiriant ibogaino gebą moduluoti psichostimulantų sukeltą hiperaktyvumą nustatyta, kad 40 mg/kg ibogaino injekcija į pilvaplėvę sumažina arba visai nuslopina morfino (0,5–20 mg/kg) sukeltą hiperaktyvumą žiurkėms [Maisonneuve, 1991a; 1991b; Maisonneuve ir kt., 1992a; 1992b]. Toks poveikis nustatytas ir vartojant morfina (5 mg/kg) visą savaitę po ibogaino injekcijos [Maisonneuve ir kt., 1992b]. Įtakos turi ir gyvūnų lytis, ir psichostimulianto rūšis. 40 mg/kg ibogaino injekcijos į pilvaplėvę pastebimai mažina morfino sukeltą hiperaktyvumą žiurkių patelėms, bet ne patinėliams [Pearl ir kt., 1997]. Tokia pati ibogaino injekcija prieš amfetamino (1mg/kg) vartojimą sustiprina pastarojo įtaką žiurkių patelių hiperaktyvumui [Maisonneuve ir kt., 1992a], tačiau susilpnina pelių patinėliams [Sershen ir kt., 1992a]. Kokaino sukeltą hiperaktyvumą sumažina tiek žiurkių [Broderick ir kt., 1992; Broderick ir kt., 1994; Maisonneuve ir kt., 1997], tiek ir pelių [Sershen ir kt., 1992b] patinėliams.

Ibogainas mažina morfino poreikį žiurkėms, turinčioms nuo jo priklausomybę, slopina morfino sukeltą hiperaktyvumą ir dopamino išsiskyrimą mezolimbiniuose srityse, lengvina kai kuriuos opioidinės abstinencijos požymius ir stiprina morfino sukeltą analgeziją [Sharma ir kt., 1998]. Neurocheminiu požiūriu ibogaino veikimas nėra aiškus, tačiau geba jungtis su κ -opioidiniais receptoriais ir veikti kaip NMDA antagonistas yra labai svarbi.

Tiriant noribogaino poveikį opioidinei sistemai nustatyta, kad noribogainas jungiasi prie κ , μ ir σ -opioidinių receptorių ir daug stipriau veikia κ - ir μ -opioidinius receptorių nei jo pirmtakas [Pearl ir kt., 1995; Staley ir kt., 1996]. Šie tyrimo rezultatai leido daryti išvadą, kad noribogainas yra aktyvus *in vivo* ir jo susidarymas organizme didina farmakologinį ibogaino veikimą [Pearl ir kt., 1995]. Vėliau šie duomenys paneigti, tvirtinant, kad noribogainas neturi κ -opioidinių receptorių agonistinių savybių, todėl šio metabolito sukeltas poveikis šiek tiek skiriasi nuo pirmtako [Zubaran ir kt., 1999].

Taip pat yra nustatyta, kad noribogainas (40 mg/kg), kaip ibogainas (40 mg/kg), mažina morfino ir kokaino poreikį, slopina morfino ir kokaino sukeltą hiperaktyvumą, stiprina skausmą malšinamąjį poveikį [Bagal ir kt., 1996; Bhargava ir kt., 1997; Maisonneuve ir kt., 1997] ir mažina tarpšlėstinę dopamino koncentraciją požieviniamame smegenų branduolyje ir dryžuotajame kūne, bet, skirtingai nei ibogainas, nesukelia raumenų tremoro [Glick ir kt., 1996; Baumann ir kt., 2000].

1.3.1.1.3. Poveikis serotonininei sistemai

Serotoninas (5-hidroksitriptaminas, 5-HT) gaminamas smegenų kamieno siūliniuose branduoliuose ir pogumburio branduolių neuronuose. Jis turi didelę įtaką CNS, nes reguliuoja tam tikrus psichikos procesus, pvz., nuotaiką, apetitą, miegą, kūno temperatūrą. Jo koncentracijos pokyčiai organizme gali sukelti depresiją, nemigą, nerimą ar šizofreniją.

Ibogaino ir 5-HT cheminė struktūra yra panaši, nes abu turi indolo žiedą. Tiriant pelių elgesį po 20 mg/kg ibogaino, nebuvo pastebėta, kad ši medžiaga turi serotonininių savybių [Chen ir kt., 1958]. Vėliau atsirado duomenų apie ibogaino ir serotonino sąveiką. Nustatyta, kad ibogainas didina 5-HT koncentraciją žiurkių požieviniamame smegenų branduolyje ir dryžuotajame kūne po 40 mg/kg injekcijos į pilvaplėvę [Broderick ir kt., 1994; Wei ir kt., 1998], 50 mg/kg į pilvaplėvę [Binienda ir kt., 1998], ir 10 mg/kg injekcijos į veną [Baumann ir kt., 2001]. Serotonino metabolito 5-hidroksiindolacto rūgšties (5-HIAA) koncentraciją kaktinėje pelių žievėje ir

hipokampe sumažina [Sershen ir kt., 1992b]. Yra duomenų, kad ibogainas laikinai slopina aktyvaus serotonino pernašą trombocitais.

Tiriant ibogaino įtaką psichostimuliantų veikimui nustatyta, kad jis (20 mg/kg) šiek tiek sustiprina kokaino sukeltos serotonino koncentracijos sumažėjimą žiurkių požierviniame smegenų branduolyje. Toks veikimas aiškinamas presinapsiniu mechanizmu [Broderick ir kt., 1992; 1994].

Daug stipriau veikia metabolitas noribogainas. Suleidus 1 mg/kg šios medžiagos į veną sukeliamas ryškus tarpląstelinės 5-HT koncentracijos padidėjimas [Baumann ir kt., 2001]. Teigiama, kad noribogainas yra net dešimt kartų giminingesnis serotonino perkėliams nei ibogainas, todėl noribogainas labiau padidina tarpląstelinio serotonino kiekį požierviniame smegenų branduolyje, t.y. jis tiesiogiai veikia serotonino išsiskyrimą, todėl jis yra stiprus netiesiogiai veikiantis 5-HT agonistas. Toks poveikis yra trumpalaikis ir trunka ne ilgiau kaip tris valandas [Glick ir Maisonneuve, 1998].

1.3.1.1.4. Poveikis glutamato receptoriams

Glutamatas yra svarbiausias jaudinamasis centrinės nervų sistemos mediatorius, kontroliuojantis 70 proc. jaudinamųjų neuronų. NMDA receptoriai labai svarbūs glutamato poveikiui. Patologiški sinapsinio glutamato koncentracijos pokyčiai sukelia funkcinis NMDA receptorių sutrikimus ir nervinio impulso perdavimą.

NMDA receptorių antagonistai (fenciklidinas ir MK-801) turi įtakos priklausomybę sukeliančių vaistų poveikiui. Jie, veikdami glutamatą, malšina morfino sukeltus nutraukimo (abstinencijos) simptomus graužikams [Rasmussen ir kt., 1991; Trujillo ir Akil, 1991; Cappendijk ir kt., 1994], mažina pripratimą prie morfino [Trujillo ir Akil, 1991; Kolesnikov ir kt., 1994], mažina jautrumą tam tikriems psichostimuliantams [Khanna ir kt., 1993b]. Ibogaino poveikio glutamato receptoriams įrodymas – vaistai, veikiantys šiuos receptorių, kaip ir ibogainas, gyvūnams sukelia ataksiją ir priekinių galūnių nevalingą trepsėjimą [Hiramatsu ir kt., 1989]. Nustatyta, kad ibogainas slopina NMDA sukeliamas konvulsijas (praėjus 24 ir 72 val. po 80 mg/kg ibogaino injekcijos į pilvaplėvę) [Leal ir kt., 2000] ir šokinėjimą (40 ir 80 mg/kg) [Leal ir kt., 2003].

Tiriant ibogaino ir MK-801 poveikį NMDA receptoriams nustatyta, kad ibogainas slopina [³H]MK-801 jungimąsi prie NMDA receptorių, praėjus 24 ir 72 val. po ibogaino (80 mg/kg į pilvaplėvę) injekcijos. Vadinasi, ibogaino savybė mažinti priklausomybę nuo opiatų pasireiškia per NMDA receptorių kompleksą [Popik ir kt., 1994; Leal ir kt., 2000]. Manoma, kad ibogainas veikia kaip nekonkurencinis NMDA antagonistas, todėl mažina priklausomybę nuo psichotropinių medžiagų [Layer ir kt.,

1996; Popik ir kt., 1994; 1995]. Skirtingas žiurkių elgesys po ibogaino ir fenciklidino ar LSD pavartojimo leidžia suabejoti, kad šio alkaloido sąveika su NMDA receptoriais turi didžiausią įtaką elgsenos pokyčiams [Jones ir kt., 1998].

Nustatyta, kad noribogainas, kaip ir ibogainas, jungiasi prie NMDA receptorių, tačiau ibogainas veikia net 4–6 kartus stipriau [Mash ir kt., 1995a]. Tikėtina, kad metabolito savybė silpniau nei ibogainas veikti σ -opioidinius bei NMDA receptorių, kurie tarpininkauja pastarajam sukeliant nepageidaujamus elgesio sutrikimus [Bowen ir kt., 1995; Staley ir kt., 1996], yra viena iš priežasčių, kodėl noribogainas sukelia mažiau nepageidaujamų poveikių nei jo pirmtakas.

1.3.1.1.5. Poveikis viduląstelinio Ca^{2+} reguliacijai

Pasitenkinimo jausmui, kurį sukelia priklausomybę sukeliančios medžiagos, įtakos turi ir L-tipo Ca^{2+} kanalai. Šių kanalų blokatoriai žiurkėms sumažina kokaino (10 mg/kg į pilvaplėvę) sukeltą pasitenkinimo jausmą [Pani ir kt., 1991]. Paties ibogaino poveikis L-tipo kalcio jonų kanalams yra abejotinas. 80 μ M koncentracijos ibogainas veikia kaip nekonkurencinis antagonistas kalcio sukeltą aortos ir žarnų pasaito arterijų susitraukimą [Hajo-Tello ir kt., 1985]. Jis, manoma, yra viduląstelinio kalcio apykaitos dalis. 28 μ M ibogaino koncentracija (IC_{50}) slopina [3H]isradipino (L-tipo kalcio kanalo blokatoriaus) surišimą pelių galvos smegenų žievėje.

1.3.1.1.6. Poveikis cholinerginei sistemai

Ibogainas slopina cholinesterazės (fermento, kuris reguliuoja nervinių impulsų perdavimą sinapsėse) aktyvumą, todėl gali sustiprinti analgetinį morfino poveikį [Schneider ir kt., 1956; Schneider ir kt., 1957]. Atlikus radioligandų prijungimo tyrimus nustatyta, kad 100 μ M ibogaino koncentracija neslopina ligandų jungimosi prie nikotininių ir muskarininių receptorių [Deecher ir kt., 1992].

Tiriant ibogaino poveikį nikotininiams receptoriams nustatyta, kad pastarasis slopina žmogaus nervinių mazgų (ganglijų) ir N-ACh receptorių [Fryer ir kt., 1999] bei Na^+ tekėjimą pro žiurkių ganglijų ir N-AChR [Badio ir kt., 1997]. Tačiau N-AChR slopinimas fiziologiškai yra nereikšmingas [Alper ir kt., 2012].

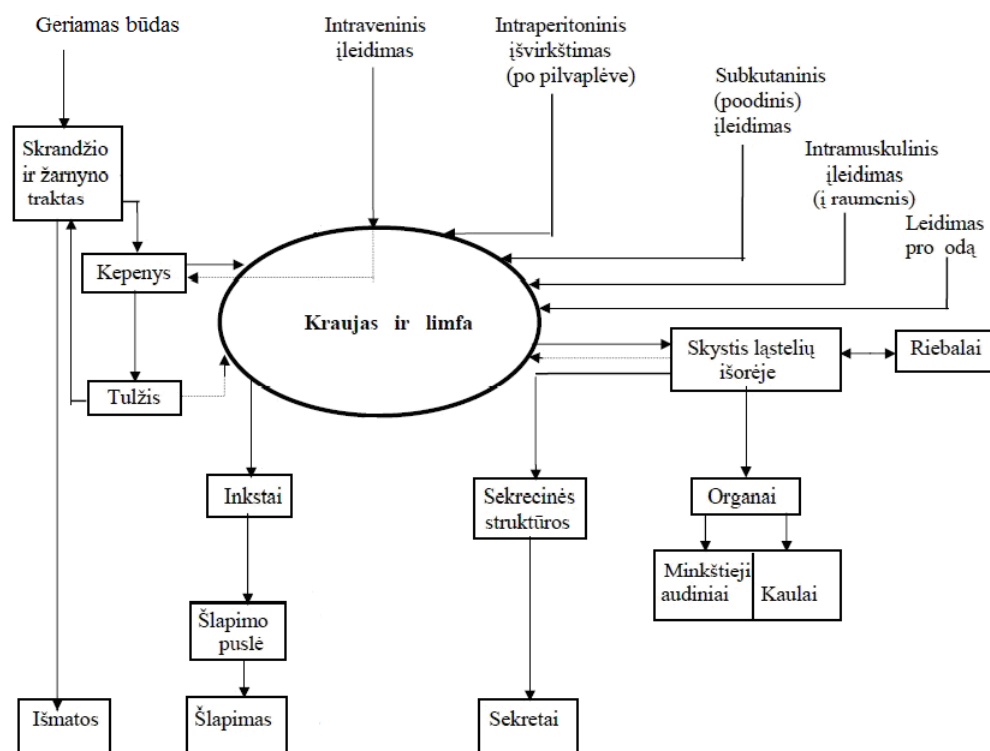
Noribogaino poveikis muskarinui jautriems receptoriams labai panašus kaip ibogaino [Staley ir kt., 1996; Glick ir kt., 1999]. Jis net 75 karta silpniau nei ibogainas veikia žiurkių ganglijų (nerivnių mazgų) ląsteles [Alper, 2001].

1.3.1.1.7. Poveikis GABA sistemai

Gama aminosviesto rūgštis (GABA) veikia kaip neuromediatorius, slopinantis neuronų aktyvumą ir reguliuojantis impulsų pralaidumą. Ji gerina deguonies pasisavinimą smegenų audiniuose, gliukozės apykaitą, aktyvina energijos procesus. Būtent šios sistemos veikimu paaiškinamas ibogaino tremorą sukeliantis poveikis [Roberts ir kt., 1978; King ir Tunnicliff, 1990]. Tolesniais tyrimais nenustatyta, kad ibogainas veiktų GABA analogų jungimąsi prie GABA receptorių [Deecher ir kt., 1992]. Taip pat nepastebėta sąveika tarp ibogaino ir Cl^- jonų pernašos per GABA kanalus.

1.3.2. Ibogaino ir noribogaino farmakokinetinės savybės

Medžiagos absorbcija, pasiskirstymas ir šalinimas skiriasi dėl skirtingo tiriamojo objekto, lyties ar medžiagos vartojimo būdo (1.3.2.1 pav.). Pastarasis ypač svarbus farmakokinetiniams metabolitų parametrams.



1.3.2.1 pav. Medžiagų absorbcijos, pasiskirstymo ir ekskrecijos srautai žinduolių organizme [Klaasen ir kt., 1986]

1.3.2.1. Ibogaino ir noribogaino absorbcija organizme

Nustatyta, kad po 20 mg/kg ibogaino sušvirkštimo žiurkėms į veną, didžiausia koncentracija kraujo plazmoje nustatoma praėjus 31–35 min. po injekcijos. Vėliau ši koncentracija greitai mažėja [Hough ir kt., 2000]. Palyginus ibogaino ir noribogaino farmakokinetiką žiurkių kraujyje nustatyta, kad noribogainas didžiausią koncentraciją pasiekia daug lėčiau nei ibogainas tiek po injekcijos į veną, tiek į pilvaplėvę, bet metabolito kiekis kraujyje viršija ibogaino kiekį ir išlieka iki 24 val. [Baumann ir kt., 2001]. Tokie patys rezultatai gauti ir tiriant kraujo plazmą [Cheze ir kt., 2008].

Sušvirkštus 10 mg/kg ibogaino į veną didžiausia šio alkaloido koncentracija (48 µg/g) smegenyse nustatoma praėjus 10 sek. po injekcijos [Zetler ir kt., 1972]. Tiriant ibogaino ir po jo pavartojimo susidariusio noribogaino koncentracijas žiurkių smegenyse praėjus 15 min., 1 val. ir 2 val. po geriamosios ibogaino dozės nustatyta, kad ibogainas labai greitai aptinkamas smegenyse, o noribogainas – 15 min. laikotarpiu. Tai gali lemti pirminė medžiagų apykaita – metabolizmas [Mash ir kt., 2001]. Didelė noribogaino koncentracija nustatoma graužikų smegenyse tiek po geriamojo ibogaino, tiek ir po injekcijos į pilvaplėvę [Mash ir kt., 2001].

Tyrimai su žiurkėmis įrodė, kad ibogaino biologinis pasisavinimas priklauso nuo jo dozės ir gyvūno lyties. Po geriamojo 50 mg/kg alkaloido dozės biologinis pasisavinimas žiurkių patelėms yra 71 proc., o patinėliams – 43 proc., o po 5 mg/kg – patelėms 16 proc. ir tik 7 proc. patinėliams. Biologinio pasisavinimo priklausomybė nuo dozės aiškinama tuo, kad tarp absorbcijos ir pirminio pasišalinimo nėra tiesinės priklausomybės [Jeffcoat ir kt., 1994]. Lyties įtaka nustatyta ir po 40 mg/kg ibogaino injekcijos į pilvaplėvę, kai praėjus 1, 5 ir 19 val. nustatytos atitinkamos koncentracijos 10, 1 ir 0,7 µM patelių smegenyse ir 6, 0,9 ir 0,2 µM patinėlių smegenyse. Noribogaino 20, 10 ir 0,8 µM patelių ir 13, 7 ir 0,1 µM patinėlių smegenyse [Pearl ir kt., 1997]. Tokie rezultatai leidžia daryti prielaidą, kad lyčių skirtumai gali lemti farmakokinetiką ir farmakologinį atsaką į ibogainą [Popik ir kt., 1998].

1.3.2.2. Ibogaino ir noribogaino pasiskirstymas organizme

1971 m. atlikti pirmieji farmakokinetiniai ibogaino tyrimai. Į žiurkių pilvaplėvę sušvirkštus ibogaino injekciją didžiausia koncentracija po valandos nustatyta jų kepenyse ir inkstuose. Po parenterinės injekcijos ibogaino nustatyta tam tikruose biologiniuose objektuose, įskaitant žmogaus kraują ir šlapimą, bei tiriamų gyvūnų kepenyse, inkstuose ir smegenyse [Dhahir ir kt., 1971; Cartoni ir Giarusso, 1972; Dhahir ir kt., 1972].

Tolesniais tyrimais nustatyta, kad praėjus vienai valandai po ibogaino (40 mg/kg) injekcijos į pilvaplėvę ir po oda, didžiausia koncentracija apskaičiuota riebaliniame žiurkių audinyje (11,308 ng/g (~ 36 μM), t. y. koncentracija 100 kartų didesnė, lyginant su plazma) ir smegenyse (koncentracija 30 kartų didesnė, lyginant su kraujo plazma) [Hough ir kt., 1996]. Tai rodo, kad dėl savo lipofilinių savybių ibogainas kaupiasi riebaluose, todėl veikimo trukmė gali būti labai ilga. Kraujyje ibogaino koncentracija apskaičiuojama didesnė, lyginant su plazma. Tai gali lemti ibogaino kaupimasis kraujo kūneliuose – trombocituose [Glick ir Maisonneuve, 1998]. Vis dėlto manoma, kad ilgalaikį ibogaino poveikį reikėtų priskirti metabolitui noribogainui [Hough ir kt., 1996; Mash ir kt., 2000].

Sušvirkštus 10 mg/kg ibogaino pelėms į veną, didžiausia jo koncentracija kraujyje nustatyta praėjus 1 min., o ibogaino biotransformacijos metu organizme susidariusio metabolito noribogaino – praėjus maždaug 2 val. (132 min.) po ibogaino injekcijos [Baumann ir kt., 2001]. Po 40 mg/kg ibogaino injekcijos į pilvaplėvę didžiausią koncentraciją kraujyje alkaloidas pasiekia po 6 min., o metabolitas – praėjus daugiau nei 2 val. (144 min.) po ibogaino sušvirkštimo [Baumann ir kt., 2001]. Šio tyrimo metu nustatyta, kad didesnė ibogaino dalis metabolizuojasi į noribogainą, alkaloidą sušvirkštus į pilvaplėvę nei tiesiai į veną (1.3.2.2.1 lentelė).

Sistemiškai vartojant ibogainą, šio alkaloido ir jo metabolito koncentracijos nustatomos žiurkių kraujo plazmoje, smegenų žievėje ir smegenėlėse, nors ibogaino biotransformacijos metu organizme susidariusio noribogaino kraujo plazmoje ir smegenų žievėje nustatoma daugiau nei jo pirmtako [Staley ir kt., 1996; Zubaran ir kt., 1999].

2006 m. atliktas ibogaino ir jo biotransformacijos metu organizme susidariusio metabolito – noribogaino – pasiskirstymo žmogaus organuose tyrimas. Didžiausia abiejų medžiagų koncentracija nustatyta blužnyje, kepenyse, smegenyse ir plaučiuose, o mažiausia – priešinėje liaukoje [Kontrimavičiūtė ir kt., 2006a]. Tyrimo trukumas – žmogus buvo rastas negyvas, todėl neaišku, kiek augalo šaknies buvo pavartota, ar ilgai vartota ir kiek laiko žmogus buvo gyvas po medžiagos pavartojimo.

2012 m. paskelbtas pranešimas apie priklausomybę nuo narkotikų turinčio žmogaus mirtį. Jis 12 val. iki mirties vartojo *Tabernanthe iboga* miltelius. Po autopsijos ibogaino rasta kraujyje, šlapime ir skrandžio sultyse. Bet mėginiuose nustatyta ir kitų CNS slopinamųjų vaistų – diazepamo ir metadono [Mazoyer ir kt., 2012], todėl mirties priežasties nustatyti nepavyko.

1.3.2.2.1 lentelė. Farmakokinetiniai ibogaino ir noribogaino parametrai tyrimuose su pelėmis [Mash ir kt., 2001], [Baumann ir kt., 2001], [Zetler ir kt., 1972]

	Kraujas* 40 mg/kg <i>i.p.</i> n=6 [Mash ir kt., 2001]	Smegenys* 40 mg/kg <i>i.p.</i> n=4 [Mash ir kt., 2001]	Smegenys** 50 mg/kg <i>per oss</i> n=4 [Mash ir kt., 2001]	Kraujas* 10 mg/kg <i>i.v.</i> n=6 [Baumann ir kt., 2001]	Smegenys* 10 mg/kg <i>i.v.</i> [Zetler ir kt., 1972]
Ibogainas					
t _{max} , val.	0,10±0,03	1,00±0,14	1,00±0,21	0,02±0,002	0,002
C _{max} ng/ml	3859±789	3782±418	5210±480	18246±979	
C _{max} ng/g [μM]	[11,2±2,3]	[11,0±1,2]	[15,1±1,4]		47600
AUC ng x val/ml	10636±341	22098±922	NT		
AUC ng/g [μM x val.]	[30,7±1,0]	[63,9±2,7]	NT	0,86±0,05	0,97
t _{1/2} val.	2,38±0,50	11,05±1,15			
Iš ibogaino susidaręs noribogainas					
t _{max} , val.	2,40±0,04	2,00±0,16	2,00±0,28	2,2±0,2	0,02
C _{max} ng/ml	7265±953	3236±514	3741±423	1198±102	
C _{max} ng/g [μM]	[21,9±2,9]	[9,8±1,6]	[11,3±1,3]		14700
AUC ng x val/ml	96920±741	38797±324	NT		
AUC ng/g [μM x val.]	[292,0±2,2]	[117,9±1,0]	NT	NT	1,1
t _{1/2} val.	NT	NT	NT		

Pastaba: NT – nenustatyta.

*Farmakokinetinė analizė 24 val. laikotarpiu.

**Farmakokinetinė analizė 2 val. laikotarpiu.

1.3.2.3. Ibogaino biotransformacija

Nustatyta, kad farmakologiniam ibogaino veikimui įtakos turi vartojimo trukmė. Ilgalaikis ibogaino poveikis sąlygojo hipotezę, kad šis alkaloidas metabolizuojasi į aktyvų elementą, turintį ilgą pusinės eliminacijos laiką [Maisonneuve ir kt., 1991a]. Tokia išvada padaryta remiantis ibogaino geba sukelti elgesio ir neurocheminius pokyčius, truncančius iki 24 val., nors jo pusinės eliminacijos laikas yra kelios valandos [Dhahir ir kt., 1972; Zetler ir kt., 1972]. 1995 m. pirmą kartą nustatytas pagrindinis ibogaino o-desmetil- metabolitas 12-hidroksiibogainas (noribogainas) žmogaus, kuris

buvo gydomas ibogainu, kraujyje ir šlapime [Mash ir kt. 1995; Hearn ir kt., 1995]. Šiuos duomenis patvirtina ir 1996 m. tyrimas, kurio metu praėjus 15 min. po 50 mg/kg geriamojo ibogaino žiurkių smegenyse nustatytas metabolitas – noribogainas [Staley ir kt., 1996].

1998 m. ištirta, kad noribogainas susidaro citochromo P450 sistemai kepenyse skaidant ibogainą [Obach ir kt., 1998]. Manoma, kad metabolizuojantis ibogainui į noribogainą dalyvauja du ar daugiau kepenų izofermentų [Mash ir kt., 1995]. Po išsamių tyrimų nustatyta, kad izofermentas CYP2D6 yra aktyviausias susidarant noribogainui (1.3.2.3.1 lentelė) [Obach ir kt., 1998; Mash ir kt., 2001].

1.3.2.3.1 lentelė. *Ibogaino ir jo biotransformacijos metu susidariusio noribogaino farmakokinetiniai parametrai žmogaus kraujyje dalyvaujant izofermentui CYP2D6 ir mažiau aktyviems izofermentams (CYP2C9 ir CYP3A4) [Mash ir kt., 2001]*

	CYP2D6	CYP2C9 ir CYP3A4
Ibogainas		
$t_{\max}$, val.	1,70±0,15	2,50±1,04
$C_{\max}$ ng/ml	737±76	896±166
AUC _{0-24 val.} , ng×val./ml	3936±556	11471±414
$t_{1/2}$ val.	7,45±0,81	NT
Noribogainas		
$t_{\max}$, val.	6,17±0,85	3,17±1,36
$C_{\max}$ ng/ml	949±67	105±30
AUC _{0-24 val.} , ng×val./ml	14705±1024	3648±435
$t_{1/2}$ val.	NT	NT

Pastaba. Geriamojo 10 mg/kg, n=24. NT – nenustatyta.

Ibogaino metabolizmą (suskaidymą) į noribogainą įrodo ir 2001 m. atliktas tyrimas, kurio metu ibogainas buvo suleistas žiurkėms į pilvaplovę ir į veną. Nustatyta, kad daug mažesnė ibogaino dalis virsta noribogainu po injekcijos į veną [Baumann ir kt., 2001], kai išvengiama pirminės medžiagų apykaitos.

Literatūroje nepavyko rasti informacijos, ar ibogainas biotransformuojasi į kitus metabolitus, tačiau mūsų tyrimo metu, atliekant chromatografinę analizę, po ibogaino instiliavimo pelių organų chromatogramose nustatyta papildoma smailė. Manome, kad ši smailė yra kito ibogaino metabolito, tačiau šiai hipotezei patvirtinti reikia tolimesnių tyrimų.

1.3.2.4. Ibogaino ir noribogaino eliminacija

Ibogaino biotransformacija ir klirensas priklauso nuo gyvūno rūšies ir veislės. Manoma, kad ibogainas greičiau pasišalina iš primatų kraujo, nei iš žiurkių ar žmogaus [Mash ir kt., 1998].

Tyrimuose su graužikais nustatyta, kad ibogaino pusinės eliminacijos laikas smegenyse po 10 mg/kg injekcijos į veną yra 60 min. [Dhahir ir kt., 1971; Zetler ir kt., 1972]. Pasiūlytas vienkamerinis skaičiavimo metodas. Su šlapimu iš organizmo pasišalina apie 5 proc. nepakitusio ibogaino [Dhahir ir kt., 1971; Zetler ir kt., 1972]. Vėliau nustatyta, kad tiek ibogainas, tiek ir noribogainas išsiskiria ir per inkstus, ir per virškinamąjį kanalą [Jeffcoat ir kt., 1994]. Tyrimu su žiurkėmis apskaičiuota, kad 24 val. laikotarpiu su šlapimu ir išmatomis pasišalina 60–70 proc. šių medžiagų [Jeffcoat ir kt., 1994]. Ibogainas iš žiurkių organizmo šalinasi 4 proc. per valandą, o po 12 val. jau nenustatomas. Po geriamojo 10 mg/kg ibogaino triušių šlapime didžiausia koncentracija nustatyta praėjus 4–5 val., o po 6 val. jau nenustatoma [Popik ir kt., 1995a]. Sušvirkštus 40 mg/kg ibogaino į pilvaplėvę ir po oda, nustatyta, kad praėjus 12 val. po injekcijos alkaloido koncentracija sumažėja 10–20 kartų (lyginant su koncentracija po 1 val., kai koncentracija didžiausia) [Hough ir kt., 1996]. Tyrimų su žmonėmis metu nustatyta, kad 20 mg/kg ibogaino per 24 val. pasišalina 90 proc. [Mash ir kt., 1998].

Apie noribogaino pasišalinimą yra prieštaringų duomenų. Vieni šaltiniai teigia, kad noribogaino eliminacija yra lėtesnė, nei ibogaino – po 24 val. nustatyta didžiausia koncentracija [Mash ir kt., 1998; 1995], kiti – kad noribogaino kiekis žiurkių plazmoje po ibogaino injekcijos į pilvaplėvę labai sumažėja per 5–24 val. [Glick ir Maisonneuve, 1998].

Apskaičiuota, kad ibogaino pusinės eliminacijos laikas žiurkių kraujyje yra apie 2 val. po 40 mg/kg injekcijos į pilvaplėvę ir nepilnai 1 val. po 10 mg/kg injekcijos į veną [Baumann ir kt., 2001]. Žmogaus kraujyje apskaičiuotas ibogaino pusinės eliminacijos laikas yra 5–8 val. [Cheze ir kt., 2008]. Nustatyta, kad noribogaino koncentracija kraujo plazmoje yra didesnė nei ibogaino. Jis yra ilgiau nustatomas, nei jo pirmtakas dėl ilgesnio pusinės eliminacijos laiko [Cheze ir kt., 2008].

Apžvelgę literatūros duomenis apie atliktus ibogaino ir noribogaino farmakokinetinius tyrimus, neradome bendros nuomonės apie šių medžiagų farmakokinetiką. Vadinasi, informacijos šia tema yra per mažai, todėl reikia atlikti papildomus tyrimus, leisiančius praplėsti žinias apie jų absorbciją, pasiskirstymą ir šalinimą iš organizmo.

1.4. Ibogaino ir noribogaino ikiklinikinių saugumo tyrimų duomenys

Atliekant *T. iboga* alkaloido ibogaino, jo metabolito noribogaino ir sintetinio, tos pačios rūšies, atstovo 18-metoksikoronaridino (18-MC) poveikio įvairiems gyvūnams tyrimą, nustatyta, kad šie alkaloidai palengvina susilaikymo nuo opioidų (abstinencijos) požymius žiurkėms [Dzoljic ir kt., 1988; Maisonneuve ir kt., 1991a; Glick ir kt., 1992b; Cappendijk ir kt., 1994; Rho ir Glick, 1998; Parker ir kt., 2002; Panchal ir kt., 2005], pelėms [Frances ir kt., 1992; Popik ir kt., 1995; Layer ir kt., 1996; Leal ir kt., 2003] ir primatams [Aceto ir kt., 1990; 1992]. Yra duomenų, kad šios medžiagos mažina morfino [Glick ir kt., 1991; 1994; 1996; Maisonneuve ir Glick, 1999; Pace ir kt., 2004], kokaino [Glick ir kt., 1994; Cappendijk ir Dzoljic, 1993], amfetamino [Maisonneuve ir kt., 1992a], metamfetamino [Pace ir kt., 2004; Glick ir kt., 2000], alkoholio [Rezvani ir kt., 1995; 1997; He ir kt., 2005] ir nikotino [Glick ir kt., 2000; Glick ir kt., 1998] išsiskyrimą į poževinį smegenų branduolį (lot. *nucleus accumbens*), kuriuo suvokiamas opioidų ir nikotino narkotinis poveikis.

Nustačius, kad ibogainas mažina priklausomybę ir palengvina susilaikymo nuo opioidų požymius, susidomėta jo poveikiu organų sistemoms. Pradėtas tirti vienkartinės ir kartotinės ibogaino dozės toksinis poveikis gyvūnams. Pirminiais duomenimis nustatyta, kad ilgalaikis (10 mg/kg 30 dienų ir 40 mg/kg 12 dienų) ibogaino vartojimas nesukelia pakitimų žiurkių kepenyse, inkstuose, širdyje ir smegenyse [Dhahir ir kt., 1971]. Reikėtų atkreipti dėmesį į tai, kad noribogaino poveikis tam tikroms organų sistemoms nebuvo tirtas. Mūsų nuomone, šią sritį reikėtų plėtoti ir atlikti tyrimus, padėsiančius tiksliau įvertinti ibogaino ir noribogaino toksiškumą.

1.4.1. Ibogaino ir noribogaino toksinis poveikis gyvūnams

Medžiagos toksiškumas vertinamas vidutine mirtinąja doze (LD_{50}). LD_{50} nustatymas leidžia: 1) numatyti atsitiktinio perdozavimo galimybę; 2) planuoti ūminio ir lėtinio toksiškumo tyrimus su gyvūnais; 3) numatyti amžiaus, lyties ir kitų aplinkos veiksnių įtaką toksiškumo mechanizmui bei skirtingų gyvūnų rūšių ir veislių atsako pokyčius; 4) padeda planuojant tolesnius klinikinius tyrimus su žmonėmis.

1971 m. nustatytas ūminis ibogaino toksiškumas žiurkėms. Apskaičiuota, kad žiurkėms geriamojo ibogaino LD_{50} yra 327 mg/kg, o sušvirkšto į pilvaplėvę – 145 mg/kg. Jūrų kiaulytės yra daug jautresnės. Pastarosioms apskaičiuota 82 mg/kg LD_{50} ibogaino dozė [Dhahir ir kt., 1971].

Nustatyta, kad 1 g/kg alkoholio jokio poveikio ibogaino toksiškumui neturi [Goutarel ir kt., 1993], o 2 g/kg padidina ibogaino toksiškumą 1,4 karto [Dhahir ir kt., 1971].

Apie noribogaino LD₅₀ nustatymą jokių duomenų nerasta, o informacija apie jo toksiškumą labai ribota.

1.4.1.1. Ūminės ir kartotinių dozių neurotoksinis poveikis

Bandymuose su žiurkėmis 1993 m. nustatyta, kad 100 mg/kg ibogaino injekcija į pilvaplėvę sukelia Purkinė ląstelių pogrupio degeneraciją smegenėlių vingiuose [O'Hearn ir kt., 1993; O'Hearn ir Molliver, 1993]. Po degeneracijos sumažėjo su mažaisiais vamzdeliais (mikrotubulėmis) susijusio baltymo 2 ir kalbindino. Tikėtina, kad neurodegeneracinis ibogaino poveikis atsiranda dėl žemesniųjų ovalių neuronų sužadinimo. 100 mg/kg ibogaino dozė yra daug didesnė, nei reikalinga gydant priklausomybes nuo psichotropinių medžiagų [Zubaran, 2000], todėl tikslinga įvertinti poveikį Purkinė ląstelėms vartojant mažesnę šio alkaloido koncentraciją.

Tiriant neurotoksiškumą kitoms smegenų dalims buvo tikrinamas glijos skaidulinio rūgštinio baltymo (GFAP, ang. *glial fibrillary acidic protein*) kiekybinis pokytis žiurkių patelių ir patinėlių smegenyse [O'Callaghan ir kt., 1996]. Trumpalaikio tyrimo metu (ibogainas švirkščiamas į pilvaplėvę 50, 100 ir 150 mg/kg 3 dienas) abiejų lyčių smegenyse nustatytas GFAP padidėjimas: 50 mg/kg padidino šio baltymo kiekį smegenėlėse ir hipokampe, o 100 mg/kg smegenų žievėje, hipokampe, smegenų kamienne ir dryžuotajame kūne. Žiurkių patinėliams šis pokytis buvo stebimas iki 14 dienų, neatsižvelgiant į suleistą dozę, o patelių smegenėlėse – tik po 100 mg/kg. Kartotinių dozių tyrimo metu (14 dienų 25 mg/kg, 75 mg/kg ir 150 mg/kg geriamojo ibogaino) GFAP padidėjimo nenustatyta nė vienoje žiurkių patinėlių smegenų dalyje, nepriklausomai nuo koncentracijos. 25 mg/kg ibogaino dozė padidino GFAP patelių hipokampe, o 150 mg/kg – hipokampe, dryžuotajame kūne ir smegenų kamienne [O'Callaghan ir kt., 1996].

GFAP padidėjimas yra jautrus, tačiau ne savitas neuronų degeneracijai [Xu ir kt., 2000]. Nustatyta, kad ibogaino neurotoksiškumui įtakos turi gyvūno rūšis. Pavyzdžiui, beždžionės yra mažiau jautrios nei žiurkės. Atliekant tyrimus, po 5 dienų geriamojo 5–25 mg/kg ibogaino ir 100 mg/kg injekcijos po oda neurotoksinio poveikio ibogainas beždžionėms nesukelia [Mash ir kt., 1998]. Mažiau jautrios yra ir pelės. Sušvirkštus vienkartinę 100 mg/kg ibogaino injekciją žiurkėms ir pelėms į pilvaplėvę neurodegeneraciniai pokyčiai nustatyti tik žiurkių smegenėlėse [Scallet ir kt., 1996]. Po pakartotinių (60 dienų) 10 mg/kg ibogaino injekcijų žiurkėms į pilvaplėvę smegenėlių pažeidimų nenustatyta [Helsley ir kt., 1997].

2005 m. pradėtas tirti ibogaino poveikis pelių smegenų ląstelių mirčiai. Pagrindinis dėmesys skirtas pelių tarpinėms smegenims ir smegenėlėms. Literatūros duomenimis, būtent šių smegenų dalių ląstelės miršta po didelės ibogaino dozės pavartojimo [O'Hearn ir Molliver, 1993; 1997]. Tyrimo rezultatai parodė, kad 40 mg/kg ibogaino praėjus 12 val. po injekcijos į pilvaplėvę šių ląstelių mirties nesukelia [He ir kt., 2005]. Taip pat nustatyta, kad kartotinės (60 dienų) 10 mg/kg ibogaino injekcijos į pilvaplėvę nesumažina Purkinė ląstelių kiekio [Helsley ir kt., 1997]. Manoma, kad šios ląstelės jautriausiai reaguoja į ibogaino toksiškumą, todėl tikėtina, kad poveikio kitoms nervinėms ląstelėms taip pat neturės [Helsley ir kt., 1997].

Vertinant neurotoksinį ibogaino poveikį gyvūnams nustatyta, kad 40 mg/kg ibogaino injekcija į pilvaplėvę lengvina abstinencijos požymius žiurkėms [Glick ir kt., 1991, 1994; Capendijk ir kt., 1994], tačiau poveikio smegenėlių Purkinė ląstelių degeneracijai neturi [Molinari ir kt., 1996]. Tokie patys rezultatai gauti ir po 60 dienų 10 mg/kg ibogaino injekcijų žiurkėms į pilvaplėvę [Helsley ir kt., 1997]. Geriamasis (5x25 mg/kg) ibogainas taip pat yra saugus, nes neturi neurotoksinio poveikio ir nesukelia elgesio sutrikimų [Mash ir kt., 1998]. Duomenų apie noribogaino sukeliamus smegenų struktūrų pažeidimus mokslinėse duomenų bazėse nėra. Tai leidžia teigti, kad šio metabolito toksiškumas mažai tirtas.

1.4.1.2. Poveikis širdies ir kraujagyslių sistemai

1962 m. atlikto tyrimo metu nustatyta, kad sąmoningiems šunims ibogainas didina arterinį kraujospūdį (AKS) ir širdies susitraukimų dažnį (ŠSD), o sušvirkštus anestetikų – AKS mažėjimą ir pulso retėjimą [Gershon ir kt., 1962].

Dažniausiai tyrimuose naudojama 40 mg/kg ibogaino dozė žiurkėms nedidina nei ŠSD, nei AKS [Alper ir kt., 2001], o 50 mg/kg injekcija į pilvaplėvę staiga sulėtina širdies darbą – šis poveikis trunka apie 30 min. [Binienda ir kt., 1998]. 100–200 mg/kg visiškai sumažina ŠSD, bet įtakos kraujospūdžiui neturi [Glick ir kt., 1999].

Yra duomenų, kad keletui priklausomybę nuo kokaino ar heroino turinčių žmonių po vienkartinės 500, 600, 800 ir 1000 mg ibogaino dozės nustatytas retesnis pulsas, lyginant su norma, ir tik vienam – ženklus AKS sumažėjimas. Jį, kaip manoma, sukėlė trumpalaikė nervo klajoklio reakcija. Elektrokardiogramoje (EKG) jokių anomalijų nenustatyta, atlikus biocheminį kraujo tyrimą baltųjų kraujo kūnelių, neutrofilų, K^+ ir Na^+ buvo norma. Tyrimo metu nenustatyti jokie nepageidaujami požymiai, todėl manoma, kad vienkartinė šio alkaloido dozė yra gerai toleruojama [Mash ir kt., 1998; Alper, 2001].

2009 m. paskelbtas pranešimas, kad ibogainas gerokai pailgina Q–T intervalą elektrokardiogramoje ir sukelia skilvelines tachiaritmijas, kurios atsistato tik po 42 val. [Hoelen ir kt., 2009]. Biocheminių kraujo tyrimų metu nustatytas sumažėjęs Mg^{2+} ir K^+ kiekis kraujyje. Tokie rezultatai atskleidė, kad ibogaino poveikis širdies ir kraujagyslių sistemai galimas tiek dėl elektrolitų pusiausvyros sutrikimo, tiek dėl širdies ritmo sutrikimų (tai rodo Q–T intervalo pailgėjimas), tiek dėl skilvelinės tachiaritmijos. Neatmetama galimybė, kad visi šie sutrikimai kartu gali sukelti netgi mirtį.

2011 m. duomenimis, ibogainas mažomis dozėmis pablogina širdies Ca^{2+} ir K^+ jonų kanalų funkciją, sutrikdo širdies laidžiosios sistemos darbą, nulemiantį aritmijos pavojų [Kovar ir kt., 2011]. Ir toliau vykdomi tyrimai, siekiant ištirti, koku būdu ibogainas sukelia širdies aritmijas [Koenig ir kt., 2012].

1.4.2. Ikiklinikinių tyrimų rezultatai

Tyrimuose su graužikais (pelėmis ir žiurkėmis) nustatyta, kad nuo ibogaino dozės priklauso poveikis judėjimo sistemai. 20 mg/kg injekcija į pelių pilvaplėvę šiek tiek aktyvina šią sistemą [Chen ir kt., 1958]. 40 mg/kg ibogaino į pelių patinėlių pilvaplėvę pirmąją valandą po injekcijos slopina judėjimo funkciją [Sershen ir kt., 1992b]. Tokia pati dozė žiurkėms slopina judėjimo sistemą tik pirmąją valandą po injekcijos, o po savaitės stebimas hiperaktyvumas [Maisonneuve ir kt., 1992b].

Ibogaino poveikis judėjimo sistemai priklauso ir nuo gyvūno lyties. 40 mg/kg ibogaino injekcija į pilvaplėvę 5 val. sumažina morfino nulemtą žiurkių patelių, bet ne patinų, hiperaktyvumą. Stipresnis antagonistinis poveikis morfinui pasireiškė patelėms tiek 19 val. po 10–60 mg/kg ibogaino injekcijos, tiek ir 1 val. po 5–40 mg/kg noribogaino injekcijos į pilvaplėvę [Pearl ir kt., 1997]. Vienkartinė 40 mg/kg ibogaino injekcija į patinėlių pilvaplėvę sumažina morfino sukeltą hiperaktyvumą 4 val., o 80 mg/kg – net iki 24 val. po injekcijos [Luxton ir kt., 1996].

100 mg/kg ibogaino dozė žiurkėms sukelia ataksiją (pusiausvyros sutrikimus) ir kūno tremorą [O'Hearn ir Molliver, 1993]. Pirmąją valandą pasireiškia hipotonija, galūnių silpnumas, o kartais – stiprūs galūnių tiesiamųjų raumenų judesiai, kurie neleidžia išsilaikyti ant kojų. Šie požymiai tęsiasi 6–8 valandas, paskui aktyvumas staiga padidėja. Kitą dieną šie simptomai išnyksta.

Nustatyta, kad ibogainas ir noribogainas sukelia elgesio, neurocheminius ir neuroendokrininius žiurkių pokyčius [Baumann ir kt., 2001]. Sušvirkštus 1–10 mg/kg ibogaino į veną aktyvinama judėjimo sistema, sukeliamas nevalingas priekinių galūnių trepsėjimas, kaklo ir galvos tremoras,

kūno drebulys. Didesnė nei 10 mg/kg ibogaino dozė sukelia lingavimą ir svirduliavimą. Noribogainas nesukelia nei tremoro, nei ataksijos, tik šiek tiek aktyvina judėjimo funkciją, o didelė dozė sukelia neryškų priekinių galūnių trepsėjimą. Visi šie abiejų medžiagų sukelti poveikiai trunka neilgai – jau 30 min. po injekcijos gyvūnai elgiasi įprastai.

Neuroendokrininio tyrimo metu ištirtas ibogaino ir noribogaino poveikis žiurkių kortikosteronui ir prolaktinui [Ali ir kt., 1996; Baumann ir kt., 2001]. Nustatyta, kad 50 mg/kg ibogaino injekcija į pilvaplovę padidina prolaktino kiekį žiurkių kraujo plazmoje, bet po 60 min. grįžta į normą. Kortikosterono kiekis padidėja praėjus 15 min. po alkaloido sušvirkštimo. Šis didėjimas stebimas 2 val., o po 24 val. grįžta į normą [Ali ir kt., 1996]. Nustatyta, kad tiek ibogainas, tiek ir noribogainas padidina žiurkių kraujo plazmoje cirkuliuojančio kortikosterono kiekį, tačiau ibogainas veikia stipriau nei noribogainas, nes tiek 1 mg/kg, tiek 10 mg/kg sukelia ženklų ir ilgalaikį kortikosterono kiekio padidėjimą. Prolaktino kiekį žiurkių kraujo plazmoje abi šios medžiagos padidina panašiai. Šis padidėjimas yra trumpalaikis, sukeliamas tik po didelių ibogaino ir noribogaino dozių [Baumann ir kt., 2001].

Ibogaino injekcijos į veną (2-10 mg/kg) katėms sukelia susijaudinimą, vyzdžių išsiplėtimą, seilių išsiskyrimą, dalinį plaukelių pasišiaušimą ir tremorą [Schneider ir kt., 1957a]. Šie simptomai pamažu pereina į siautėjimo būseną. Pastebėta, kad padažnėja kvėpavimas, pasireiškia ataksija. Siautėjimo fazės metu atsiranda seilėtekis. Toks elgesys stebimas 10–20 min. laikotarpiu po injekcijos į veną; praėjus 1–2 val. katės elgiasi įprastai. Po ibogaino injekcijos (2–5 mg/kg) elektroencefalograma parodė tipiską sujaudinimo sindromą, panašų į tiesioginio tinklinės struktūros stimuliaciją, trunkantį 10-20 min. (atsižvelgiant į dozę) [Schneider ir kt., 1957a]. Tai leido daryti prielaidą, kad ibogainas yra centrinio poveikio stimulatorius, veikiantis adrenalino ir noradrenalino sukeltą kraujospūdį.

Tiriant ibogaino poveikį šunims nustatyta, kad gyvūnai įsitempia ir tampa budrūs, nelabai atpažįsta savo šeimininkus ir nuolatinę savo aplinką [Popik ir kt., 1995a]. Pastebėtas kūno drebulys, kraujospūdžio ir širdies ritmo padidėjimas; elektrokardiogramos pokyčiai parodė sinusinę aritmiją. Šunų, kuriems sušvirkšta anestetikų, sumažėja kraujospūdis, retėja širdies ritmas – tai rodo sąveiką tarp ibogaino poveikio anestezijai ir širdžiai bei kraujagyslėms.

1.5. Pirmieji ibogaino klinikiniai tyrimai

Mokslinės literatūros šaltiniuose rasta duomenų apie atliktus kelis ibogaino tyrimus, siekiant nustatyti jo psichotropinį poveikį žmonėms [Popik ir kt., 1995a; Lotsof ir kt., 1995]. Išgėrus 4–5 mg/kg ibogaino, pirmieji pojūčiai jaučiami praėjus 15–20 min. po suvartojimo – aptirpsta oda, ausyse girdimas ūžesys ir zvimbimas, jaučiamas galvos svaigimas, sutrinka koordinacija. Praėjus 25–35 min. prasideda haliucinacijos, po kurių atsiranda burnos džiūvimas, pykinimas ir vėmimas, padidėja prakaitavimas, padažnėja pulsas. Kitas 6–8 val. užplūsta energijos antplūdis, kurio metu virš savęs regima ryški šviesa. Po 26–36 val. stimuliacija sumažėja, atsiranda mieguistumas, jautrumas šviesai ir triukšmui.

Minimaliam poveikiui pasiekti užtenka 5 mg/kg gryno ibogaino, o esant priklausomybei – 30 mg/kg mišiniuose su kitomis medžiagomis. Kol kas nėra duomenų, kokį poveikį darytų didesnė nei 30 mg/kg ibogaino dozė: turėtų teigiamą gydomąjį poveikį, būtų pavojinga sveikatai, ar tik pailgintų savo veikimą. Dėl šių priežasčių ibogaino vartojimas daugelyje šalių yra ribojamas. Jo sukeltas poveikis turi būti stebimas ir kontroliuojamas, nes ši medžiaga veikia širdies ir kraujagyslių sistemą [Hoelen ir kt., 2009; Kovar ir kt., 2011], skatina virškinamąjį kanalą, didina raumenų tonusą, sukelia haliucinacijas ir euforiją.

Ibogainui būdingas abstinenciją mažinantis poveikis, nes jis veiksmingai mažina priklausomybę nuo psichotropinių medžiagų, lyginant su metadonu ar buprenorfinu (pastarasis laikomas saugesniu ir efektyvesniu [Heroino kaina ir grynumas; Pakaitinis gydymas opioidiniais preparatais]) [Richer, 2008]. Sumažėjęs potraukis psichotropinei medžiagai gali tęstis kelias dienas – mėnesį po gydymo. Ibogaino privalumas – jis yra geriau toleruojamas nei įprasti vaistai.

Nustatyta, kad ibogaino metabolitas noribogainas yra stipriausias serotonino inhibitorius, švelniai veikia kaip κ ir μ opioidinių receptorių agonistas, todėl taip pat galėtų būti metadono pakaitalu. Noribogainas, lyginant su ibogainu, sukelia mažiau šalutinių reakcijų, pvz., tremorą, todėl manoma, kad jo vartojimas gydymo tikslais yra saugesnis [Baumann ir kt., 2000]. Kol kas nerasta duomenų apie šio metabolito poveikį priklausomybę nuo psichotropinių medžiagų turintiems žmonėms.

1.5.1. Ibogaino vartojimo ypatumai priklausomybės nuo psichotropinių medžiagų mažinimui

1988 m. tyrimuose su žiurkėmis nustatyta ibogaino savybė mažinti priklausomybę nuo narkotikų [Dzolic ir kt., 1988]. Siekiant nustatyti tokį

poveikį žmonėms, tirti septyni 21-39 metų priklausomybę nuo opiatų turintys žmonės. Jiems skirtos vienkartinės 700-1800 mg ibogaino dozės. Praėjus 24–38 val. – pasibaigus stimuliuojamajam medžiagos poveikiui – nė vienas tiriamasis nepajuto nutraukimo simptomų. Trys iš jų, kurie vartojo didesnę nei 1000 mg dozę, po šio tyrimo nevartojo jokių svaiginamųjų medžiagų daugiau nei 14 savaitių [Sheppard, 1994].

1.5.2. Ibogaino vartojimas lengvinant abstinencijos požymius

Atliktas tyrimas su priklausomybę nuo opiatų turinčiais 33 pacientais (22 vyrais ir 11 moterų), kurių amžiaus vidurkis 27 metai. Nustatyta, kad vienkartinės 6–29 mg/kg ibogaino dozės lengvina abstinencijos požymius – 25 pacientams (76 proc.) 48 val. neatsirado jokie nutraukimo simptomai ir 72 val. neįjuto narkotinių medžiagų poreikio [Alper ir kt., 1999; Mash ir kt., 2001]. Kitiems tiriamiesiems abstinencijos požymiai pasireiškė po 24 val., bet psichotropinių medžiagų poreikis sumažėjo. Vienai pacientei ibogainas abstinencijos simptomų nepalengvino, ji po 8 val. vėl pradėjo vartoti heroiną. Esminis šio tyrimo faktas – 24 metų amžiaus merginos mirtis. Jai, praėjus 17 val. po 29 mg/kg ibogaino dozės, atsirado tam tikri abstinencijos požymiai – raumenų skausmai ir pykinimas, po valandos sutriko (pradėjo stoti) kvėpavimas ir konstatuota mirtis. Skrodimo metu mirties priežasties nustatyti nepavyko. Mažai yra duomenų apie toksišią ibogaino poveikį, priklausančią nuo dozės, žmogui. Neatmesta tikimybė, kad ibogainas didina opioidinių medžiagų toksiškumą.

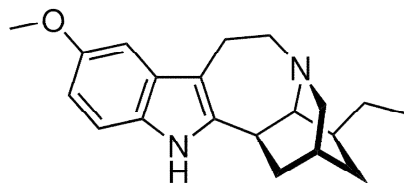
Tiriant, ar 500–800 mg ibogaino vienodai veikia tiek nuo opiatų, tiek ir nuo kokaino priklausomus žmones, skirtumo tarp šių grupių nenustatyta. Šis alkaloidas jau po mėnesio labai sumažina detoksikacijos metu sukeltą pacientų depresiją ir mažina potraukį tolimesniam psichotropinių medžiagų vartojimui [Mash ir kt., 2000]. Šiame tyrime dalyvavo tik 27 pacientai (23 vyrai ir 4 moterys, kurių amžius svyravo 32-40 metų). Tyrimo rezultatai yra gana subjektyvūs, todėl norint patvirtinti šią hipotezę būtini išsamesni ir platesni tyrimai.

Apžvelgę duomenų bazių informaciją apie atliktus ibogaino ir noribogaino tyrimus, matome, kad didžiausias dėmesys skiriamas šių medžiagų veikimo mechanizmui, o farmakokinetika ir toksiškumas yra mažai tirtos sritys. Tikimasi, kad tyrimo metu nustatytas toksiškumas ir apskaičiuoti farmakokinetiniai parametrai pelėms leis praplėsti žinias apie didelį susidomėjimą pasaulyje sukėlusias medžiagas, kurios ateityje galėtų būti naudojamos priklausomybėms gydyti.

2. TYRIMŲ OBJEKTAS IR METODAI

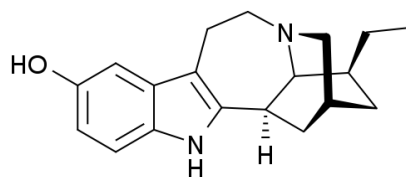
2.1. Tyrimų objektas ir reagentai

Tyrimų objektas – *Tabernanthe iboga* augalo alkaloidas ibogainas ir jo metabolitas – noribogainas. Ibogaino hidrochloridas buvo tiekiamas iš firmos Sigma (St. Louis, JAV). Ši medžiaga tirpi vandenyje ir alkoholyje, tačiau sunkiai tirpsta acetone ir chloroforme ir visai netirpsta eteriye. Ibogainas jautrus šviesai ir šilumai, jis lengvai oksiduojasi ore [Popik ir kt., 1995a], todėl viso tyrimo metu buvo laikoma ir saugoma tamsioje vėsioje (8–15 °C) vietoje.



2.1.1 pav. Ibogaino cheminė struktūra

Noribogainas gautas iš Italijos firmos Reform Italia (Endine, Italija). Tai gerai vandenyje ir alkoholyje tirpi medžiaga, jautri šviesai ir šilumai, todėl, kaip ir ibogainas, laikytas vėsioje, nuo šviesos apsaugotoje aplinkoje.



2.1.2 pav. Noribogaino cheminė struktūra

Eksperimentai atlikti su nelinijinėmis 4–6 savaičių amžiaus baltosiomis laboratorinėmis pelėmis, sveriančiomis 20–25 g. Moksliniai tyrimai atlikti laikantis Lietuvos Respublikos gyvūnų globos, laikymo ir naudojimo įstatymo [Žin., 1997, Nr. 108-2728; 2000, Nr. 61-1808] bei lydimųjų teisės aktų – Lietuvos Respublikos valstybinės veterinarijos tarnybos direktoriaus įsakymų „Dėl laboratorinių gyvūnų veisimo, dauginimo, priežiūros ir transportavimo veterinarinių reikalavimų“ [Žin., 1999, Nr. 49-1590] ir „Dėl laboratorinių gyvūnų naudojimo moksliniams bandymams“ [Žin., 1999, Nr.

49-1591]. Eksperimentai taip pat atlikti laikantis Europos etikos komiteto darbui su laboratoriniais gyvūnais nustatytų reikalavimų. Tyrimams su gyvūnais atlikti 2008-04-30 Lietuvos laboratorinių gyvūnų naudojimo etikos komisija prie Lietuvos Respublikos Valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos išdavė leidimą darbui su laboratoriniais gyvūnais. Leidimo Nr. 0172.

Eksperimentams naudotos nelinijinės baltosios laboratorinės pelės iš LSMU Veterinarijos akademijos vivariumo. Gyvūnai laikyti atsižvelgiant į geros laboratorijos praktikos (GLP) reikalavimus. Atvežtos laboratorinės pelės keletą dienų laikomos karantine, kad prisitaikytų prie naujų laikymo sąlygų. Jos laikytos narveliuose, sudarant optimalias laikymo sąlygas: patalpų optimali temperatūra 20 °C, santykinė oro drėgmė 55 ± 10 proc., santykinis šviesos režimas diena / naktis buvo 12 val. Pakratams naudota medienos drožlės ir šienas, kurie kiekvieną dieną keičiami švariais. Pelės šertos pilnaverčiu maistu ir girdytos vandentiekio vandeniu *ad libidum*. Eksperimentus atlikome su baltųjų laboratorinių pelių patinėliais (n=125).

Ibogaino ir noribogaino instiliavimas į laboratorinių pelių skrandžius ir vidaus organų paėmimas atlikti bendradarbiaujant su LSMU Medicinos Akademijos Neuromokslų instituto Molekulinės neurobiologijos laboratorija.

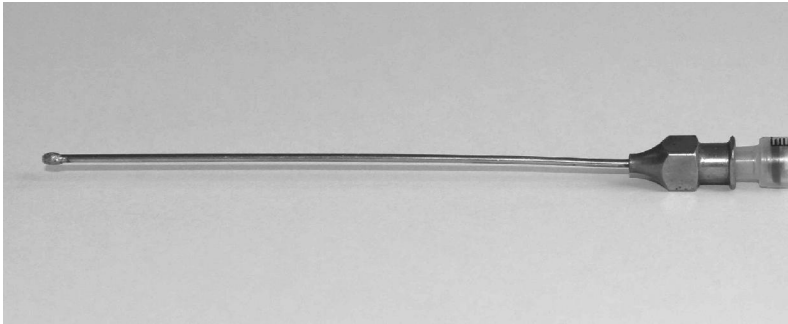
Naudoti reagentai. Tyrimo metu naudoti chemiškai švarūs reagentai. Fluoresceino natrio druska (vidinis standartas) ir metanolis įsigytas iš firmos „Sigma-Aldrich Chemie“ (Šveicarija). Efektyviajai skysčių chromatografijai (ESC) naudoti eliuentai trifluoracto rūgštis (TFA) ir acetonitrilas taip pat įsigyti iš firmos „Sigma-Aldrich Chemie“ (Šveicarija).

Eksperimentams naudotas Millipore vandens gryninimo sistema (Millipore, Bedford, JAV) išgrynintas vanduo. Oasis HLB sausos ekstrakcijos kolonėlės (30 mg sorbento, dalelių dydis 30 µm) įsigytos iš firmos Waters (Milford, JAV).

2.2 Tyrimų metodai

2.2.1. Tiriamosios medžiagos ir pelių paruošimas

Prieš kiekvieną tyrimą pelės buvo pasvertos, suskirstytos į grupes ir sužymėtos. Ibogaino ir noribogaino tirpalai buvo ruošiami *ex tempore* prieš kiekvieną tyrimą, medžiagą tirpinant dejonizuotame vandenyje. Kiekvienai pelei tirpalo tūris perskaičiuotas kūno svoriui (pvz., 25 g pelei – 0,25 ml paruošto tirpalo). Tiriamų medžiagų įvedimui tiesiai į skrandį – instiliavimui – naudotas 1 ml švirkštas su specialiai paruošta adata – zondų (2.2.1.1 pav.) (toliau darbe tai bus minima kaip zondas). Kontrolinės grupės pelėms pagal tą pačią schemą buvo instiliuojamas atitinkamas kiekis fiziologinio (0,9 proc. natrio chlorido) tirpalo.



2.2.1.1 pav. Medžiagų instiliavimui į skrandį naudojamas zondas

2.2.2. Tiriamosios medžiagos įvedimas ir mėginių paėmimas

Prieš tiriamos medžiagos įvedimą į pelės skrandį, pelė apverčiama ant nugaros aukštyrų galūnėmis, laikant rankomis gyvūno odos raukšlę nugaros srityje ir uodegą (2.2.2.1 pav.). Toks pelės išguldymas užtikrina stemplės ištiesimą, kuris yra būtinas norint išvengti jos pažeidimo medžiagos įvedimo metu. Gyvūno galva laikoma šiek tiek aukščiau, nei uodega, kad tirpalas, patekęs į skrandį, negrįžtų atgal į stemplę. Po zondavimo pelė 20 min. stebėta, siekiant įsitikinti, kad procedūros atlikimas praėjo sklandžiai (nesimato kraujavimo iš burnos ertmės, pelė netapo vangiai ar be gyvybės ženklų).



2.2.2.1 pav. Medžiagos instiliavimo į pelės skrandį iliustracija

Praėjus tyrimui reikalingam laikui po tiriamų medžiagų instiliavimo į skrandį, pelės dislokuotos nutraukiant stuburo kanalą kalko srityje ir dekapituotos. Kraujas surinktas į centrifuginį mėgintuvėlį su 25 μ l heparino. Vėliau kraujas centrifuguojamas, pipetės pagalba atsargiai nutraukiama kraujo plazma ir užšaldoma $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Išpreparuoti pelės vidaus organai (kepenys, inkstai, širdis, blužnis, smegenys ir griaučių skersaruožis raumuo) nuplauti distiliuotu vandeniu ir užšaldyti $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje.

2.2.3. Kietosios fazės ekstrakcija

Tiriamas organas du kartus plaunamas 0,9 proc. natrio chlorido tirpale po 30 s kraujo nuplovimui. Grūstuvėje susmulkinamas ir sveriamas 50–350 mg (tikslus svoris), atsižvelgiant į organo dydį: kepenys apie 350 mg, blužnis apie 65 mg, inkstai apie 100 mg, smegenys apie 200 mg, raumuo apie 200 mg, širdis apie 50 mg. Susmulkintas ir atsvertas organas patalpinamas į centrifuginį mėgintuvėlį ir užpilamas 300 μ l švarios kraujo plazmos (švari žmogaus kraujo plazma gauta iš LSMU Klinikų Hematologijos skyriaus). Mėginys 20 s gerai sumaišomas vibracinės maišyklės pagalba ir paliekamas $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje 24 val., kad tiriami medžiaga iš organo pereitų į plazmą. Po to pilama 0,5 ml vandens, parūgštinto 100 ml/l koncentruota acto rūgštimi, ir 20 μ l vidinio standarto fluoresceino (20,1 mg/l). Mėginys gerai sumaišomas ir centrifuguojamas 20 min. 1500 apsisukimų per minutę greičiu. Supernatantas pipetės pagalba atsargiai nutraukiamas nuo susidariusių nuosėdų ir pilamas į sausos ekstrakcijos SPE

Oasis HLB (Waters, Milfordas, JAV) kolonėlę. Ši kolonėlė paruošiama darbui suaktyvinant sorbentą praplovus 1 ml metanoliu, po to 1 ml distiliuotu vandeniu, vakumu nustačius tekėjimo greitį 1 lašas per 4 sekundes. Praleidus supernatantą per SPE kolonėlę, 2 ml plaunama išgrynintu vandeniu ir 2 min. džiovinama sauso oro srove vakumo pagalba. Tiriamos medžiagos išplovimui iš sorbento pilama 2 ml metanolio, kuris renkamas į sausą, švarų mėgintuvėlį. Surinkta ištrauka džiovinama azoto srove iki sauso likučio, kurį vėliau ištirpiname 100 µl mobilioje fazėje (15 proc. acetonitrilo ir 85 proc. 0,1 proc. trifluoracto rūgšties (TFA) vandeninio tirpalo). 10 µl gauto tirpalo injekuojama į skysčių chromatografą.

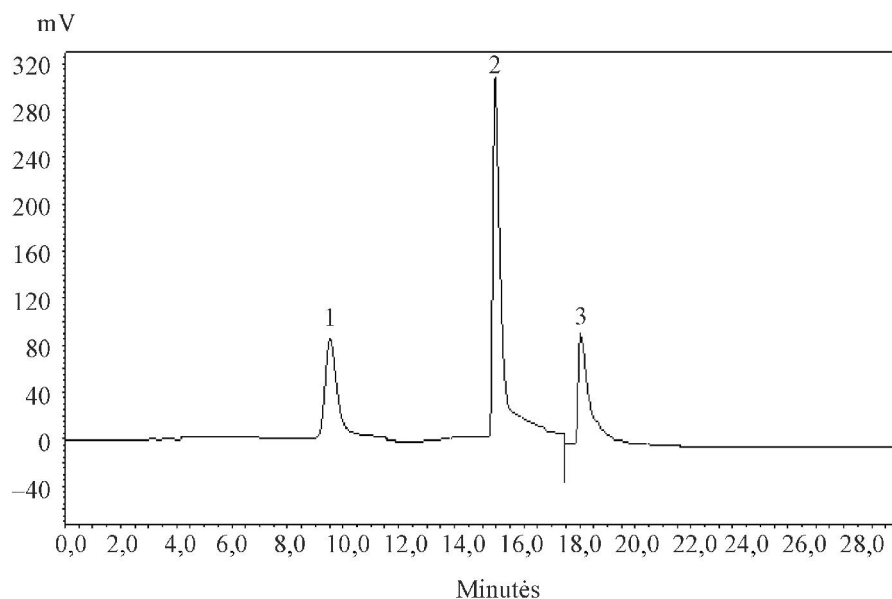
2.2.4. Efektyvioji skysčių chromatografinė analizė

Ibogaino ir noribogaino nustatymui naudotas skysčių chromatografas „Waters 2695“ su fluorescenciniu „Waters 474“ detektoriumi (Waters, Milfordas, JAV). Kolonėlė XTerra (RP18) 3×150 mm, su prieškolonėle 3,9×20 mm, sorbento dalelių dydis – 3,5 µm. Analizių išplovimui naudota dviejų eliuentų sistema. Eliuentas A – acetonitrilas, eliuentas B – 0,1 proc. TFA tirpalas vandenyje. Naudotas išgrynintas dejonizuotas vanduo (Millipore vandens gryninimo sistema), acetonitrilas – gradientinio švarumo. Taikytas mobilios fazės gradientinis kitimas; abiejų fazių procentinio kiekio kitimas chromatografinio skirstymo metu pateikti 2.2.4.1 lentelėje.

2.2.4.1 lentelė. ESC naudoto mobilių fazių gradiento kitimas

Laikas (min.)	Acetonitrilas (proc.)	0,1 proc. trifluoracto r. (proc.)
0–7	15	85
20	80	20
22	100	0
25	15	85

Naudotas eliuavimo greitis – 0,4 ml/min., injekcijos tūris – 10 µl. Medžiagų identifikavimas ir įvertinimas atliktas vidinio standarto metodu. Ibogaino ir noribogaino fluorescencija sužadinama 230 nm bangos ilgio spinduliuose ir po to matuojama fluorescencija prie 336 nm bangos ilgio. Vidinio standarto (fluoresceino) fluorescencija sužadinama 440 nm bangos ilgio spinduliuose ir po to matuojama fluorescencija prie 514 nm bangos ilgio [Kontrimavičiūtė ir kt., 2005]. Analizių standartų chromatograma pavaizduota 2.2.4.1 paveiksle.



2.2.4.1 pav. Analizių standartų ESC chromatograma

(Skaičiais pažymėtos šių analizių smailės:

1 – noribogainas, 2 – ibogainas, 3 – vidinis standartas fluoresceinas)

Analizė atliekama kambario temperatūroje. Tiriamų medžiagų tapatybė nustatoma lyginant analizių sulaikymo trukmes su standartiniuose tirpaluose esančių tiriamų medžiagų sulaikymo laikais. Kiekybiniam nustatymui sudaryti ibogaino ir noribogaino kalibraciniai grafikai. Etaloninės medžiagos tirpintos vandenyje ir jų tirpalai paruošti apytikrėse analizių kiekiui bandinių ekstraktuose koncentracijų ribose. Chromatografinis skirstymas valdytas, chromatogramos fiksuotos ir duomenys apdoroti naudojant Empower 2 chromatographic manager system (Waters, Milfordas, JAV) programą.

2.2.5. Vidutinės mirtinosios dozės (LD₅₀) nustatymas

Vidutinė mirtinoji dozė (LD₅₀) – tai yra minimali medžiagos koncentracija, nuo kurios žūva 50 proc. visų bandomųjų gyvūnų. Kiekvienos tiriamos medžiagos toksiškumui įvertinti parinkome atitinkamą LD₅₀ baltoms laboratorinėms pelėms, kuri išreiškiama miligramais medžiagos, tenkančiais vienam kūno masės kilogramui. Ši dozė buvo skaičiuota pagal formulę [Jing-Hui, Marsh, 1988]:

$$\lg LD_{50} = \lg D_N - \delta(\sum L_i - 0,5),$$

kur D_N – didžiausia tiriamos medžiagos dozė, δ – įvestos medžiagos dozių santykio logaritmas, L_i – santykis kritusių pelių skaičiaus su dozės poveikiui nustatyti naudotų pelių skaičiumi.

Norėdami nustatyti ibogaino LD_{50} , pelėms ($n=16$) vienkartinai į skrandį instiliavome žemiau nurodytų koncentracijų ibogaino tirpalus, paruoštus dejonizuotame vandenyje:

1. 500 mg/kg (suspensijos koncentracija 25 mg/ml)
2. 400 mg/kg (suspensijos koncentracija 20 mg/ml)
3. 300 mg/kg (suspensijos koncentracija 15 mg/ml)
4. 100 mg/kg (suspensijos koncentracija 5 mg/ml)

Noribogaino LD_{50} nustatymui pelėms ($n=16$) instiliuoti sekantys noribogaino tirpalai:

1. 900 mg/kg (suspensijos koncentracija 45 mg/ml)
2. 700 mg/kg (suspensijos koncentracija 35 mg/ml)
3. 500 mg/kg (suspensijos koncentracija 25 mg/ml)
4. 300 mg/kg (suspensijos koncentracija 15 mg/ml)

Kontrolinėms pelėms zondo pagalba švirkštėme atitinkamą fiziologinio tirpalo tūrį. Po paros įvertinta, kiek pelių krito ir kiek išgyveno instilavus atitinkamą tirpalą.

2.2.6. Tiriamųjų medžiagų koncentracijų pelių organuose nustatymas praėjus parai po jų vienkartinės dozės instiliavimo ir po 14 dienų kartotinių dozių

Norėdami nustatyti, kokios ibogaino ir noribogaino koncentracijos susidaro pelių vidaus organuose po vienkartinės dozės praėjus parai po jos instiliavimo, buvo sudarytos trys pelių grupės. Pirmąją ($n=6$) sudarė pelės, kurioms į skrandį instiliuota vienkartinė 0,5 LD_{50} ibogaino dozė (131 mg/kg), antrąją ($n=6$) grupę sudarė pelės, kurioms instiliuota vienkartinė 0,5 LD_{50} noribogaino dozė (315 mg/kg), o trečiosios grupės pelėms ($n=6$) buvo instiliuotas atitinkamas fiziologinio tirpalo kiekis. Praėjus 24 val. po tiriamų medžiagų instiliavimo į skrandį, pelės dislokuotos ir dekapituotos.

Norėdami įvertinti, ar dviejų savaitių trukmės ibogaino ir noribogaino vartojimas turi įtakos šių medžiagų kaupimuisi pelių organuose, vienai pelių grupei ($n=6$) zondo pagalba 14 dienų (vieną kartą dienoje, tą pačią valandą) švirkštėme 0,05 LD_{50} ibogaino (13,15 mg/kg) tirpalą, paruoštą dejonizuotame vandenyje, antrai pelių grupei ($n=6$) tą patį laiko tarpą pagal tą pačią schemą švirkštėme 0,05 LD_{50} noribogaino (31,5 mg/kg) tirpalą. Kontrolinėms pelėms ($n=6$) pagal tą pačią metodiką ir schemą švirkštėme atitinkamą fiziologinio tirpalo tūrį.

Išpreparuoti organai (kepenys, inkstai, širdis, blužnis, smegenys ir griaučių raumenų pavyzdžiai) užšaldyti –40 °C temperatūroje.

Atliekant kietos fazės ekstrakciją, tiriamosios medžiagos iš pelės organo pervedamos į mikrofazę ir vykdomas šių medžiagų kiekybinis nustatymas skystinės chromatografijos metodu. Apskaičiuojamas chromatogramose gautų tiriamos medžiagos ir vidinio standarto smailių plotų santykis. Kalibraciniame grafike nustatyta tiriamos medžiagos koncentracija perskaičiuojama organo vienam miligramui ir nustatoma, kokios ibogaino ir noribogaino koncentracijos susidaro tiriamuosiuose organuose praėjus parai po jų pavartojimo.

2.2.7. Farmakokinetinių parametrų nustatymas

Tiriant ibogaino farmakokinetiką, pelėms (n=30) zondo pagalba į skrandį sušvirkšta vienkartinė 0,1 LD₅₀ ibogaino (26,3 mg/kg) dozė. Pelės dekapituotos praėjus 15 min., 30 min., 2 val., 4 val., 6 val., 8 val., 16 val., 24 val., 48 val. ir 72 val. po medžiagos instiliavimo į skrandį. Kiekviename laike dekapituota po tris peles. Išpreparuoti vidaus organai (kepenys, inkstai, smegenys, širdis, blužnis ir skeleto raumuo) užšaldyti –40 °C temperatūroje.

Noribogaino farmakokinetinių parametrų nustatymui pelėms (n=27) į skrandį instiliuota vienkartinė 0,05 LD₅₀ noribogaino (31,5 mg/kg) dozė. Pelės dekapituotos tais pačiais laikais, kaip ibogainas. Išpreparuoti organai užšaldyti iki mėginių ruošimo.

Atlikus kietos fazės ekstrakciją ir chromatografinę analizę apskaičiuojami tiriamų medžiagų kiekiai laboratorinių pelių kraujo plazmoje ir organuose. Farmakokinetiniai parametrai skaičiuoti naudojant farmakokinetinę programą „Kinetica“ (4.0 version, JAV), pasirinkus nekamerinį (ang. *non-compartment*) modelį. Paskaičiuoti farmakokinetiniai parametrai: pasiskirstymo tūris (Vd), plotas po kreive (AUC_{last}, AUC_{tot}), pusinės eliminacijos laikas (t_{1/2}), didžiausia koncentracija (C_{max}), klirensas (CL), eliminacijos greičio konstanta (k_e).

Pasiskirstymo tūris parodo medžiagos kiekio kraujo plazmoje santykį su medžiagos kiekiu visame organizme ir yra apskaičiuotas pagal formulę:

$$Vd = \frac{\text{medžiagos kiekis organizme}}{\text{medžiagos koncentracija plazmoje}}$$

Pusinės eliminacijos laikas (pusinis periodas) – tai laikas, per kurį vaisto koncentracija plazmoje sumažėja per pusę. Jį galima paskaičiuoti, žinant pasiskirstymo tūrį (Vd) ir klirensą (CL):

$$t_{1/2} = \frac{0.693 \times Vd}{CL}$$

Plotas po medžiagos koncentracijos ir laiko kreive (AUC) apskaičiuojamas pagal trapecijų formulę (ang. *trapezoidal rule*):

$$AUC_i = (t_i - t_{i-1}) \frac{(C_{i-1} + C_i)}{2}$$

AUC_{last} – tai plotas po medžiagos koncentracijos ir laiko kreive nuo $t=0$ iki t_{last}

$$AUC_{tot} = AUC_{last} + AUC_{extra}$$

AUC_{extra} parodo paskutinės nustatytos koncentracijos (C_{last}) santykį su tuo metu nustatyta eliminacijos greičio konstanta (Lz):

$$AUC_{extra} = \frac{C_{last}}{Lz}$$

2.2.8. Duomenų statistinis įvertinimas

Statistinė duomenų analizė atlikta naudojant SPSS 20 (SPSS Inc., Čikaga, JAV) statistinį paketą. Analizuojant farmakokinetinius parametrus, skaičiuota aprašomoji statistika: aritmetiniai vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai.

Analizuojant medžiagų koncentracijas pelių organuose, skaičiuoti aritmetiniai vidurkiai, standartiniai nuokrypiai, mažiausia ir didžiausia reikšmė.

Kiekvienos medžiagos koncentracijos tarp laboratorinių pelių organų (širdies, griaučių raumenų, inkstų, smegenų, blužnies, kepenų) palygintos, taikant neparametrinį Friedman'o kriterijų ir porinių palyginimų Wilcoxon'o žymėtųjų rangų kriterijų. Ibogaino ir metabolito N_1 koncentracijos ($\mu\text{g/g}$) kiekviename pelių organe (širdyje, raumenyje, inkstuose, smegenyse, blužnyje, kepenyse) praėjus 24 val. po vienkartinės ir 14 dienų kartotinių ibogaino dozių instiliavimo į pelių skrandį palyginti, taikant neparametrinį Mann-Whitney kriterijų.

Pelių svoriai 14 dienų kartotinių dozių tyrimo pradžioje ir pabaigoje kiekvienoje grupėje palyginti, taikant Wilcoxon'o žymėtųjų rangų kriterijų. Palyginimui tarp grupių (ibogainas – kontrolė ir noribogainas – kontrolė) taikytas neparametrinis Mann-Whitney kriterijus.

Pasirinktas reikšmingumo lygmuo $\alpha=0,05$. Skirtumas laikytas statistiškai reikšmingu, kai kriterijaus reikšmingumas $p<\alpha$. Grafiniam gautų rezultatų pavaizdavimui naudota MS Excel (Microsoft, JAV) programa.

3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1. Ibogaino ir noribogaino vidutinės mirtinosios dozės nustatymas

Atliekant įvairių preparatų toksiškumo tyrimus bei norint palyginti skirtingų medžiagų toksinį poveikį organizmui reikia įvertinti jų vidutinę mirtinąją dozę (LD_{50}). Remiantis jos reikšme galima korektiškai planuoti eksperimentą, nebijant tiriamo preparato perdozavimo. Be to, ši reikšmė leidžia palyginti įvairių medžiagų toksiškumą. LD_{50} – tai statistiškai apskaičiuota vienkartinė medžiagos dozė, kuri sukelia 50 proc. tiriamųjų gyvūnų kritimą.

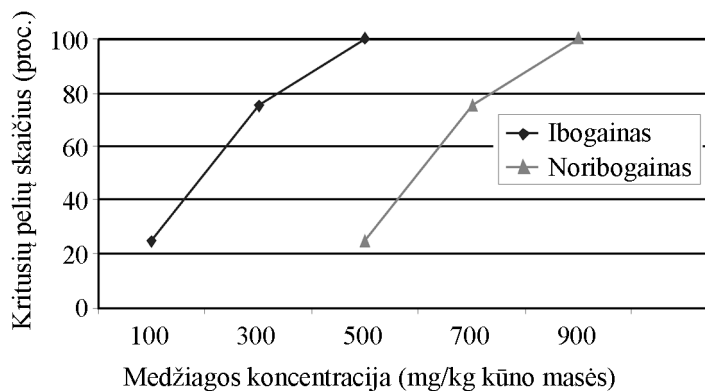
Atsižvelgę į mokslinėje literatūroje aprašytas nustatytas ibogaino LD_{50} reikšmes žiurkėms ir jūrų kiaulytėms, tyrimą pradėjome nuo 100 mg/kg ibogaino koncentracijos. Instiliavus šią ibogaino dozę pelių kritimo nepastebėta, todėl nuspręsta koncentraciją padidinti 200 mg/kg, t. y. iki 300 mg/kg. Šioje eksperimentinėje grupėje krito 3 pelės iš 4 (3.1.1 lentelė). Siekiant nustatyti, kokia koncentracija sukelia visų tiriamų pelių kritimą, koncentraciją padidinta dar 200 mg/kg, t. y. iki 500 mg/kg. Šią ibogaino koncentraciją vartojusių pelių grupėje visos pelės krito. Sumažinus šią koncentraciją iki 400 mg/kg taip pat nustatytas visų keturių pelių kritimas. Pelių išgyvenamumo priklausomybę nuo instiliuotos ibogaino dozės grafiškai vaizduoja 3.1.1 paveikslas.

3.1.1 lentelė. Pelių išgyvenamumo priklausomybė nuo dozės

Ibogainas		Noribogainas	
Dozė (mg/kg)	Mirtingumas (kritusių pelių sk./naudotų pelių sk.)	Dozė (mg/kg)	Mirtingumas (kritusių pelių sk./naudotų pelių sk.)
100	0/4	300	0/4
300	3/4	500	0/4
400	4/4	700	3/4
500	4/4	900	4/4

Atsižvelgę į ibogaino vidutinės mirtinosios dozės nustatymui naudotas koncentracijas, noribogaino LD_{50} nustatymui mažiausią koncentraciją pasirinkome 300 mg/kg. Šioje grupėje pelių kritimo nepastebėta. Todėl koncentraciją padidinome iki 500 mg/kg. Tokia koncentracija ibogaino grupėje buvo didžiausia ir sukėlė visų tiriamų pelių žūtį, tačiau noribogaino grupėje ši koncentracija poveikio pelių išgyvenamumui neturėjo, t. y. šioje eksperimentinėje grupėje visos 4 pelės liko gyvos. Padidinus dozę iki 700 mg

noribogaino vienam kg pelės kūno masės krito 3 iš 4 grupėje buvusių pelių. Pagal metodiką noribogaino dozę padidinome iki 900 mg/kg, kad galėtume nustatyti, kurioje grupėje kris visos pelės (3.1.1 lentelė). Pelių išgyvenamumo priklausomybę nuo instiliuotos noribogaino dozės grafiškai vaizduoja 3.1.1 paveikslas.

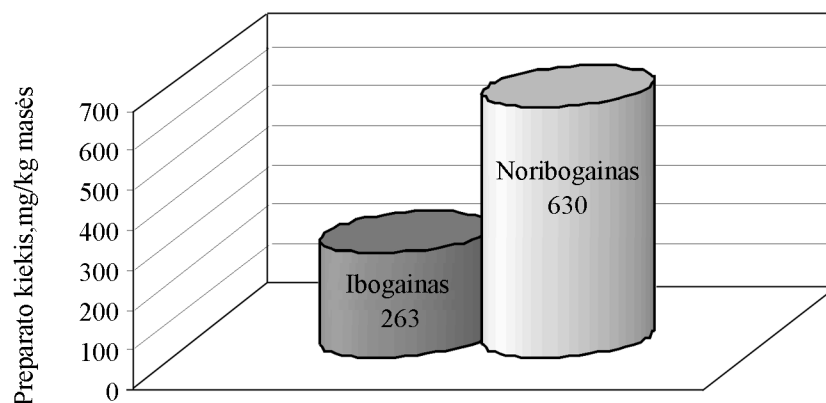


3.1.1 pav. Pelių išgyvenamumo priklausomybė nuo įvestos ibogaino ir noribogaino dozės. Kiekviena dozė buvo įvesta 4 pelėms

Įvedus tiek ibogainą, tiek noribogainą buvo stebėta pelių elgsena. Tai yra vienas iš žymenų apie tam tikros medžiagos toksinį poveikį gyvūnams. Instiliavus mažiausias ibogaino (100 mg/kg) ir noribogaino (300 mg/kg) dozes pelių elgesio sutrikimų nenustatyta. Pakitusią pelių elgseną (traukulius, nervingą elgesį, kojų paralyžių) stebėjome tik instiliavus didesnes tiriamų medžiagų dozes: ibogaino 400 mg/kg, noribogaino 500 mg/kg kūno masės.

Apskaičiuota vidutinė mirtinoji ibogaino dozė pelėms yra 263 mg/kg kūno masės. Pagal kritusių pelių skaičių ir naudotas koncentracijas paskaičiavome noribogaino LD₅₀ pelėms. Šis dydis lygus 630 mg noribogaino vienam kg pelės kūno masės (3.1.2 pav.).

Literatūros duomenimis, LD₅₀ įvairiems gyvūnams skiriasi. Tam įtakos turi ir tiriamos medžiagos patekimo į laboratorinio gyvūno organizmą būdas. Ibogaino LD₅₀ yra nustatyta jūrų kiaulytėms (82 mg/kg – injekcija į pilvo ertmę) ir žiurkėms (327 mg/kg geriamo ibogaino ir 145 mg/kg po injekcijos į pilvo ertmę) [Hough ir kt., 1996; Goutarel ir kt., 1993]. Mūsų eksperimente ibogainas ir noribogainas tirtas pelių organizme po instiliavimo į skrandį. Nustatytos abiejų tiriamųjų medžiagų LD₅₀ rodo, kad ibogainas, kurio LD₅₀ yra 263 mg/kg, yra net 2,4 karto toksiškesnė medžiaga, nei jo metabolitas noribogainas, kurio apskaičiuota LD₅₀ yra 630 mg/kg. Remiantis klasikine cheminių medžiagų toksiškumo klasifikacija, ibogainas



3.1.2 pav. *Ibogaino ($n=16$ pelių) ir noribogaino ($n=16$ pelių) vidutinė mirtina dozė pelėms*

turėtų būti priskirtas labai toksiškų medžiagų grupei (LD_{50} 50–500 mg/kg), o noribogainas – vidutiniškai toksiškų medžiagų grupei (LD_{50} 0,5–5 g/kg). Ibogaino toksiškumą gali sąlygoti kiti jo metabolitai, nors literatūroje duomenų apie juos nėra.

Tyrimė nustatytos ibogaino ir noribogaino vidutinės mirtinosios koncentracijos pelėms leidžia planuoti, kokias šių medžiagų koncentracijas naudoti tolesniuose tyrimuose, nesukeliant nepageidaujamos gyvūno žūties. Savo darbe naudojome 131 mg/kg (0,5 LD_{50}), 26,3 mg/kg (0,1 LD_{50}) ir 13,15 mg/kg (0,05 LD_{50}) ibogaino bei 315 mg/kg (0,5 LD_{50}) ir 31,5 mg/kg (0,05 LD_{50}) noribogaino koncentracijas.

3.2. Efektyviosios skysčių chromatografijos metodikos pritaikymas ir validacija ibogaino ir noribogaino koncentracijų pelių kraujo plazmoje ir organuose nustatymui

Domėjimasis ibogaino ir jo metabolito noribogaino veikimo mechanizmu ir gebėjimu mažinti opioidinės abstinencijos sindromus, skatina atlikti naujus tyrimus, siekiant tiksliai įvertinti šių medžiagų kiekius organuose po jų pavartojimo. Atrankių metodikų kūrimas, leidžiančių efektyviai išskirti tiriamas medžiagas iš biologinių objektų, patikimai jas identifikuoti ir tiksliai įvertinti jų kiekius, bei pritaikymas yra vienas svarbiausių šiuolaikinio mokslo uždavinių.

Literatūroje aprašytos įvairios fizikocheminės analizės metodikos, taikytos ibogaino ir noribogaino koncentracijų biologiniuose skysčiuose ir

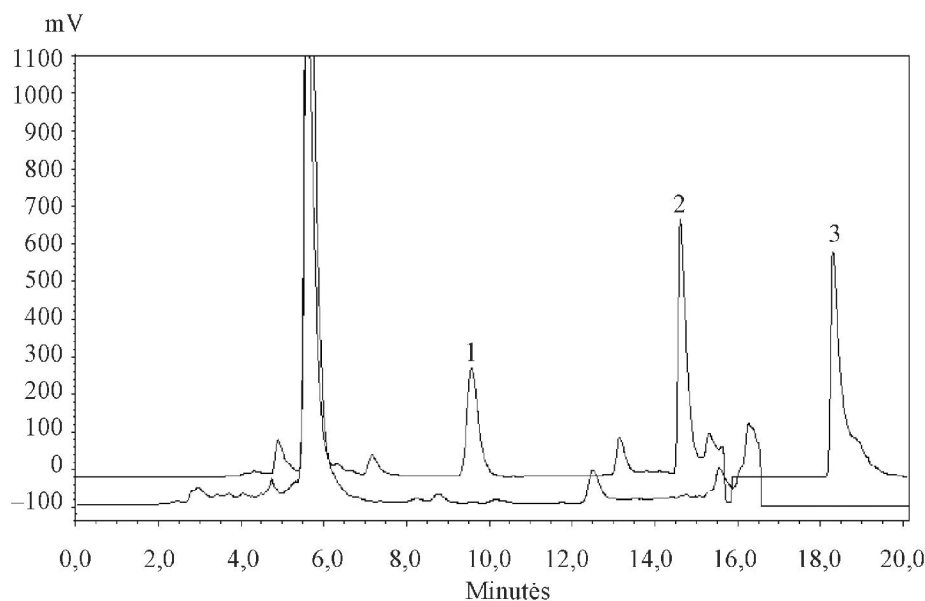
organuose nustatymui. Remiantis literatūros duomenimis (žr. Literatūros apžvalga, Tyrimo metodai) ir atsižvelgę į detektorių jautrumą, savo tyrime ibogaino ir noribogaino koncentracijų pelių kraujo plazmoje ir organuose nustatymui pasirinkome ESC metodą su fluorescenciniu detektoriumi. Validuojant pasirinktą metodiką [Kontrimavičiūtė ir kt., 2005] mūsų laboratorijoje, bandėme pritaikyti skirtingų gamintojų ir charakteristikų chromatografinės kolonėlės:

1. „Supelco“ (C15, JAV) 4,6×150 mm, su prieškolonėle 3,0×20 mm, sorbento dalelių dydis 5 μm.
2. „Sunfire“ (C18, Airija) 3×150 mm, su prieškolonėle 3,0×20 mm, sorbento dalelių dydis – 3,5 μm.
3. „XTerra“ (RP18, Airija) 3×150 mm, su prieškolonėle 3,9×20 mm, sorbento dalelių dydis – 3,5 μm.

Eksperimentai parodė, kad išskyrus iš pelių organų ir kraujo plazmos ibogainą ir noribogainą ESC metodu su fluorescenciniu detektoriumi nustatyti negalima, nes trukdo kartu išsiektragavusios pašalinės lydinčios medžiagos. Todėl reikalingas šių balastinių medžiagų pašalinimas. Bandymų metu nustatyta, kad labiausiai balastinių medžiagų pašalinimui tinka kietos fazės ekstrakcija, naudojant kietos fazės ekstrakcijos kolonėles.

Atlikus švarios kraujo plazmos kietos fazės ekstrakciją ir chromatografiją nustatytos skirtingų aukščių ir plotų chromatografinės smailės, kurios rodo, kad darbo metu naudota kietos fazės ekstrakcija neužtikrina visiško balastinių medžiagų pašalinimo. Mūsų tikslas – mobilių fazių gradiento kitimo pagalba panaikinti kraujo plazmoje esančias smailes, kurių sulaikymo laikai sutampa su mūsų tiriamų medžiagų sulaikymo laikais. Bandymų metu nustatyta, kad tinkamiausia yra „XTerra“ kolonėlė. Naudojant šią kolonėlę kraujo plazmoje esančios lydinčios medžiagos netrukdo nustatyti tiriamas medžiagas, nes noribogaino sulaikymo laikas 9,4 min., ibogaino 15,2 min., o fluoresceino 18,6 min. (3.2.1 pav.) – šiose vietose pašalinių smailių nėra.

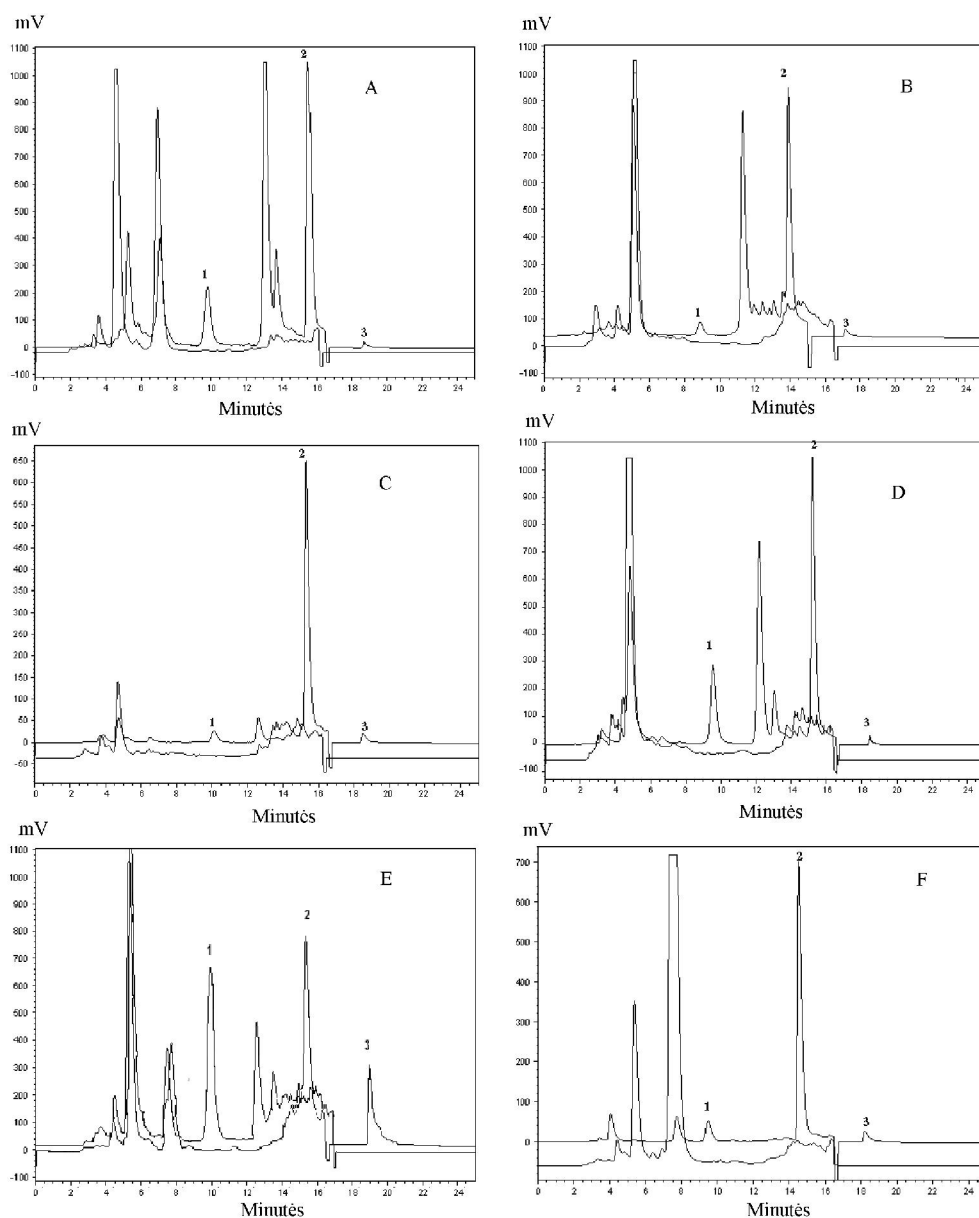
Tokie patys rezultatai gauti ir atlikus visų tiriamųjų pelių organų (kepenų, blužnies, širdies, inkstų, smegenų ir griaučių raumenų) chromatografinę analizę (3.2.2 pav.).



3.2.1 pav. Švarios kraujo plazmos chromatograma ir kraujo plazmos su ibogainu, noribogainu ir fluoresceinu chromatograma, kur 1-noribogainas, 2- ibogainas, 3-fluoresceinas

Chromatografinės kolonėlės pasirinkimą lėmė ir standartų smailių skiriamosios gebos (R_s) apskaičiuota reikšmė. Apskaičiuota tiriamų medžiagų standartų skiriamoji geba yra didesnė, nei rekomenduojama reikšmė 1,5. Tarp noribogaino smailės ir sekančios chromatogramoje esančios smailės apskaičiuota R_s lygi 3,47, o tarp ibogaino ir sekančios smailės – 1,90.

Analizuojant gautas chromatogramas po ibogaino instiliavimo į pelių skrandį, daugelio tiriamų organų chromatogramose apie 12 min. matoma papildoma smailė ir ji yra didesnė, nei mūsų tiriamo metabolito – noribogaino. Manome, kad ši smailė yra kito – neidentifikuoto – ibogaino metabolito. Literatūros duomenimis, ibogainas gali oksiduotis į iboluteiną ir ibochiną [Popik ir kt., 1995a], todėl negalime atmesti tikimybės, kad šis smailė yra ibogaino oksidacijos metu susidariusio junginio. Ateityje planuojama atlikti daugiau tyrimų, siekiant nustatyti, kokia medžiaga matoma chromatogramose.



3.2.2 pav. Kontrolinių ir tiriamųjų pelių organų (po ibogaino instiliavimo) chromatogramos

(Analičių smailės: **1** – noribogainas, **2** – ibogainas, **3** – fluoresceinas. **A** – kepenyse, **B** – blužnyje, **C** – širdyje, **D** – inkstuose, **E** – smegenyse, **F** – griaučių raumenyje)

Tiriamų medžiagų kiekybiniam nustatymui sudaryti kalibraciniai grafikai, naudojant vidinį standartą fluoresceiną. Jų sudarymui pagaminti darbiniai ibogaino (konc. 1,68–420,6 ng/ml) ir noribogaino (konc. 1,53–382,4 ng/ml) tirpalai. Į švnią kraujo plazmą (0,5 ml) įpilta 20 µl vidinio standarto fluoresceino (20,1 mg/l) ir 100 µl atitinkamos koncentracijos darbinio tirpalo. Prieš vykdant paruoštų tirpalų kietos fazės ekstrakciją (eiga aprašyta metodikoje) kiekvienas mėginys sumaišomas vibracinės maišyklės pagalba ir paliekamas 20 °C temperatūroje 20 min., kad gerai susimaišytų su kraujo plazma.

Kalibracinis grafikas sudarytas tiriamų medžiagų ir vidinio standarto plotų santykio priklausomybės nuo tiriamos medžiagos koncentracijos būdu. Vidinio standarto koncentracija parenkama tokia, kad jo smailė būtų artima ibogaino ir noribogaino vidutinių koncentracijų smailėms. Kalibracinėse kreivėse stebima ryški koreliacija.

Aptikimo ir nustatymo ribos tiriamoms medžiagoms buvo įvertintos lyginant smailės aukštį su bazinės linijos triukšmu. Šie ribiniai parametrai svarbūs kokybiniam ir kiekiniam tiriamų medžiagų nustatymui. Aptikimo ribos reikšmės svyravo nuo 0,4 ng/ml ibogaino iki 0,7 ng/ml noribogaino, o nustatymo - atitinkamai nuo 1,4 iki 2,15 ng/ml. Tiesinės regresijos lygtys, koreliacijos koeficientai ir nustatymo ribos pateiktos 3.2.1 lentelėje.

3.2.1 lentelė. *Ibogaino ir noribogaino tiesinės regresijos lygtys, koreliacijos koeficientai bei analizių aptikimo ir nustatymo ribinės koncentracijos*

Charakteristikos	Noribogainas	Ibogainas
Sulaikymo laikas	9,4 min.	15,2 min.
Regresijos lygtis	$Y = 0,0004x + 0,0208$	$Y = 0,0006x + 0,0097$
Koreliacijos koeficientas (R^2)	0,994	0,996
Aptikimo riba	0,7 ng/ml	0,4 ng/ml
Nustatymo riba	2,15 ng/ml	1,4 ng/ml

Metodikos glaudumas nustatytas įvertinant tarpinį preciziškumą. Jis įvertintas tą patį mėginį analizuojant skirtingomis dienomis ir lyginant gautus rezultatus su šviežiai pagamintu mėginiu. Tarpinio preciziškumo, sulai kymo laiko ir smailės ploto įvertinimui atliktos 6 vieno ir to paties mėginio injekcijos: per 6 skirtingas dienas atlikta po 1 injekciją. Rezultatų glau dumas išreikštas variacijos koeficientu (VK). Apskaičiuota, kad sulaikymo trukmei VK neviršija 1,7 proc., o smailių plotams VK neviršija 7 proc. (3.2.2 lentelė).

3.2.2 lentelė. ESC metodikos glaudumas

Charakteristikos	Noribogainas	Ibogainas
Sulaikymo trukmei VK	1,689 proc.	0,538 proc.
Smailių plotams VK	5,1 proc.	6,9 proc.

Pagrindinis parametras, kuriuo remiantis atliktas ibogaino ir noribogaino kiekinis įvertinimas pelių organuose – chromatogramose gautų tiriamos medžiagos ir vidinio standarto smailių plotų santykis. Kiekinis nustatymas atliktas naudojant kalibravimo grafikus, kuriuose nustatyta tiriamos medžiagos koncentracija perskaičiuota 1 miligramui pelės organo.

Atliktų tyrimų rezultatai patvirtino validuotos ESC metodikos tinkamumą efektyviam ibogaino ir noribogaino išskyrimui iš biologinių objektų ir išskirstymui. Todėl šią metodiką taikėme tiriamųjų medžiagų koncentracijų laboratorinių pelių organuose nustatymui, reikalingų farmakokinetinių parametrų bei kaupimosi organuose nustatymui.

3.3. Ibogaino, jo biotransformacijos metu susidariusio metabolito N_1 ir noribogaino koncentracijų pelių organuose nustatymas, praėjus 24 val. po vienkartinį tiriamų medžiagų dozių instiliavimo į skrandį

Literatūroje aprašyti keli atlikti tyrimai su ibogainu apsinuodijusio žmogaus vidaus organais ir biologiniais skysčiais (krauju, kraujo plazma, šlapimu) [Kontrimavičiūtė ir kt., 2006a; Cheze ir kt., 2008]. Tačiau nė vienu atveju nebuvo žinoma, kiek laiko buvo praėję nuo medžiagos pavartojimo iki mirties ar nuo mirties iki atlikto skrodimo ir mėginių paėmimo, ar nebuvo vartota kitų medžiagų vienu metu.

Mūsų darbo tikslas – nustatyti, kokios ibogaino ir noribogaino koncentracijos susidaro laboratorinių pelių vidaus organuose praėjus parai po vienkartinį šių medžiagų dozių instiliavimo į skrandį. Atsižvelgę į literatūros duomenis darėme prielaidą, kad po paros tiriamų medžiagų koncentracijos organuose bus mažos ir gal net sunkiai nustatomos, todėl šiam tikslui pasirinkome dozes, atitinkančias pusę vidutinės mirtinosios dozės (0,5 LD₅₀). Pagal metodiką, nurodytą „Tyrimų objektas ir metodai“ 2.2.6 skyriuje, nustatėme ibogaino ir jo biotransformacijos metu organizme susidariusio metabolito noribogaino (toliau darbe jis bus minimas kaip *metabolitas N₁*) koncentracijas po vienkartinės 131 mg/kg ibogaino dozės ir noribogaino koncentraciją po vienkartinės 315 mg/kg sintetinio noribogaino dozės laboratorinių pelių vidaus organuose. Organuose nustatytos didelės tiriamų medžiagų koncentracijos, ypač blužnies ir širdies audiniuose, todėl reikėjo atlikti mėginių skiedimą. Dėl šios priežasties tolesniuose tyrimuose naudoti tokią dozę buvo netikslinga.

3.3.1. Ibogaino ir noribogaino koncentracijų organuose nustatymas ir palyginimas, praėjus 24 val. po instiliavimo į laboratorinių pelių skrandį

Ibogaino ir noribogaino koncentracijų pelių organuose praėjus parai po vienkartinę dozių instiliavimo į skrandį aprašomoji statistika pateiktos 3.3.1.1 ir 3.3.1.2 lentelėse.

3.3.1.1 lentelė. *Ibogaino koncentracijų ($\mu\text{g/g}$) pelių organuose, praėjus 24 val. po vienkartinės 131 mg/kg ibogaino dozės, aprašomoji statistika ($n=6$)*

Organai	Vidurkis $\pm$ SN	Mediana	Mažiausia reikšmė	Didžiausia reikšmė
Širdis	6,13 $\pm$ 0,15	6,175	5,89	6,31
Blužnis	12,91 $\pm$ 0,37	12,82	12,54	13,53
Kepenys	4,03 $\pm$ 0,51	4,11	3,19	4,59
Inkstai	9,33 $\pm$ 0,11	9,33	9,17	9,48
Smegenys	1,67 $\pm$ 0,17	1,68	1,45	1,87
Griaučių raumuo	1,30 $\pm$ 0,10	1,29	1,17	1,45

3.3.1.2 lentelė. *Noribogaino koncentracijų ($\mu\text{g/g}$) pelių organuose, praėjus 24 val. po vienkartinės 315 mg/kg noribogaino dozės, aprašomoji statistika ($n=6$)*

Organai	Vidurkis $\pm$ SN	Mediana	Mažiausia reikšmė	Didžiausia reikšmė
Širdis	14,07 $\pm$ 0,18	14,05	13,86	14,35
Blužnis	28,56 $\pm$ 0,50	28,38	28,09	29,21
Kepenys	3,25 $\pm$ 0,30	3,17	2,95	3,76
Inkstai	7,53 $\pm$ 0,16	7,51	7,36	7,77
Smegenys	5,71 $\pm$ 0,22	5,78	5,33	5,91
Griaučių raumuo	2,63 $\pm$ 0,17	2,60	2,41	2,89

Lentelėse pateiktais duomenimis, praėjus 24 val. po vienkartinę dozių instiliavimo, didžiausia noribogaino koncentracija ($28,56 \pm 0,50 \mu\text{g/g}$) nustatyta laboratorinių pelių blužnies audiniuose. Ibogaino koncentracija šiame organe po paros laiko 2,2 karto mažesnė ($12,91 \pm 0,37 \mu\text{g/g}$). Tokį koncentracijos skirtumą, be abejo, įtakoja įvesta mažesnė ibogaino dozė, tačiau negalima atmesti fakto, kad ibogainas biotransformuojasi į metabolitą –

noribogainą [Mash ir kt., 1995; Hearn ir kt., 1995]. Ibogaino didžiausia koncentracija ($12,91 \pm 0,37 \mu\text{g/g}$), praėjus 24 val. po jo vienkartinės dozės instiliavimo į pelių skrandį, taip pat nustatyta pelių blužnies audiniuose. Didelė noribogaino koncentracija ($14,07 \pm 0,18 \mu\text{g/kg}$) nustatyta laboratorinių pelių širdies audiniuose, nors ši koncentracija du kartus mažesnė, nei blužnies audinyje. Dar mažesnė koncentracija ($7,53 \pm 0,16 \mu\text{g/g}$) nustatyta inkstų audiniuose. Pelių griaučių raumenų audiniuose nustatyta mažiausia noribogaino koncentracija – $2,63 \pm 0,17 \mu\text{g/g}$.

Skirtingai nei noribogaino, ibogaino didelė koncentracija ($9,33 \pm 0,11 \mu\text{g/g}$), artima koncentracijai blužnies audiniuose, nustatyta laboratorinių pelių inkstų audiniuose. Širdies audiniuose ibogaino, kaip ir noribogaino, koncentracija ($6,13 \pm 0,15 \mu\text{g/g}$) yra du kartus mažesnė, lyginant su koncentracija blužnyje. Mažiausia šios tiriamos medžiagos koncentracija ($1,3 \pm 0,10 \mu\text{g/g}$), kaip ir noribogaino, nustatyta pelių griaučių raumenų audiniuose. Nedidelės ibogaino ir noribogaino koncentracijos pelių kepenų audiniuose ($3,25 \pm 0,30 \mu\text{g/g}$ noribogaino ir $4,03 \pm 0,51 \mu\text{g/g}$ ibogaino) leidžia daryti prielaidą, kad šios medžiagos greitai suyra, be to kepenyse yra didelis kraujo pratekamumas (perfuzija), todėl medžiagos nelinkusios kauptis šiame organe.

Apskaičiuotas reikšmingumo lygmuo (p) tarp koncentracijų laboratorinių pelių organuose ibogaino grupėje yra mažiau nei 0,05, noribogaino grupėje – mažiau nei 0,03. Ibogaino ir noribogaino koncentracijų laboratorinių pelių organuose praėjus 24 val. po vienkartinių dozių instiliavimo tyrimas atliktas naudojant skirtingas medžiagų koncentracijas, todėl nustatytų koncentracijų statistinio patikimumo tarp šių grupių nevertinome.

Medžiagos po absorbcijos pirmiausia patenka į kepenis, kur vyksta medžiagų biotransformacija ir organizmui žalingų medžiagų detoksikacija (1.3.2.1 pav.). Tyrimo metu tikėjomės kepenyse nustatyti dideles tiriamųjų medžiagų koncentracijas. Gauti rezultatai rodo, kad ibogaino koncentracija šiame organe, lyginant su kitais tirtais organais, yra nedidelė ($4,03 \pm 0,51 \mu\text{g/g}$). Tokių rezultatų priežastis – ibogainas biotransformuojamas kepenyse veikiant citochromo P450 fermentų sistemai [Mash ir kt., 1995; Obach ir kt., 1998] į metabolitą ir, tikėtina, neturi savybės kauptis (išlikti ilgesnį laiką) šiame organe.

Kepenyse išvalytas kraujas iš apatinės tuščiosios venos (lot. v. *cava inferior*) patekęs į širdį, didžiojo kraujo apytakos ratu patenka į kitus vidaus organus – smegenis, inkstus ir kt. Lyginant mūsų tyrimo metu nustatytas ibogaino ir noribogaino koncentracijas pelių organuose, galime daryti prielaidą, kad noribogainas lengviau praeina smegenų hematoencefalinį barjerą nei ibogainas, nors literatūros duomenimis hematoencefalinį barjerą lengviau praeina lipofilinių savybių tyrintys junginiai [Tozer ir kt., 2006]. Mūsų

rezultatai gauti praėjus 24 val. po medžiagų instiliavimo į laboratorinių pelių organizmą, todėl mažesnė ibogaino koncentracija pelių smegenų audiniuose, lyginant su noribogainu, gali reikšti greitesnę lipofilinių medžiagų eliminavimą iš CNS arba ibogaino metabolizmą smegenyse.

Mūsų tyrimo rezultatai rodo, kad instiliavus tiriamąsias medžiagas į laboratorinių pelių skrandžius didžiausios abiejų medžiagų koncentracijos ($28,56 \pm 0,5 \mu\text{g/g}$ noribogaino ir $12,91 \pm 0,37 \mu\text{g/g}$ ibogaino), praėjus 24 val. po vienkartinės dozės, susidaro pelių blužnies audiniuose, o mažiausios ($2,63 \pm 0,17 \mu\text{g/g}$ noribogaino ir $1,3 \pm 0,10 \mu\text{g/g}$ ibogaino) – griaučių skersaruožių raumenų audiniuose. Tokius rezultatus gali įtakoti gera blužnies perfuzija, nes blužnis filtruoja ir išvalo kraują. Be to, šis organas yra kraujo elementų talpykla, nepriklausanti nuo žarnyno kraujotakos. Gera širdies ir inkstų perfuzija įtakoja ir dideles ibogaino ir noribogaino koncentracijas šių organų audiniuose. Griaučių raumuo, kuriame nustatytos mažiausios koncentracijos, linkęs pasisavinti tik jam reikalingas, atėjusias su krauju, medžiagas. Be to, raumenys ramybės būsenoje medžiagos gali ir nekaupti.

3.3.2. Ibogaino biotransformacijos metu susidariusio metabolito koncentracijos pelių organuose nustatymas, praėjus 24 val. po vienkartinės ibogaino dozės instiliavimo į laboratorinių pelių skrandį

Atlikus ibogaino koncentracijų laboratorinių pelių organuose tyrimą nustatėme ir po vienkartinės šios medžiagos dozės organizme susidariusio ibogaino metabolito – noribogaino (toliau darbe tai bus minima kaip *metabolitas N₁*) – koncentraciją pelių organuose. Tai patvirtino mokslininkų teiginį, kad ibogainas organizme biotransformuojasi į metabolitą noribogainą [Mach ir kt., 1995; Staley ir kt., 1996; Zubaran ir kt., 1999]. Metabolito N₁, susidariusio laboratorinių pelių organizme praėjus 24 val. po ibogaino instiliavimo, koncentracijų aprašomoji statistika pateikiama 3.3.2.1 lentelėje. Apskaičiuotas reikšmingumo lygmuo tarp metabolito N₁ koncentracijų laboratorinių pelių organuose yra mažiau nei 0,03.

Šios lentelės pateiktais duomenimis, praėjus 24 val. po ibogaino instiliavimo didžiausia ($3,41 \pm 0,05 \mu\text{g/g}$) biotransformacijos metu susidariusio metabolito N₁ koncentracija, kaip ir ibogaino, nustatyta pelių blužnies audiniuose. Skirtingai nuo pirminės medžiagos, didelė ($2,61 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$) metabolito N₁ koncentracija nustatyta ir pelių širdies audiniuose, o skersaruožių griaučių raumenų audiniuose jo nustatyta koncentracija netgi didesnė, nei ibogaino (metabolito N₁ $1,33 \pm 0,04 \mu\text{g/g}$, ibogaino $1,3 \pm 0,10 \mu\text{g/g}$). Didesnės metabolito N₁ koncentracijas blužnies ir širdies audiniuose gali lemti didžiausia šių organų perfuzija arba ilgas šios medžiagos cirkuliavimo laikas

3.3.2.1 lentelė. Metabolito N₁ koncentracijų (µg/g) pelių organuose praėjus 24 val. po vienkartinės ibogaino (131 mg/kg) dozės aprašomoji statistika (n=6)

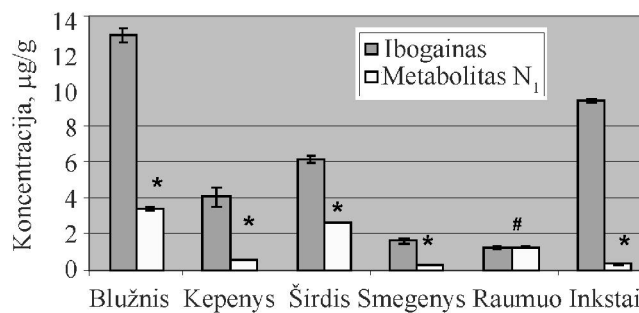
Organai	Vidurkis ± SN	Mediana	Mažiausia reikšmė	Didžiausia reikšmė
Širdis	2,61±0,03	2,61	2,56	2,64
Blužnis	3,41±0,05	3,41	3,36	3,51
Kepenys	0,61±0,03	0,61	0,58	0,64
Inkstai	0,42±0,04	0,43	0,37	0,47
Smegenys	0,34±0,03	0,34	0,29	0,37
Griaučių raumuo	1,33±0,04	1,32	1,29	1,38

kraujyje. Be to, didelė metabolito N₁ koncentracija blužnies audiniuose (lyginant su kitais organais) nustatyta ir žmogaus blužnyje [Kontrimavičiūtė ir kt., 2006a].

Kepenų, inkstų ir smegenų audiniuose nustatytos labai panašios metabolito N₁ koncentracijos (atitinkamai 0,61 µg/g, 0,42 µg/g ir 0,34 µg/g), kurios yra daug mažesnės, lyginant su pradine medžiaga – ibogainu. Literatūroje pateikti prieštaringi rezultatai, teigiantys, kad susidariusio metabolito koncentracija didesnė už ibogaino koncentraciją kepenyse [Kontrimavičiūtė ir kt., 2006a; Cheze ir kt., 2008]. Tokie rezultatai gauti atlikus tyrimą su mirusio žmogaus organais, kaip įtariama, apsinuodijusio ibogainu, nors tai nebuvo įrodyta.

Statistiškai palyginome ibogaino ir metabolito N₁ koncentracijas laboratorinių pelių vidaus organuose praėjus 24 val. po vienkartinės ibogaino dozės instiliavimo į skrandį (3.3.2.1 pav.). Nustatyti statistiškai reikšmingi (p<0,05) skirtumai, išskyrus pelių griaučių raumenų audiniuose (p>0,05).

Nustatėme, kad ir ibogaino, ir metabolito N₁ po paros daugiausiai pasiskirsto laboratorinių pelių blužnies ir širdies audiniuose. Ibogaino didelė koncentracija nustatyta inkstų audinyje, o metabolito N₁ – tik pėdsakai. Tokie rezultatai rodo, kad alkaloidas, turintis lipofilinių savybių [Zetler ir kt., 1972; Hough ir kt., 1996], ilgiau šalinasi iš organizmo per inkstus, nei metabolitas N₁, arba turi savybę kauptis laboratorinių pelių inkstų audinyje.



3.3.2.1 pav. *Ibogaino ir metabolito N₁ koncentracijų pelių organuose po vienkartinės (131 mg/kg) ibogaino dozės palyginimas (vidurkis±SN)*
**p<0,05, #p>0,05, (n=6)*

Ibogainas mažina priklausomybę nuo opiatų veikdamas CNS, todėl negalima neatkreipti dėmesio, kad praėjus 24 val. po jo instiliavimo į laboratorinių pelių skrandį smegenyse nustatyta nedidelė ($0,34 \pm 0,03$ µg/g) metabolito N₁ koncentracija. Skirtumas tarp ibogaino ir metabolito N₁ koncentracijų pelių smegenų audiniuose yra statistiškai reikšmingas ($p<0,05$). Tokie rezultatai leidžia sutikti su jau anksčiau literatūroje išreikšta nuomone [Hough ir kt., 1996], kad gydant priklausomybes ibogainu, poveikį praėjus 24 val. turės ne tik ibogainas, bet ir jo metabolitas - noribogainas.

Mūsų tyrimo metu gautus rezultatus palyginome su literatūroje aprašytais ibogaino ir noribogaino pasiskirstymo organuose duomenimis (3.3.2.2 lentelė). Pastebėjome, kad mūsų rezultatai yra artimi Hough publikuotiems duomenims, kuris atliko tyrimą, kaip ibogainas pasiskirsto žiurkių organuose praėjus 1 val. ir 12 val. po 40 mg/kg ibogaino injekcijos į pilvaplėvę ir injekcijos po oda [Hough ir kt., 1996]. Šio tyrimo metu, praėjus 1 val. po injekcijos, didžiausios medžiagos koncentracijos apskaičiuotos žiurkių riebaliniame audinyje, smegenyse, inkstuose ir kepenyse tiek po injekcijos po oda, tiek ir po suleidimo į pilvaplėvę. Praėjus 12 val. po injekcijos ibogaino koncentracijos šiuose organuose yra 10-20 kartų sumažėjusios.

Praėjus 24 val. po geriamojo 5 mg/kg, 50 mg/kg ibogaino ir po 5 mg/kg ibogaino suleidimo į veną didžiausios ibogaino koncentracijos nustatytos žiurkių kepenyse, blužnyje ir inkstuose [Jeffcoat ir kt., 1994]. Tokia tendencija nustatyta ir mūsų tyrimo metu.

Kontrimavičiūtės tyrimo duomenimis [Kontrimavičiūtė ir kt., 2006a], tiriant šių medžiagų pasiskirstymą žmogaus organuose po *T. iboga* augalo pavartojimo, didžiausios ibogaino ir noribogaino (susidariusio ibogaino biotransformacijos metu) koncentracijos nustatytos blužnyje, plaučiuose ir kepenyse (3.3.2.2 lentelė). Tačiau tyrimas atliktas nežinant tikslių duomenų,

t. y. kiek laiko žmogus buvo gyvas po augalo pavartojimo, kiek augalo buvo pavartota, ar ilgai vartota ir ar nebuvo tuo pat metu pavartoti kiti medikamentai, kurie galėtų turėti įtakos tyrimo rezultatams.

Skirtingus tyrimų rezultatus lemia skirtingi tiriamieji subjektai, tiriamos medžiagos dozės ir patekimo į organizmą būdai. Pavyzdžiui, Hough tyrinėjo ibogainą ir jo metabolitą žiurkių organuose, tiriamas medžiagas švirkščiant į pilvo ertmę ir į paodį. Tokiu būdu vartojamos medžiagos iš karto patenka į kraują, aplenkdamos virškinamąjį kanalą (1.3.2.1 pav.). Be to, žiurkės neturi tulžies pūslių, to pasekoje medžiagų apykaitos grandinėje netenkama vieno etapo. Kontrimavičiūtė tyrė žmogaus organus, tačiau nežinoma nei medžiagos dozė, nei patekimo į organizmą būdas. Mūsų tyrime naudotos laboratorinės pelės.

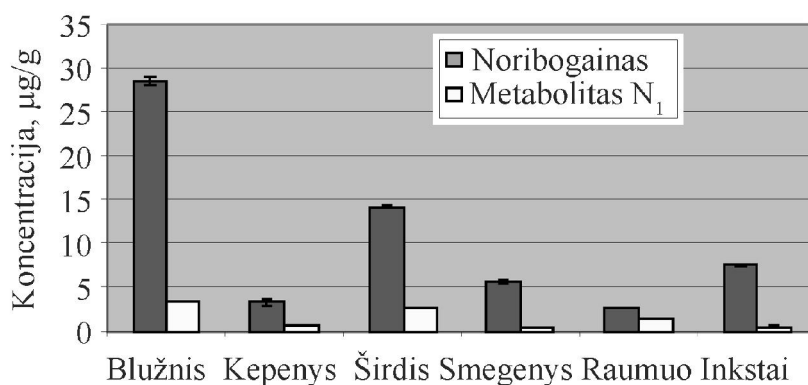
3.3.2.2 lentelė. Ibogaino ir jo biotransformacijos metu susidariusio metabolito pasiskirstymo organuose palyginimas (vidurkis $\pm$ SN)

	Koncentracija									
	Kepenys $\mu\text{g/g}$	Inkstai $\mu\text{g/g}$	Smegenys $\mu\text{g/g}$	Blūžnis $\mu\text{g/g}$	Raumuo $\mu\text{g/g}$	Širdis $\mu\text{g/g}$	Plaučiai $\mu\text{g/g}$	Prostata $\mu\text{g/g}$	Tulžis $\mu\text{g/g}$	Šlapimas $\mu\text{g/ml}$
Ibogainas	40,5 $\pm$ 3,38	7,6 $\pm$ 1,46	12,5 $\pm$ 0,26	19,2 $\pm$ 4,7	7,66 $\pm$ 1,75	NT	50,1 $\pm$ 4,9	0,56 $\pm$ 0,23	21,3 $\pm$ 5,6	83,3 $\pm$ 8,45
Noribogainas [Kontrimavičiūtė ir kt., 2006a]	50,5 $\pm$ 3,63	4,93 $\pm$ 1,42	18,7 $\pm$ 0,47	17,3 $\pm$ 3,33	3,41 $\pm$ 0,41	NT	55,9 $\pm$ 5,24	0,58 $\pm$ 0,1	11,2 $\pm$ 1,7	21,5 $\pm$ 3,42
Ibogainas	1,7	1,6	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	7,1
Noribogainas [Cheze ir kt., 2008]	6,2	4,1	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	51,1
Ibogainas	4,03 $\pm$ 0,51	9,33 $\pm$ 0,11	1,67 $\pm$ 0,17	12,91 $\pm$ 0,37	1,3 $\pm$ 0,10	6,13 $\pm$ 0,15	NT	NT	NT	NT
Noribogainas [Mūsų tyrimo metu]	0,61 $\pm$ 0,03	0,42 $\pm$ 0,04	0,34 $\pm$ 0,03	3,41 $\pm$ 0,05	1,33 $\pm$ 0,04	2,61 $\pm$ 0,03	NT	NT	NT	NT

Pastaba: NT – nenustatyta.

3.3.3. Noribogaino ir metabolito N₁ koncentracijų po 24 val. laboratorinių pelių organuose palyginimas

Manoma, kad noribogainas yra mažiau toksiškas ir sukelia mažiau šalutinių reiškinių nei ibogainas. Tyrimo metu palyginome sintetinio noribogaino ir metabolito N₁ koncentracijų pelių organuose pasiskirstymo tendencijas. Palyginimas pavaizduotas 3.3.3.1 paveiksle. Praėjus 24 val. po vienkartinį ibogaino ir noribogaino dozių, didžiausios noribogaino ir metabolito N₁ koncentracijos nustatytos laboratorinių pelių blužnies ir širdies audiniuose. Skirtumas – noribogaino koncentracija širdies audiniuose yra du kartus mažesnė, lyginant su koncentracija blužnies audiniuose, o metabolito N₁ koncentracija pelių širdies audiniuose nustatyta 1,3 karto mažesnė, lyginant su koncentracija blužnyje. Mažiausios noribogaino koncentracijos nustatytos pelių griaučių raumenų ($2,63 \pm 0,17 \mu\text{g/g}$) ir kepenų ($3,25 \pm 0,30 \mu\text{g/g}$) audiniuose. Metabolito N₁ mažiausios koncentracijos nustatytos laboratorinių pelių smegenų ($0,34 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$) ir inkstų ($0,42 \pm 0,04 \mu\text{g/g}$) audiniuose. Gauti rezultatai rodo, kad sintetinis noribogainas lengviau pereina hematoencefalinį barjerą ir/arba ilgiau eliminuojamas iš smegenų, bei yra lėčiau išskiriamas per inkstus.



3.3.3.1 pav. Noribogaino ir metabolito N₁ koncentracijų pelių organuose palyginimas po vienkartinės noribogaino ir ibogaino dozės (vidurkis $\pm$ SN) ($n=6$)

3.3.4. Rezultatų apibendrinimas

Apibendrinami ibogaino ir noribogaino koncentracijų pelių organuose, praėjus 24 val. po vienkartinį šių medžiagų dozių instiliavimo į laboratorinių pelių skrandžius, rezultatus (3.3.4.1 pav.), galime teigti, kad:

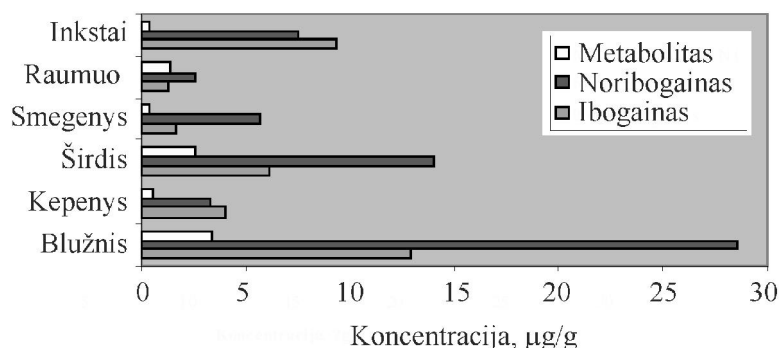
1) praėjus 24 val. po vienkartinių ibogaino ir noribogaino dozių, didžiausios tiriamųjų medžiagų koncentracijos nustatytos laboratorinių pelių blužnies audiniuose, kur yra didžiausias kraujo rezervuaras. Tokie rezultatai leidžia manyti, kad tiek noribogainas, tiek ibogainas (ir jo biotransformacijos metu organizme susidaręs metabolitas N_1) gali kauptis blužnies audinyje;

2) didelės tiriamųjų medžiagų koncentracijos, praėjus 24 val. po vienkartinių dozių, nustatytos pelių širdies audinyje. Tokius rezultatus gali lemti gera širdies perfuzija. Platus medžiagų pasiskirstymas šiame organe gali daryti poveikį širdies ir kraujagyslių sistemai, nes literatūroje radome duomenų apie ibogaino toksinį poveikį šiai sistemai [Hoelen ir kt., 2009; Kovar ir kt., 2011]. Didelės metabolito N_1 ir noribogaino koncentracijos laboratorinių pelių širdies audinyje leidžia daryti prielaidą, kad ibogaino toksinį poveikį širdies ir kraujagyslių sistemai gali lemti metabolitas;

3) nustatytos didelės ibogaino ir noribogaino koncentracijos laboratorinių pelių inkstų audinyje kelia hipotezę, kad ilgalaikis šių medžiagų vartojimas gali daryti poveikį urogeninei sistemai;

4) atsižvelgdami į nustatytas koncentracijas pelių smegenų audinyje, manome, kad noribogainas, būdamas mažiau lipofiliškas, lyginant su ibogainu [Zetler ir kt., 1972], pasiekia didesnę koncentraciją CNS nei ibogainas ir metabolitas N_1 , todėl galėtų būti veiksmingesnis priklausomybių nuo psichotropinių medikamentų gydymui;

5) nustatytos ibogaino ir noribogaino koncentracijos pelių kepenų audiniuose, praėjus 24 val. po vienkartinių šių medžiagų dozių, rodo, kad per 24 val. ibogainas ir noribogainas nėra pilnai suskaidomi organizme, todėl reikėtų įvertinti jų galimybę veikti hepatotoksiškai.



3.3.4.1 pav. Ibogaino, jo metabolito N_1 ir noribogaino koncentracijų palyginimas po vienkartinių dozių ($n=6$)

3.3.4.1 paveiksle matome, kad daugumoje laboratorinių pelių organų noribogaino koncentracijos didesnės, lyginant su ibogainu. Manoma, kad tam įtakos turi didesnis noribogaino (12-OH ibogaino) molekulės poliškumas, lyginant su ibogaino molekule, todėl šios medžiagos koncentracija tarpląsteliniame skystyje yra didesnė [Staley ir kt., 1996].

Tiriamųjų medžiagų koncentracijų nustatymas pelių organuose, praėjus 24 val. po vienkartinių ibogaino ir noribogaino dozių instiliavimo į laboratorinių pelių skrandžius yra tik preliminarus žvilgsnis, kiek šių medžiagų lieka pelių organuose praėjus parai po vienkartinio jų pavartojimo. Norėdami tiksliau įvertinti ibogaino, jo biotransformacijos metu organizme susidariusio metabolito N_1 ir sintetinio noribogaino pasiskirstymą ir eliminaciją iš organų atlikome farmakokinetinį tyrimą.

3.4. Ibogaino ir noribogaino farmakokinetinių savybių tyrimas

Vaistinių medžiagų veikimo stiprumas priklauso nuo jų koncentracijos, kuri nuolatos kinta, nes medžiagos tam tikru greičiu patenka į organizmą, biotransformuojasi ir išsiskiria per inkstus, su žarnyno turiniu ar kitais būdais. Norint atlikti ikiklinikinius tyrimus su gyvūnais, visada tiriami farmakokinetiniai parametrai – pasiskirstymo tūris (Vd), didžiausioji koncentracija (C_{max}), pusinės eliminacijos laikas ($t_{1/2}$), sisteminė ekspozicija (AUC) ir kt.

Literatūros duomenimis, silpnam poveikiui pajusti užtenka pavartoti 5 mg/kg gryno ibogaino, o priklausomybių atveju – 30 mg/kg mišiniuose su kitomis medžiagomis. Geriamojo 25 mg/kg ibogaino vartojimas yra saugus, nesukeliantis nei elgesio sutrikimų, nei neurotoksiškumo [Mash ir kt., 1998]. Todėl mes farmakokinetiniam tyrimui pasirinkome šiai koncentracijai artimas ibogaino ir noribogaino koncentracijas, t. y. 26,3 mg/kg ibogaino (tai sudaro 0,1 LD_{50} dozės) ir 31,5 mg/kg noribogaino (tai sudaro 0,05 LD_{50} dozės).

3.4.1. Ibogaino ir noribogaino farmakokinetinių parametrų pelių kraujo plazmoje nustatymas

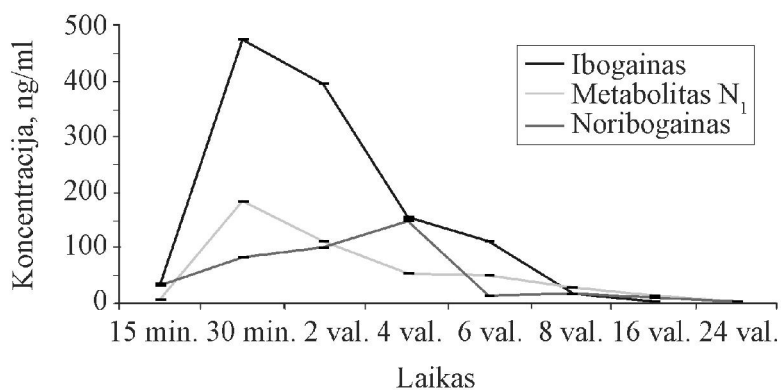
Mūsų tyrimo metu nustatyti farmakokinetiniai parametrai laboratorinių pelių kraujo plazmoje po vienkartinės ibogaino (26,3 mg/kg į skrandį) ir noribogaino (31,5 mg/kg į skrandį) dozės pateikti 3.4.1 lentelėje.

3.4.1 lentelė. Ibogaino, metabolito N₁ ir noribogaino farmakokinetiniai parametrai pelių kraujo plazmoje (vidurkis ± SN)(n=3)

Farmakokinetiniai parametrai	Ibogainas	Metabolitas N ₁	Noribogainas
t _{max} (val.)	0,5	0,5	4
C _{max} (ng/mg)	475±0,05	185±0,02	150±0,02
AUClast (ng × val./mg)	1753,31±1,37	823,44±1,06	730,22±0,91
AUCtot (ng × val./mg)	1759,38±1,39	841,59±1,21	753,88±1,02
t _{1/2} (val.)	1,95±0,11	4,42±0,09	6,14±0,21
Vd (ml/mg)	0,04±0,001	0,20±0,01	0,37±0,05
CL (ml/val./mg)	0,015±0,00	0,03±0,001	0,04±0,001
k _e (val. ⁻¹)	0,4±0,01	0,16±0,01	0,11±0,02

3.4.1.1. Ibogaino, noribogaino ir metabolito N₁ absorbcija pelių kraujo plazmoje

3.4.1.1.1 paveikslas iliustruoja ibogaino, noribogaino ir metabolito N₁ koncentracijos kitimą laboratorinių pelių kraujo plazmoje 24 valandų laikotarpiu po vienkartinę medžiagų dozių instiliavimo į skrandį.



3.4.1.1.1 pav. Ibogaino (26,3mg/kg), jo metabolito N₁ ir noribogaino (31,5mg/kg) koncentracijos kitimas pelių kraujo plazmoje 24 val. laikotarpiu

Pastaba: grafike nurodomi koncentracijų vidurkiai (n=3). Dėl mažų skaitinių reikšmių standartiniai nuokrypiai grafike nematomi

Tyrimo duomenimis, didžiausioji ibogaino koncentracija ($C_{\max}$) pelių kraujo plazmoje nustatyta praėjus 30 min. ($t_{\max}$) po medžiagos instiliavimo ir yra $475 \pm 0,05$ ng/ml. Vėliau koncentracija po truputį mažėja ir po 24 val. ibogaino pelių kraujo plazmoje nebenustatoma. Apskaičiuota ibogaino bendra sisteminė ekspozicija (AUC_{tot}) lygi $1759,38 \pm 1,39$ ng $\times$ val/mg. Ibogainas organizme biotransformuojasi į metabolitą N_1 , todėl nustatant ibogaino koncentracijos kitimą pelių kraujo plazmoje paros laikotarpiu, nustatėme ir metabolito N_1 koncentracijos kitimą bei koreliaciją su ibogaino koncentracija. Gauti rezultatai rodo, kad tiek ibogainas, tiek ir metabolitas N_1 pelių kraujo plazmoje nustatomi jau praėjus 15 min. po ibogaino instiliavimo į laboratorinių pelių skrandį. Metabolito N_1 (kaip ir pirminės medžiagos) didžiausioji koncentracija ($185 \pm 0,02$ ng/ml) nustatoma praėjus 30 min. ($t_{\max}$) po ibogaino instiliavimo. Tačiau AUC_{tot} yra maždaug du kartus mažesnis – $841,59 \pm 1,21$ ng $\times$ val/mg.

Mokslinėje literatūroje radome prieštarų duomenų apie ibogaino ir jo biotransformacijos metu organizme susidariusio metabolito – noribogaino - farmakokinetiką. Atliekant tyrimus su žiurkėmis nustatyta, kad sušvirkštus ibogainą į žiurkių pilvaplėvę metabolito koncentracija yra didesnė, nei jo pirmtako tiek kraujyje [Mash ir kt., 2001], tiek ir kraujo plazmoje [Zubaran ir kt., 1999]. Praėjus 12 val. po 20 mg/kg geriamojo ibogaino didesnė biotransformacijos metu organizme susidariusio metabolito noribogaino koncentracija nustatyta ir žmogaus kraujyje [Cheze ir kt., 2008]. Manome, kad tyrimo rezultatus įtakoja tiriamųjų objektų rūšis ir medžiagos patekimo į organizmą būdas. Mokslinėje literatūroje yra ir mūsų tyrimo rezultatus atitinkantys duomenys, teigiantys, kad žiurkių kraujo plazmoje ibogainas didžiausią koncentraciją pasiekia praėjus 31–35 min. po injekcijos į veną [Hough ir kt., 2000], o žmogaus kraujo plazmoje ibogaino koncentracija didesnė nei metabolito [Mash ir kt., 2003].

Tyrimo metu nustatėme, kad ibogaino biotransformacijos metu organizme susidariusio metabolito N_1 koncentracija laboratorinių pelių kraujo plazmoje yra didesnė nei sintetinio noribogaino. Todėl noribogaino AUC_{tot} yra mažesnis ($753,88 \pm 1,02$ ng $\times$ val/mg), lyginant su metabolito N_1 ($841,59$ ng $\times$ val/mg). Tokie rezultatai rodo, kad noribogainas, būdamas mažai tirpus riebaluose [Zetler ir kt., 1972], lėčiau absorbuojasi iš žarnyno, mažiau patenka į sisteminę kraujotaką ir trumpiau išlieka, nei ibogainas. Lipofilinių savybių turintis ibogainas [Zetler ir kt., 1972; Hough ir kt., 1996] greičiau praeina pro žarnyno biologinių membranų sudarytą barjerą ir jo biotransformacijos metu susidaręs metabolitas kraujo plazmoje pasiekia didesnę $C_{\max}$ per trumpesnę laiką. Vadinasi, po ibogaino įvedimo organizme susidariusio noribogaino (metabolito N_1) į sisteminę kraujotaką patenka daugiau ir greičiau, nei pavartojus jau susintetintą noribogainą. Šie rezultatai

yra labai svarbūs, norint palyginti ibogaino biotransformacijos metu organizme susidariusio noribogaino ir sintetinio noribogaino efektyvumą mažinant priklausomybes nuo psichotropinių medžiagų, instiliuojant medžiagas į skrandį.

Palyginę susidariusias didžiausias ibogaino ir jo metabolito N_1 koncentracijas nustatėme, kad metabolito N_1 santykis su pirmine medžiaga yra 0,39. Tokie skaičiavimai rodo, kad mažiau nei pusė ibogaino dalies skyla į metabolitą, kai ibogainas instiliuojamas tiesiai į pelių skrandį. Lyginant su kitų mokslininkų atliktais tyrimais, kurių metu nustatyta, kad ibogaino biotransformacijos metu susidariusio metabolito santykis su ibogainu po injekcijos į veną yra 0,07, o po sušvirkštimo į pilvaplėvę – 1,88 [Baumann ir kt., 2001], galime teigti, kad metabolito N_1 laboratorinių pelių organizme po instiliavimo į skrandį susidaro daugiau, nei po injekcijos į veną, bet daug mažiau, nei po injekcijos į pilvaplėvę. Biotransformacijos metu susidaręs metabolitas N_1 pelių kraujo plazmoje išlieka ilgiau nei jo pirmtakas. Praėjus 8 val. po ibogaino instiliavimo metabolito N_1 koncentracija kraujo plazmoje nustatyta 1,4 karto didesnė, nei ibogaino. Po 24 val. jo nustatyta koncentracija yra $2,5 \pm 0,01$ ng/ml, o pirminio alkaloido jau nebenustatoma. Tokia pati tendencija matoma ir atlikus tyrimus su žiurkėmis [Baumann ir kt., 2001] bei nustačius šių medžiagų koncentracijas žmonių kraujyje [Mash ir kt., 1998].

Vis dėlto metabolito cirkuliavimo laikas kraujyje priklauso nuo ibogaino patekimo į organizmą būdo. Sušvirkštus ibogainą į veną metabolito po paros kraujyje nenustatoma, nes tam įtakos turi prasiskverbimo pro kepenis metabolizmo išvengimas [Baumann ir kt., 2001].

Tiriant noribogaino koncentracijos kitimą pelių kraujo plazmoje paros laikotarpiu, didelė jo koncentracija kraujo plazmoje nustatyta praėjus 15 min. po instiliavimo. Didžiausia koncentracija nustatyta 4 val. po medžiagos instiliavimo. Noribogaino absorbcijos greitis yra ilgesnis (hidrofiliškesnės medžiagos sunkiau praeina pro žarnyno biologinių membranų sudarytą barjerą), todėl nustatyta C_{max} , lyginant su kitomis tiriamosiomis medžiagomis, yra mažiausia – $150 \pm 0,02$ ng/ml. Vėliau ši koncentracija poros valandų laikotarpiu greitai sumažėja, o likęs medžiagos kiekis mažėja labai lėtai – praėjus 24 val. jo vis dar nustatoma $2,5 \pm 0,01$ ng/ml.

Palyginę mūsų tyrimo rezultatus su literatūros duomenimis, galime teigti, kad didžiausią koncentraciją ibogaino biotransformacijos metu organizme susidaręs noribogainas po ibogaino instiliavimo į skrandį pasiekia greičiau (t_{max} 30 min.), nei suleidus į pilvo ertmę (2,4 val.) ar į veną (2,2 val.) [Baumann ir kt., 2001].

3.4.1.2. Ibogaino, noribogaino ir metabolito N₁ pasiskirstymas pelių kraujo plazmoje

Lipofilinių medžiagų pasiskirstymo tūris (V_d) yra didesnis, nei hidrofiliinių medžiagų. Nustatant ibogaino, noribogaino ir metabolito N₁ koncentracijas pelių organuose po vienkartinį ibogaino ir noribogaino dozių (3.3 skyriuje), pastebėjome tendenciją, kad metabolitas N₁ ir sintetinis noribogainas pasiskirsto plačiau. Atlikus farmakokinetinį tyrimą nustatyta, kad ibogaino V_d laboratorinių pelių kraujo plazmoje yra $0,04 \pm 0,001$ ml/mg, o noribogaino, kuris yra mažai tirpus riebaluose [Zetler ir kt., 1972], apskaičiuotas V_d yra beveik 10 kartų didesnis, t. y. $0,37 \pm 0,05$ ml/mg (3.4.1 lentelė). Lyginant ibogaino ir jo biotransformacijos metu organizme susidariusio metabolito N₁ pasiskirstymą nustatyta, kad metabolito N₁ pasiskirstymo tūris yra didesnis – jo apskaičiuota reikšmė lygi $0,20 \pm 0,01$ ml/mg. Manome, kad tokius tyrimo rezultatus lemia mūsų pasirinktas nekamerinis (ang. *non-compartment*) farmakokinetinių parametrų skaičiavimo modelis. Ibogaino ir noribogaino farmakokinetika yra sudėtinga. Todėl ateityje būtų tikslinga pratęsti tyrimą vienkameriniu (ang. *one-compartment*), dvikameriniu (ang. *two-compartment*) ar trikameriniu (ang. *three-compartment*) modeliu.

3.4.1.3. Ibogaino, noribogaino ir metabolito N₁ eliminacija iš pelių kraujo plazmos

Nustatyti tiriamų medžiagų farmakokinetiniai parametrai pelių kraujo plazmoje rodo, kad ibogaino didžiausioji koncentracija ir AUC_{tot} yra didesni, nei metabolito N₁ ir sintetinio noribogaino, tačiau pusinės eliminacijos laikas yra $1,95 \pm 0,11$ val., t. y. daugiau nei du kartus trumpesnis, nei metabolito N₁ ($t_{1/2}$ $4,42 \pm 0,09$ val.) ir net tris kartus trumpesnis, nei noribogaino ($6,14 \pm 0,21$ val.) (3.4.1 lentelė). Atitinkamai ibogaino eliminacijos konstanta ($0,4 \pm 0,01$ val.⁻¹) yra 2,5 karto didesnė nei metabolito N₁ ($0,16 \pm 0,01$ val.⁻¹), ir daugiau nei tris kartus didesnė nei noribogaino ($0,11 \pm 0,02$ val.⁻¹). Tokie rezultatai rodo, kad ibogaino biotransformacijos metu organizme susidaręs metabolitas N₁ beveik du kartus ilgiau šalinamas iš laboratorinių pelių organizmo nei pats ibogainas, bet 1,5 karto greičiau nei sintetinis noribogainas. Todėl galime teigti, kad noribogaino veikimo trukmė yra ilgesnė nei ibogaino. Mūsų tyrimo metu gauti rezultatai leidžia patvirtinti ankstesnius kitų mokslininkų spėjimus, kad ilgalaikį ibogaino poveikį lemia jo metabolitas – noribogainas [Mash ir kt., 2000].

3.4.2 lentelė. *Ibogaino, metabolito N₁ ir noribogaino farmakokinetiniai parametrai pelių vidaus organuose (vidurkis ± SN)(n=3)*

Ibogainas	Blužnis	Kepenys	Širdis	Inkstai	Smegenys	Raumuo
t _{max} , (val.)	4	0,5	0,25	2,0	4,0	4,0
C _{max} (ng/mg)	4,88 ± 0,11	2,04 ± 0,11	1,47 ± 0,08	1,25 ± 0,09	0,3 ± 0,02	0,39 ± 0,07
AUClast (ng × val./mg)	85,74 ± 3,82	9,36 ± 0,21	25,21 ± 0,57	35,57 ± 1,96	2,53 ± 0,19	2,24 ± 0,16
AUCtot (ng × val./mg)	134,54 ± 34,49	10,16 ± 0,64	38,85 ± 5,67	40,37 ± 2,07	3,55 ± 0,31	2,75 ± 0,40

Metabolitas N₁	Blužnis	Kepenys	Širdis	Inkstai	Smegenys	Raumuo
t _{max} , (val.)	4	0,5	4	2	0,5	2
C _{max} (ng/mg)	15,49 ± 0,08	12,05 ± 0,10	0,60 ± 0,08	7,32 ± 0,12	1,95 ± 0,14	1,71 ± 0,09
AUClast (ng × val./mg)	96,98 ± 0,10	35,48 ± 0,09	7,07 ± 0,30	40,21 ± 0,57	9,41 ± 0,28	9,06 ± 0,53
AUCtot (ng × val./mg)	97,23 ± 0,16	35,55 ± 0,08	9,57 ± 1,34	40,33 ± 0,53	9,48 ± 0,29	9,28 ± 0,54

Noribogainas	Blužnis	Kepenys	Širdis	Inkstai	Smegenys	Raumuo
t _{max} , (val.)	0,5	2	4	0,5	2,0	2,0
C _{max} (ng/mg)	2,23 ± 0,10	15,55 ± 0,09	0,91 ± 0,04	6,04 ± 0,10	4,92 ± 0,11	3,05 ± 0,11
AUClast (ng × val./mg)	14,65 ± 0,38	97,52 ± 1,37	20,40 ± 0,68	28,08 ± 0,81	24,10 ± 0,54	13,62 ± 0,21
AUCtot (ng × val./mg)	15,29 ± 0,57	97,92 ± 1,44	26,03 ± 1,92	30,26 ± 0,54	24,27 ± 0,58	14,05 ± 0,41

3.4.2. Ibogaino ir noribogaino farmakokinetinių parametru tyrimas laboratorinių pelių organuose

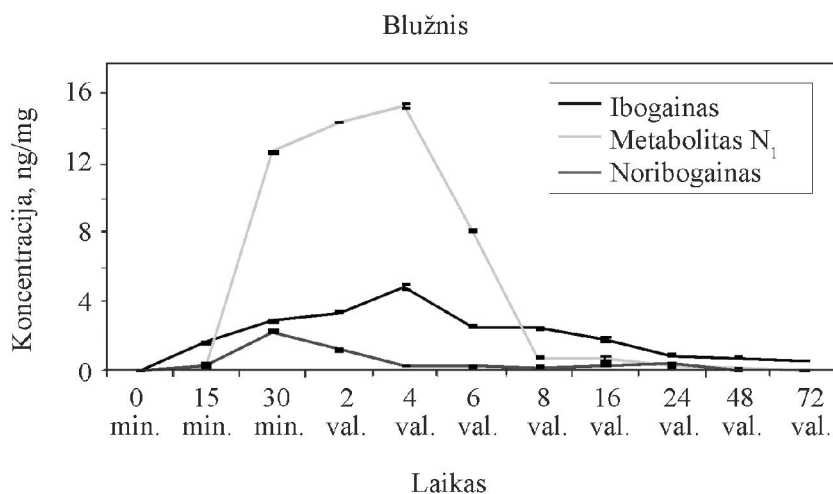
Cheminei medžiagai patekus į kraują, ji greitai pasiskirsto visame organizme. Pasiskirstymo organuose greitis priklauso nuo kraujo pratekavimo pro organą (perfuzijos), medžiagos fizikocheminių savybių (lipofiliškumo, hidrofilumo), biologinių membranų ypatybių, medžiagos rezorbcijos ir eliminacijos greičio.

3.4.2 lentelėje pateikti mūsų tyrimo metu nustatyti farmakokinetiniai parametrai laboratorinių pelių organuose po vienkartinės ibogaino (26,3 mg/kg į skrandį) ir noribogaino (31,5 mg/kg į skrandį) dozės.

3.4.2.1. Farmakokinetiniai parametrai pelių blužnyje

Analizuojant ibogaino farmakokinetinius parametrus laboratorinių pelių organuose, didžiausia šios medžiagos koncentracija ($C_{\max}$ $4,88 \pm 0,11$ ng/mg) nustatyta pelių blužnies audiniuose praėjus 4 val. po instiliavimo į skrandį (3.4.2 lentelė).

Didžiausia koncentracija laboratorinių pelių blužnies audiniuose nustatyta ir metabolito N_1 ($15,49 \pm 0,08$ ng/mg) praėjus 4 val. po ibogaino instiliavimo. Ši koncentracija daugiau nei tris kartus didesnė nei paties ibogaino (3.4.2.1.1 pav.). Nepaisant didesnės $C_{\max}$, metabolito N_1 AUC_{tot} blužnyje yra 1,4 karto mažesnis, nei pirmatako (3.4.2 lentelė), todėl manome, kad ir eliminacija yra greitesnė.



3.4.2.1.1 pav. Ibogaino (26,3mg/kg), metabolito N_1 ir noribogaino (31,5mg/kg) koncentracijos kitimas pelių blužnies audinyje

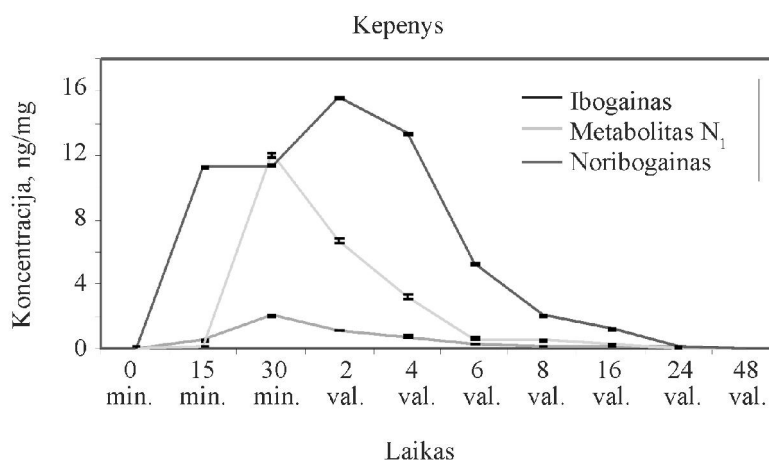
Pastaba: grafike nurodomi koncentracijų vidurkiai ($n=3$) su standartiniais nuokrypiais

Instiliavus į laboratorinių pelių skrandžius noribogainą, jo didžiausia koncentracija ($2,23 \pm 0,10$ ng/mg) pelių blužnies audinyje nustatyta praėjus pusvalandžiui po instiliavimo. Lyginant su ibogainu, noribogaino $C_{\max}$ blužnyje yra 2 kartus mažesnė, o su organizme iš ibogaino susidariusiu metabolitu N_1 – 7 kartus mažesnė, todėl apskaičiuotas AUC_{tot} blužnyje kitų tirtų medžiagų atžvilgiu yra mažiausias.

Literatūros duomenimis, ibogainas yra linkęs kauptis trombocituose [Glick ir Maisonneuve, 1998]. Blužnis yra raudonųjų kraujo ląstelių ir jų forminių elementų kaupykla, joje ardomi trombocitai. Tai gali sąlygoti didesnę ibogaino koncentraciją, lyginant su noribogainu, šiame organe bei didesnę sisteminę ekspoziciją.

3.4.2.2. Farmakokinetiniai parametrai pelių kepenyse

Tiriamai medžiagai patekus į skrandį po absorbcijos per žarnos sieną vartų sistemos kraujas, prieš patekdamas į sisteminę kraujotaką, gabena medžiagas į kepenis (1.3.2.1 pav.). Medžiagos gali būti biotransformuojamos žarnos sienoje (pvz. veikiant CYP3A4 fermentų sistemai) ar net vartų sistemos kraujyje. Bet dažniausiai, dar nepasiekusios sisteminės kraujotakos, cheminės medžiagos biotransformuojamos kepenyse [Katzung, 2007]. Todėl šioje virškinimo liaukoje didžiausios ibogaino ($2,04 \pm 0,11$ ng/mg) ir metabolito N_1 ($12,05 \pm 0,10$ ng/mg) koncentracijos nustatytos praėjus pusvalandžiui po ibogaino instiliavimo (3.4.2.2.1 pav.).



3.4.2.2.1 pav. Ibogaino (26,3 mg/kg), jo metabolito N_1 ir noribogaino (31,5 mg/kg) koncentracijos kitimas pelių kepenų audinyje

Pastaba: grafike nurodomi koncentracijų vidurkiai ($n=3$) su standartiniais nuokrypiais.

Kepenys yra svarbus kraujo rezervuaras (jos gali talpinti iki 20 proc. viso organizmo kraujo), todėl pelių kepenų audinyje nustatytas ibogaino $t_{\max}$ atitinka jo $t_{\max}$ laboratorinių pelių kraujo plazmoje. Tai rodo, kad laboratorinių pelių kepenų audinyje ibogaino didžiausia koncentracija nustatoma tuo pačiu metu, kaip kraujo plazmoje. Kepenyse vykstant ibogaino biotransformacijai koncentracija pradeda mažėti tiek pačiose kepenyse, tiek ir kraujo plazmoje. Susidariusio metabolito N_1 ir jo pirmtako – ibogaino – $C_{\max}$ santykis laboratorinių pelių kepenyse yra 5,91. Tai įrodo, kad didelė ibogaino dalis, pasiekusi kepenis, veikiant citochromo P450 fermentų sistemai biotransformuojasi į metabolitą – noribogainą. Todėl ibogaino bendra sisteminė ekspozicija (AUC_{tot} $10,16 \pm 0,64 \text{ ng} \times \text{val./mg}$) yra tris kartus mažesnė, palyginus su metabolito N_1 AUC_{tot} ($35,55 \pm 0,08 \text{ ng} \times \text{val./mg}$). Šešių valandų laikotarpiu tiek ibogaino, tiek ir jo metabolito N_1 koncentracijos tolygiai mažėja. Tai rodo, kad mažėjant pirminio alkaloido koncentracijai mažėja ir metabolito N_1 susidarymas.

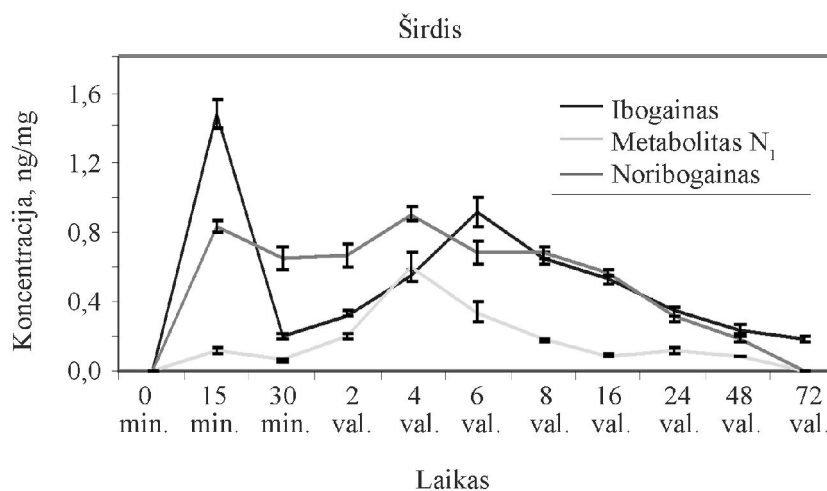
Laboratorinių pelių kepenų audinyje, kurioms į skrandį instiliuotas noribogainas, šios medžiagos $C_{\max}$ ($15,55 \pm 0,09 \text{ ng/mg}$) nustatyta praėjus 2 val. po medžiagos instiliavimo, o nustatytas AUC_{tot} yra $97,92 \pm 1,44 \text{ ng} \times \text{val./mg}$. Didesnį $t_{\max}$ (lyginant su ibogaino $t_{\max}$) gali sąlygoti geresnė lipofilinių medžiagų rezorbcija iš žarnų. Kepenys yra kraujo rezervuaras, tačiau noribogaino $t_{\max}$ pelių kepenyse neatitinka $t_{\max}$ pelių kraujo plazmoje – net praėjus pro kepenis, kraujo plazmoje noribogaino koncentracija dar didėja. Tokie rezultatai rodo, kad laboratorinių pelių kepenyse noribogainas nėra toliau skaidomas į kitus metabolitus. Pasiekus $C_{\max}$, toliau vyksta medžiagų detoksikacija kepenyse ir noribogaino koncentracija mažėja. Praėjus 24 val. po instiliavimo dar nustatoma nedidelė ($0,07 \pm 0,01 \text{ ng/mg}$) noribogaino koncentracija.

Vertinant tiriamų medžiagų bendrą sisteminę ekspoziciją kepenyse, noribogaino AUC_{tot} yra 9,6 karto didesnis, nei ibogaino, ir 2,8 karto, nei ibogaino biotransformacijos metu organizme susidariusio metabolito N_1 . Tokie rezultatai rodo, kad ibogaino eliminacija iš laboratorinių pelių kepenų audinio vyksta greičiausiai.

Iš kepenų ląstelių nepakitusios medžiagos ir jų metabolitai pasišalina su tulžimi arba pro centrinę veną patenka į sisteminę kraujotaką (1.3.2.1 pav.). Su tulžimi aktyviai išsiskiria polinės medžiagos ir medžiagos, kurių molekulinė masė didesnė kaip 400. Literatūroje pateikiami duomenys, kad tiek ibogainas, tiek ir noribogainas yra išskyriami į tulžį [Kontimavičiūtė ir kt., 2006a], todėl dalis šių medžiagų iš organizmo gali pasišalinti šiuo keliu.

3.4.2.3. Farmakokinetiniai parametrai pelių širdyje

Medžiagos, patekusios į sisteminę kraujotaką, pasiekia širdį. Tiriant, kaip kinta ibogaino ir noribogaino koncentracijos laboratorinių pelių širdies audinyje paros laikotarpiu, praėjus 15 min. po tiriamųjų medžiagų instiliavimo nustatytas staigus koncentracijų padidėjimas. Šis padidėjimas yra trumpalaikis – jis greitai sumažėja ir toliau stebimas jau tolygus koncentracijų didėjimas (3.4.2.3.1 pav.). Manome, kad tokį neadekvatų poveikį galėjo sukelti gyvūno stresas tyrimo pradžioje, to pasekoje pagreitėjo širdies ritmas ir į širdį plūstelėjo daugiau kraujo. Tai galėjo iškreipti mūsų skaičiuojamus farmakokinetinius parametrus. Todėl vertinti tiriamų medžiagų farmakokinetiką širdyje 3.4.2 lentelėje pateiktais duomenimis negalime. Mūsų nuomone, ibogainas didžiausią koncentraciją pasiekia 6 val. po instiliavimo ir ji lygi $0,92 \pm 0,08$ ng/mg.



3.4.2.3.1 pav. *Ibogaino (26,3 mg/kg), jo metabolito N₁ ir noribogaino (31,5 mg/kg) koncentracijos kitimas pelių širdies audinyje*

Pastaba: grafike nurodomi koncentracijų vidurkiai (n=3) su standartiniais nuokrypiais.

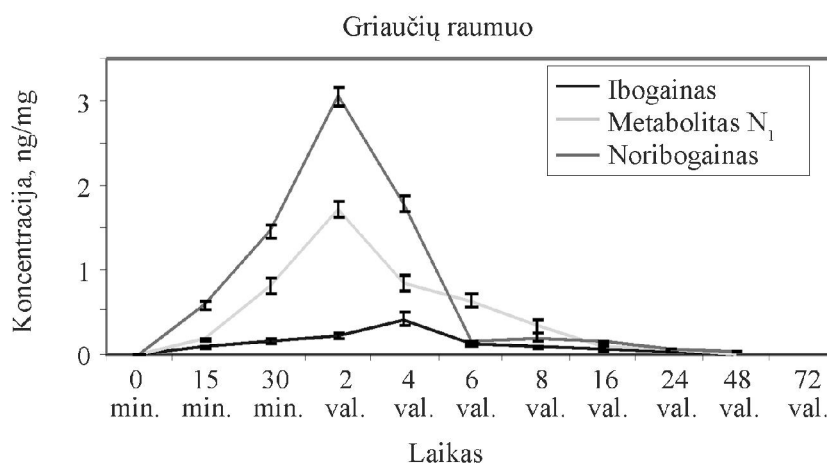
Instiliavus pelėms į skrandį noribogainą, didžiausia koncentracija ($0,91 \pm 0,04$ ng/mg) širdyje nustatoma tuo pačiu metu, kaip ir kraujo plazmoje, t. y. praėjus 4 val. ($t_{\max}$) po instiliavimo. Tiek ibogaino, tiek ir noribogaino, net praėjus 48 val. po vienkartinės dozės sušvirkštimo, laboratorinių pelių širdies audinyje apskaičiuojamos nemažos koncentracijos (atitinkamai $0,35 \pm 0,02$ ng/mg ir $0,31 \pm 0,02$ ng/mg), lyginant su šių medžiagų koncentracijomis kituose tiriamuosiuose pelių organuose. To pasekoje, ir nustatyti tiriamų medžiagų AUC_{tot} širdyje yra pakankamai dideli, lyginant su kitais

tiriamaisiais organais (3.4.2 lentelė). Nustatyta ibogaino bendra sisteminė ekspozicija širdyje ($38,85 \pm 5,67 \text{ ng} \times \text{val./mg}$) 1,5 karto didesnė, nei noribogaino ($26,03 \pm 1,92 \text{ ng} \times \text{val./mg}$) ir 4 kartus didesnė, nei organizme iš ibogaino susidariusio metabolito N_1 ($9,57 \pm 1,34 \text{ ng} \times \text{val./mg}$). AUC_{tot} yra vienas rodmenų, apibūdinančių medžiagos eliminaciją, todėl manome, kad šios medžiagos ilgai šalinasi iš širdies raumens atgal į kraują.

Literatūros duomenimis, ibogainas daro poveikį širdies ir kraujagyslių sistemai (sukelia širdies ritmo sutrikimus, skilvelines tachiaritmijas) [Höllen ir kt., 2009; Kovar ir kt., 2011]. Mūsų tyrimo metu nustatyta didelė ibogaino bendra sisteminė ekspozicija širdyje leidžia sutikti su šiuo teiginiu. Tikėtina, tokį poveikį širdies ir kraujagyslių sistemai gali daryti ir noribogainas, nes nustatytas pakankamai didelis AUC_{tot} ($20,40 \pm 0,68 \text{ ng} \times \text{val./mg}$). Tačiau tokiai hipotezei patvirtinti reikalingi detalesni (tolimesni) tyrimai.

3.4.2.4. Farmakokinetiniai parametrai pelių griaučių skersaruožiuose raumenyse

Medžiagos, patekusios su krauju į širdį, didžiojo kraujo apytakos ratu patenka į visus vidaus organus ir minkštuosius audinius. Nustatant mūsų tiriamųjų medžiagų koncentracijas pelių organuose, praėjus 24 val. po vienkartinės dozės instiliavimo į skrandį, nustatėme šių medžiagų buvimą ir pelių griaučių skersaruožiuose raumenyse. Ištyrėme, kaip keičiasi tiriamų medžiagų koncentracijos 48 val. laikotarpiu (3.4.2.4.1 pav.) ir nustatėme farmakokinetinius parametrus (3.4.2 lentelė).



3.4.2.4.1 pav. Ibogaino ($26,3 \text{ mg/kg}$), jo metabolito N_1 ir noribogaino ($31,5 \text{ mg/kg}$) koncentracijos kitimas pelių griaučių skersaruožių raumenų audinyje

Pastaba: grafike nurodomi koncentracijų vidurkiai ($n=3$) su standartiniais nuokrypiais.

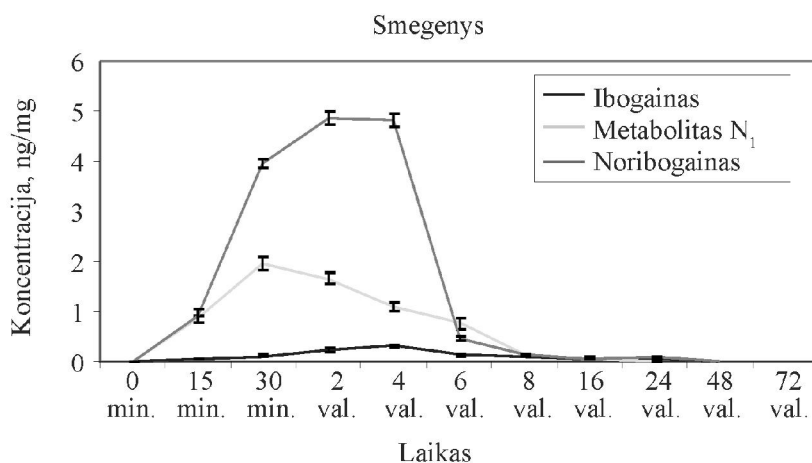
Nustatėme, kad ibogaino koncentracija laboratorinių pelių raumenų audinyje didėja lėtai. Didžiausioji koncentracija nustatyta praėjus 4 val. po ibogaino instiliavimo. Vėliau koncentracija tolygiai ir iš lėto mažėja. Ibogaino biotransformacijos metu susidariusio metabolito N_1 koncentracija didėja greičiau, $C_{\max}$ nustatyta praėjus 2 val. po ibogaino instiliavimo, bet nustatytas ir greitas jo koncentracijos mažėjimas. Apskaičiuota didžiausia metabolito N_1 koncentracija pelių griaučių raumenų audinyje ($1,71 \pm 0,09$ ng/mg) daugiau nei keturis kartus didesnė už ibogaino $C_{\max}$ ($0,39 \pm 0,07$ ng/mg). Manome, kad nustatytai mažesnei koncentracijai įtakos turi ibogaino lipofiliškumas, nes, literatūros duomenimis, lipofilinėmis savybėmis pasižyminčios medžiagos raumenyse pasiekia mažesnes koncentracijas, nei hidrofilinės [Tozer ir kt., 2006].

Metabolito N_1 koncentracija laboratorinių pelių raumenų audinyje keturis kartus didesnė, lyginant su ibogaino koncentracija, o AUC_{tot} – daugiau nei tris kartus didesnis (atitinkamai $9,28 \pm 0,54$ ng $\times$ val./mg ir $2,75 \pm 0,40$ ng $\times$ val./mg). Vadinasi, organizme iš ibogaino susidaręs metabolitas noribogainas (metabolitas N_1) pelių griaučių raumenyse išlieka ilgiau, nei pats ibogainas.

Vertinant noribogaino koncentracijos kitimą laboratorinių pelių griaučių raumenų audinyje, nustatyta, kad didžiausia koncentracija ($3,05 \pm 0,11$ ng/mg), kaip ir metabolito N_1 , nustatoma praėjus 2 val. po noribogaino instiliavimo į pelių skrandį (3.4.2.4.1 pav.). Grafike matomas greitas noribogaino koncentracijos mažėjimas (6 val. po instiliavimo nustatyta $0,13$ ng/mg). Praėjus 48 val. pelių skersaruožių raumenų audiniuose vis dar nustatyti noribogaino pėdsakai. Tokie rezultatai patvirtina literatūroje pateiktus duomenis, teigiančius, kad hidrofilinių medžiagų koncentracijos raumenyse didesnės nei lipofilinių [Tozer ir kt., 2006], todėl eliminacija yra lėtesnė. Nustatyta noribogaino bendra sisteminė ekspozicija ($14,05 \pm 0,41$ ng $\times$ val./mg) yra didžiausia, lyginant su ibogaino ir metabolito N_1 , todėl galime sutikti su teiginiu, kad eliminacija yra ilgiausia.

3.4.2.5. Farmakokinetiniai parametrai pelių smegenyse

Medžiagos, patekusios su krauju į širdį, mažuoju kraujo apytakos ratu patenka į smegenis. 3.4.2.5.1 pav. vaizduoja mūsų tiriamų medžiagų koncentracijų kitimą per laiką laboratorinių pelių smegenų audiniuose. Ibogaino koncentracija didėja lėtai ir $C_{\max}$ ($0,3 \pm 0,02$ ng/mg) nustatoma praėjus 4 val. ($t_{\max}$) po ibogaino instiliavimo, o jo biotransformacijos metu organizme susidariusio metabolito N_1 didžiausia koncentracija ($1,95 \pm 0,14$ ng/mg) – praėjus 30 min.



3.4.2.5.1 pav. *Ibogaino (26,3 mg/kg), jo metabolito N₁ ir noribogaino (31,5 mg/kg) koncentracijos kitimas pelių smegenų audinyje*

Pastaba: grafike nurodomi koncentracijų vidurkiai (n=3) su standartiniais nuokrypiais.

Literatūroje aprašytuose tyrimuose su žiurkėmis pateikti prieštaringi rezultatai. Praėjus 15 min. po geriamojo (50 mg/kg) ibogaino, nustatytos jo koncentracijos smegenų žievėje ir smegenėlėse yra didesnės, lyginant su susidariusio metabolito koncentracijomis. Ibogaino biotransformacijos metu susidariusio metabolito koncentracija po poros valandų padidėja beveik dešimt kartų, tuo tarpu ibogaino sumažėja (smegenų žievėje) arba lieka mažai pakitusi (smegenėlėse) [Staley ir kt., 1996]. Praėjus 30 min. po ibogaino (10 mg/kg) injekcijos į pilvaplvėvę, smegenėlėse taip pat nustatyta daugiau ibogaino nei metabolito [Zubaran ir kt., 1999]. Smegenų žievėje didesnė koncentracija nustatyta metabolito. Manome, kad skirtingiems mūsų tyrimo ir literatūroje aprašytiems rezultatams įtakos turi tai, kad tyrėme bendrai laboratorinių pelių smegenis, o ne atskiras jų dalis.

Lipofilinėmis savybėmis pasižyminčios medžiagos lengviau pereina hematoencefalinį barjerą [Tozer ir kt., 2006]. Tačiau lyginant laboratorinių pelių smegenų audiniuose susidariusias ibogaino ir metabolito N₁ koncentracijas, nustatyta, kad metabolito N₁ C_{max} (1,95 ± 0,14 ng/mg) yra didesnė, nei jo pirmtako (0,3 ± 0,02 ng/mg). Tokie rezultatai leidžia sutikti su nuomone, kad lipofilinėmis savybėmis pasižymintis ibogainas gali būti užlaikomas lipofilinėse smegenų dalyse, todėl šio alkaloido koncentracija tarpplėšteliniame skystyje yra mažesnė. Tuo tarpu labiau polinio metabolito koncentracija tarpplėšteliniame skystyje yra didesnė [Staley ir kt., 1996; Mash ir kt., 1998]. Lyginant susidariusias didžiausias ibogaino ir jo metabolito N₁ koncentracijas nustatėme, kad metabolito N₁ santykis su pirmine medžiaga

yra 6,5. Tai patvirtina iškeltą hipotezę, kad ibogainas smegenyse yra o-demetilinamas į 12-hidroksiibogaminą (noribogainą) [Staley ir kt., 1996].

Tyrimo metu nustatėme, kad ibogaino AUC_{tot} ($3,55 \pm 0,31 \text{ ng} \times \text{val./mg}$) laboratorinių pelių smegenų audiniuose yra 2,7 karto mažesnis, lyginant su biotransformacijos metu susidariusio metabolito N_1 ($9,48 \pm 0,29 \text{ ng} \times \text{val./mg}$) (3.4.2 lentelė). Nustatyta ilgesnė metabolito N_1 bendra sisteminė ekspozicija leidžia sutikti su kitų tyrėjų nuomone, kad stipresnį priklausomybę nuo opiatų mažinantį poveikį daro ibogaino metabolitas - noribogainas [Hough ir kt., 1996; Mash ir kt., 1998].

Didžiausia koncentracija laboratorinių pelių smegenų audinyje nustatyta noribogaino (3.4.2.5.1 pav.), kai pelėms į skrandį instiliuojamas jau susintetintas noribogainas. Didžiausia koncentracija ($4,92 \pm 0,11 \text{ ng/mg}$) nustatyta po 2 val. (t_{max}), t. y. 2 kartus greičiau nei ibogaino. Lyginant su ibogaino biotransformacijos metu organizme susidariusiu metabolitu N_1 , pastarasis didžiausią koncentraciją pasiekia 5 kartus greičiau, nei noribogainas.

Pirmąsias 15 min. tiek noribogaino, tiek ir metabolito N_1 koncentracijos didėja vienodai. Tačiau po 30 min. koncentracijos ženkliai išsiskiria: metabolito N_1 koncentracija šiuo laiku yra didžiausia, o noribogaino koncentracija dar didėja. Pastarojo didžiausia koncentracija C_{max} ($4,92 \pm 0,11 \text{ ng/mg}$) yra net 2,5 karto didesnė, nei metabolito N_1 (3.4.2 lentelė).

Didesnes noribogaino koncentracijas žiurkių smegenyse nei ibogaino biotransformacijos metu susidariusio metabolito nustatė ir mokslininkas Zubaran. Jis lygino smegenelėse ir smegenų žievėje susidariusias ibogaino, jo metabolito ir noribogaino koncentracijas sušvirkštus 10 mg/kg į pilvaplėvę [Zubaran ir kt., 1999]. Tyrimo metu nustatyta, kad praėjus 30 min. po injekcijos susidariusi noribogaino koncentracija smegenų žievėje ir smegenelėse yra daug didesnė po noribogaino, nei po ibogaino injekcijos. Palyginus ibogaino koncentraciją po ibogaino injekcijos su noribogaino koncentracija po noribogaino injekcijos, nustatyta, kad smegenelėse šių medžiagų koncentracijos panašios, o smegenų žievėje noribogaino koncentracija gerokai didesnė nei ibogaino. Mūsų tyrimo metu nustatyta noribogaino koncentracija taip pat yra didesnė nei ibogaino.

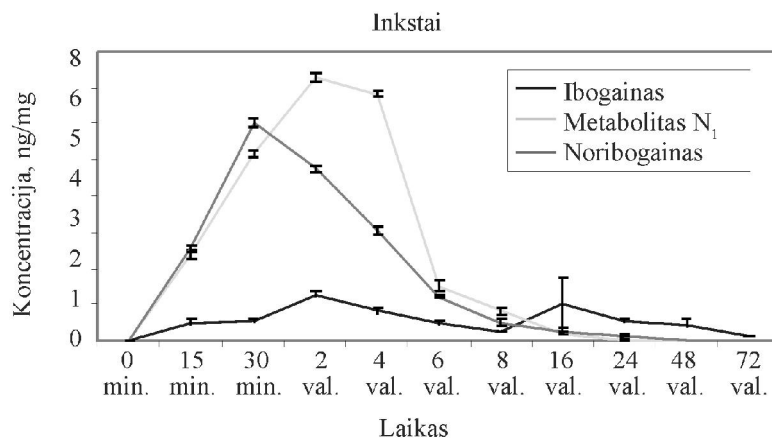
Tyrimo metu nustatėme, kad noribogaino bendra sisteminė ekspozicija pelių smegenyse (AUC_{tot} $24,27 \pm 0,58 \text{ ng} \times \text{val./mg}$) yra didžiausia, t. y. 2,5 didesnė, nei metabolito N_1 ir beveik 7 kartus, nei ibogaino. Todėl manome, kad noribogainas iš laboratorinių pelių smegenų eliminuojamas lėčiausiai.

Įvertinus mūsų tyrimo rezultatus ir palyginus juos su literatūroje publikuotais duomenimis, galime daryti išvadą, kad laboratorinių pelių smegenų audiniuose noribogaino C_{max} yra didesnė ir turi ilgesnį sisteminės ekspozicijos laiką, lyginant su organizme po ibogaino instiliavimo susidariusiu

metabolitu N₁ – noribogainu. Todėl manome, kad stipresnį poveikį CNS daro ne ibogaino biotransformacijos metu susidaręs metabolitas, o noribogainas. Gauti rezultatai skatina atlikti tolimesnius tyrimus, siekiant nustatyti noribogaino pranašumą priklausomybių gydyme, lyginant su ibogainu.

3.4.2.6. Farmakokinetiniai parametrai pelių inkstuose

Į organizmą patekusios medžiagos, anksčiau ar vėliau iš jo yra pašalinamos. Pagrindinis išsiskyrimo iš organizmo kelias yra šalinimas per inkstus. Tiriant, kaip kinta ibogaino koncentracija laboratorinių pelių inkstų audinyje, didžiausia koncentracija ($1,25 \pm 0,09$ ng/mg) nustatyta praėjus 2 val. ($t_{\max}$) po medžiagos instiliavimo į pelių skrandį (3.4.2.6.1 pav.). Tuo pačiu metu didžiausia koncentracija ($7,32 \pm 0,12$ ng/mg) nustatyta ir metabolito N₁. Metabolito N₁ $C_{\max}$ santykis su ibogaino $C_{\max}$ šiame organe – 5,86. Tai rodo, kad ir inkstuose vyksta šio alkaloido metabolizmas. Tačiau tokiai hipotezei patvirtinti reikalingi detalesni (tolimesni) tyrimai.



3.4.2.6.1 pav. Ibogaino (26,3 mg/kg), jo metabolito N₁ ir noribogaino (31,5 mg/kg) koncentracijos kitimas pelių inkstų audinyje

Pastaba: grafike nurodomi koncentracijų vidurkiai ($n=3$) su standartiniais nuokrypiais.

Paveiksle aiškiai matoma, kad organizme susidariusio metabolito N₁ $C_{\max}$ laboratorinių pelių inkstų audinyje yra didesnė nei jo pirmtako ($1,25 \pm 0,09$ ng/mg). Vėliau ji pradeda palaipsniui mažėti. Bet 4–6 val. laikotarpiu nustatytas staigus koncentracijos sumažėjimas. Manome, kad būtent šiuo laikotarpiu vyksta intensyviausias metabolito N₁ šalinimas iš laboratorinių pelių organizmo. Praėjus 24 val. po ibogaino instiliavimo metabolito N₁ nustatyti tik pėdsakai. Ibogaino koncentracija mažėja labai lėtai, o 16 val. po

dozės instiliavimo netgi stebimas koncentracijos padidėjimas, kurį lėmė nepaaiškinamas ženklus koncentracijos padidėjimas vienos tirtos pelės inkstuose.

Instiliavus pelėms į skrandį noribogainą, jo $C_{\max}$ nustatyta po 30 min. Didžiausia koncentracija ($6,04 \pm 0,10$ ng/mg) yra artima biotransformacijos metu susidariusio metabolito N_1 koncentracijai, bet beveik 5 kartus didesnė, nei ibogaino. Staigaus koncentracijos mažėjimo nenustatyta, todėl manome, kad šios medžiagos šalinimas vyksta tolygiai. Praėjus 24 val. po noribogaino instiliavimo, laboratorinių pelių inkstų audinyje nustatyta $0,15 \pm 0,02$ ng/mg noribogaino koncentracija.

Literatūros duomenimis ibogainas iš žiurkių organizmo pasišalina per 12 val., tačiau mūsų tyrimo metu, praėjus 24 val. po šio alkaloido instiliavimo pelėms į skrandį, nustatyta $0,53 \pm 0,05$ ng/mg ibogaino koncentracija. Inkstuose vyksta gera kraujo perfuzija ($4 \text{ ml/min.} \times g$) [Tozer ir kt., 2006]. Tai gali sąlygoti dideles, lyginant su kitais organais, tiriamų medžiagų didžiausias koncentracijas.

Lipofilinėmis savybėmis pasižyminčios medžiagos iš inkstų šalinamos ilgiau, nei hidrofilinės [Tozer ir kt., 2006]. Todėl ibogaino lipofiliškumas gali įtakoti jo eliminaciją. Tokia tendencija nustatyta ir lyginant mūsų tyrimo metu nustatytas medžiagų bendras sisteminės ekspozicijas: ibogaino ir jo biotransformacijos metu organizme susidariusio metabolito N_1 AUC_{tot} yra panašūs (atitinkamai $40,37 \pm 2,07 \text{ ng} \times \text{val/mg}$ ir $40,33 \pm 0,53 \text{ ng} \times \text{val./mg}$), o noribogaino – beveik 1,5 karto mažesnis ($30,26 \pm 0,54 \text{ ng} \times \text{val./mg}$) (3.4.2 lentelė). Tokie rezultatai leidžia sutikti, kad nors ibogainas pelių inkstuose po instiliavimo į skrandį pasiekia mažesnę koncentraciją, nei noribogainas, tačiau eliminuojasi lėčiau.

3.4.3. Rezultatų apibendrinimas

Nustatyti ibogaino, jo biotransformacijos metu organizme susidariusio noribogaino (metabolito N_1) ir sintetinio noribogaino farmakokinetiniai parametrai pelių organuose po instiliavimo į skrandį atskleidė farmakokinetinius ypatumus, pasiskirstant ibogainui ir metabolitui N_1 pelių organizmo audiniuose. Tyrimo metu nustatėme, kad ibogainas (ir jo biotransformacijos metu susidaręs metabolitas N_1) didžiausią koncentraciją pelių kraujo plazmoje pasiekia praėjus 30 min. po instiliavimo į skrandį. Tuo tarpu kai kuriuose vidaus organuose (blūžnyje, smegenyse, inkstuose) šių medžiagų koncentracijos vis dar didėja. Literatūros duomenimis, ibogainas kraujyje pasiekia didesnę koncentraciją, lyginant su kraujo plazma, todėl manoma, kad šis alkaloidas kaupiasi trombocitų baltymuose [Glick ir Maisonneuve, 1998] arba kituose kraujo elementuose [Mačiulaitis ir kt., 2008]. Manome,

ši ibogaino savybė ir lėmė mūsų tyrimo metu nustatytą farmakokinetinių parametrų ypatumus, nes mes tyrimo metu tyrėme pelių kraujo plazmą, iš kurios kraujo forminiai elementai pašalinti. Tuo tarpu tirtų pelių vidaus organai, kuriuose medžiagų koncentracija buvo tiriama mūsų eksperimento metu, buvo prikaupę kraujo su forminiais elementais, įskaitant trombocitus. Taip pat pažymėtina, kad blužnyje nusėda ardomi trombocitai – tai gali sąlygoti didėjančią ibogaino koncentraciją, o inkstai pasižymi geru kraujo pratekamumu, vadinasi trombocitų tai pat galėjo minėtame organe būti didesnis kiekis. Manoma, kad ibogainas gali kauptis smegenų riebaluose [Staley ir kt., 1996]. Tai galėtų paaiškinti mūsų tyrimo metu nustatytą didesnę ibogaino koncentraciją pelių smegenyse, lyginant su koncentracija kraujo plazmoje, ir patvirtinti tokią iškeltą hipotezę.

Tyrimo metu taip pat nustatėme, kad instiliavus į organizmą ibogainą, jo biotransformacijos metu susidaręs metabolitas N_1 – noribogainas – pasiekia didesnę koncentraciją kepenyse, smegenyse ir inkstuose, nei jo pirmtakas. Todėl manome, kad ibogaino metabolizmas vyksta ne tik kepenyse, bet ir inkstuose bei smegenyse.

Apibendrindami nustatytus farmakokinetinius rezultatus pelių kraujo plazmoje galime teigti, kad po instiliavimo į skrandį didžiausią koncentraciją pasiekia ibogainas, jo bendra sisteminė ekspozicija yra ilgiausia, tačiau eliminacija iš plazmos vyksta greičiausiai. Tuo tarpu nustatytos noribogaino didžiausia koncentracija ir bendra sisteminė ekspozicija yra mažiausios, bet jis plačiausiai pasiskirsto po organizmą ir yra ilgiausiai šalinamas iš jo.

Instiliavus į skrandį ibogainą, greičiausiai jo $C_{\max}$ nustatoma širdyje ir kepenyse. Didžiausia koncentracija susidaro pelių blužnyje, o mažiausia – smegenų audinyje. Ilgiausia bendra sisteminė ekspozicija nustatyta pelių blužnies audiniuose, nemažos AUC_{tot} reikšmės nustatytos ir širdyje bei inkstuose. Mažiausi AUC_{tot} smegenyse ir griaučių raumenyse rodo, kad ir ibogaino eliminacija iš šių organų vyksta sparčiausiai.

Instiliavus noribogainą pelėms į skrandį, greičiausiai $C_{\max}$ pasiekiamas blužnyje ir inkstuose, o didžiausia koncentracija susidaro kepenyse. Kepenyse nustatyta ir ilgiausia sisteminė ekspozicija (3.4.2 lentelė). Pelių širdyje, inkstuose ir smegenyse nustatyti AUC_{tot} yra panašūs, vadinasi ir eliminacija iš šių organų vyksta panašiai.

Instiliavus ibogainą, jo biotransformacijos metu organizme susidariso metabolito N_1 – noribogaino – greičiausiai didžiausia koncentracija ($C_{\max}$) nustatoma pelių kepenyse ir smegenyse, o didžiausia koncentracija ir ilgiausia sisteminė ekspozicija, kaip ir paties ibogaino, nustatyta blužnyje.

Tyrimo metu nustatėme, kad tiek ibogainas, tiek ir noribogainas plačiai pasiskirsto po visą organizmą. Tai skatina ateityje pratęsti tyrimą, taikant dvikamerinį (ang. *two-compartment*) ar net kompleksinį farmako-

kinetinį modelį. Pasirinktas farmakokinetinis skaičiavimo modelis, tiriamasis objektas, medžiagų koncentracijos bei įvedimo į organizmą būdas įtakoja skirtingus tyrimų rezultatus, lyginant su mokslinėse duomenų bazėse pateiktais rezultatais.

Literatūros duomenimis, ibogainas daro poveikį širdies ir kraujagyslių sistemai [Hoelen ir kt., 2009; Kovar ir kt., 2011]. Lyginant mūsų tyrimo metu nustatytą ibogaino, noribogaino ir metabolito N_1 bendrą sisteminę ekspoziciją organuose, galime sutikti su šiuo teiginiu, nes nustatytos šių medžiagų AUC_{tot} reikšmės širdies audiniuose yra didelės, lyginant su kitais organais. Ilga metabolito N_1 bendra sisteminė ekspozicija širdyje (skaitine reikšme artima ibogaino AUC_{tot}) kelia hipotezę, kad jis taip pat galėtų sukelti neigiamą poveikį šiai sistemai, ar net sąlygoti ibogaino poveikį. Tačiau atliktų tyrimų, ar noribogainas turi poveikį širdies ir kraujagyslių sistemai, mums rasti nepavyko. Todėl toliau atliktas mūsų tyrimas, ar kartotinis 14 dienų ibogaino ir noribogaino vartojimas turi įtakos šių medžiagų kaupimuisi laboratorinių pelių organuose, yra aktualus ir reikšmingas, vertinant medžiagų toksiškumą.

3.5. Keturiolikos dienų ibogaino ir noribogaino vartojimo įtakos šių medžiagų kaupimuisi pelių organuose tyrimas

Žmogaus organai gali būti pažeidžiami vartojant chemines medžiagas net mažesnėmis dozėmis, nei yra mirtina. Mažos dozės dažniausiai nesukelia nepageidaujamų reakcijų, todėl nuolatinis medžiagų vartojimas gali neigiamai veikti organus ilgą laiką, taip sukeliant rimtus pažeidimus. Todėl toksinio poveikio prigimties įvertinimui gyvenimiškose situacijose atliekami trumpalaikio ir ilgalaikio toksiškumo tyrimai.

Vartojant tas pačias medžiagų dozes vienodais intervalais, jų sukeliamos reakcijos dažniausiai išlieka vienodos. Tačiau kartais, vartojant pakartotinai, specifinis veikimas gali susilpnėti, sustiprėti arba visai pasikeisti jo pobūdis.

Skiriant chemines medžiagas kartotinai, jos kaupiasi organizme iki to momento, kol dozuoti liaujamasi, nes visų dozių eliminavimui dažniausiai reikia daugiau laiko. Kaupimasis nustatomas, jei dozavimo intervalas trumpesnis nei keturi pusperiodžiai [Katzung, 2007].

Duomenų, ar kartotinis ibogaino ar noribogaino vartojimas turi įtakos šių medžiagų kaupimuisi organuose mokslinės literatūros duomenų bazėje mums rasti nepavyko. Todėl atlikome tyrimą, siekiant nustatyti, ar 14 dienų kartotinis ibogaino ir noribogaino vartojimas gali sukelti šių medžiagų kaupimąsi.

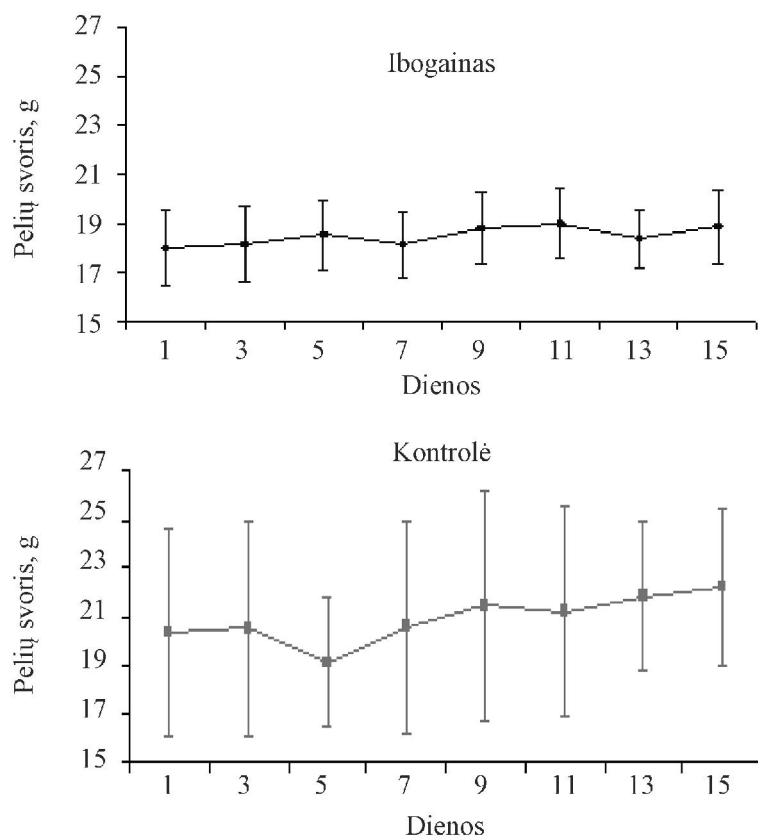
3.5.1. Ibogaino ir metabolito N₁ koncentracijos pelių organuose ir poveikis pelių kūno masės kitimui po kartotinių ibogaino dozių

Tiriant, kokios ibogaino koncentracijos susidaro laboratorinių pelių organuose praėjus 24 val. po vienkartinės jo dozės instiliavimo į skrandį, didelė ibogaino koncentracija ($9,33 \pm 0,11 \mu\text{g/g}$) nustatyta šių gyvūnų inkstų audinyje. Tai sukėlė dvejonę, kad ši medžiaga gali daryti poveikį urogeninei sistemai, nors literatūroje apie tai duomenų neradome. Todėl nustatant ibogaino kartotinių dozių įtaką kaupimuisi laboratorinių pelių organuose įvertinome pelių svorio kitimą 14 dienų laikotarpiu.

3.5.1.1. Ibogaino poveikis pelių kūno masės kitimui

Norėdami įvertinti 14 dienų kartotinių ibogaino dozių poveikį pelių kūno masės kitimui, pagal metodikoje nurodytą schemą pelėms zondo pagalba į skrandį instiliavome 13,15 mg/kg (0,05 LD₅₀) ibogaino tirpalą. Kontrolinėms pelėms buvo švirkščiamas toks pat fiziologinio tirpalo tūris. Pelės kas antrą dieną svertos. Ibogaino ir kontrolinėje grupėse laboratorinių pelių kūno masės svyravimai tyrimo metu pavaizduoti 3.5.1.1.1 pav. Šiuos svyravimus gali sukelti ibogaino sukeltas sumažėjęs vandens vartojimas pirmąsias tyrimo dienas [Glick ir Maisonneuve, 1998].

Tyrimo pabaigoje ibogainą gavusių pelių grupėje kūno masė vidutiniškai buvo padidėjusi, palyginus su tyrimo pradžia, 0,85 g (tai sudaro 4,5 proc. kūno masės). Šis padidėjimas, lyginant su pelių svoriu tyrimo pradžioje, yra statistiškai reikšmingas ($p < 0,05$). Lyginant su kontrolinių pelių svoriu tyrimo pabaigoje, statistiškai svorio didėjimo įrodyti nepavyko ($p > 0,05$). Gauti rezultatai leidžia manyti, kad ibogainas nesukelia urogeninės sistemos sutrikimų, pavyzdžiui skysčių kaupimosi dėl šlapinimosi sumažėjimo, sukeliančių svorio didėjimą.



3.5.1.1.1 pav. *Pelių kūno masės kitimas 14 dienų instiliuojant ibogainą (13,15 mg/kg) ir fiziologinį tirpalą (svorio vidurkis $\pm$ SN) ($n=6$)*

3.5.1.2. Kartotinių dozių įtaka ibogaino kaupimuisi laboratorinių pelių organuose

Praėjus 14 dienų po kartotinių (13,15 mg/kg) ibogaino dozių laboratorinės pelės dislokuotos ir dekapituotos. Atlikus kietos fazės ekstrakciją ir chromatografinę analizę fluorescencinės detekcijos būdu nustatėme ibogaino ir metabolito N_1 koncentracijas pelių organuose po kartotinio 14 dienų ibogaino instiliavimo. Aprašomosios statistikos rezultatai pateikti 3.5.1.2.1 ir 3.5.1.2.2 lentelėse.

3.5.1.2.1 lentelė. *Ibogaino koncentracijų pelių organuose po kartotinių ibogaino (13,15 mg/kg) dozių aprašomoji statistika (n=6)*

	Vidurkis ± SN	Mediana	Mažiausia reikšmė	Didžiausia reikšmė
Širdis	1,43 ± 0,93	1,46	1,25	1,51
Blužnis	1,41 ± 0,06	1,41	1,33	1,49
Kepenys	0,29 ± 0,05	0,30	0,23	0,35
Inkstai	0,83 ± 0,06	0,82	0,75	0,91
Smegenys	0,10 ± 0,02	0,095	0,07	0,12
Griaučių raumuo	0,07 ± 0,03	0,065	0,05	0,12

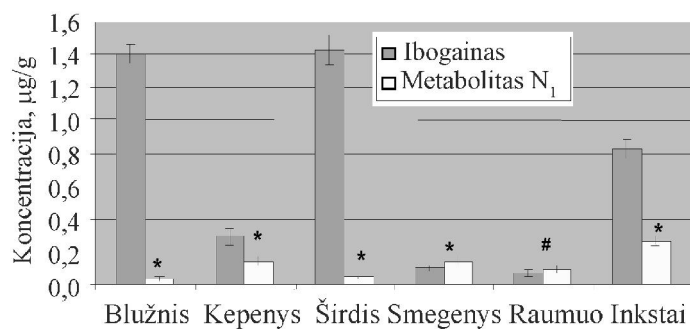
Statistiškai reikšmingo skirtumo nenustatyta ($p>0,05$) tarp laboratorinių pelių širdies ir blužnies audinyje bei tarp smegenų ir griaučių raumenų audinyje nustatytos ibogaino koncentracijos.

3.5.1.2.2 lentelė. *Metabolito N_1 koncentracijų pelių organuose po kartotinių 13,15 mg/kg ibogaino dozių aprašomoji statistika (n=6)*

	Vidurkis ± SN	Mediana	Mažiausia reikšmė	Didžiausia reikšmė
Širdis	0,04 ± 0,02	0,035	0,02	0,06
Blužnis	0,03 ± 0,01	0,025	0,02	0,05
Kepenys	0,14 ± 0,03	0,13	0,09	0,19
Inkstai	0,26 ± 0,03	0,26	0,23	0,31
Smegenys	0,14 ± 0,03	0,14	0,10	0,18
Griaučių raumuo	0,09 ± 0,03	0,08	0,06	0,12

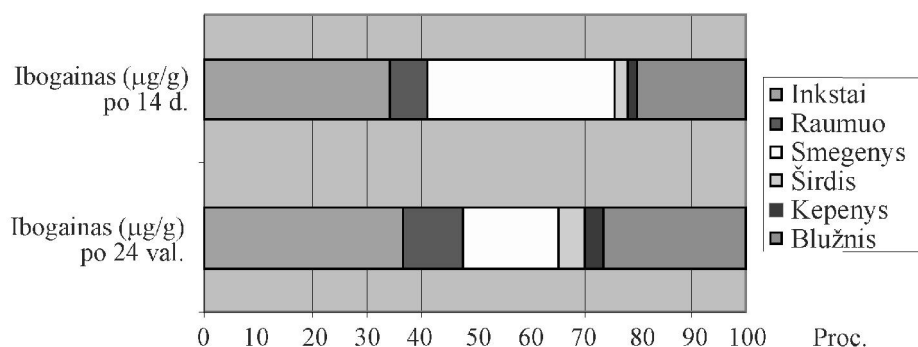
Metabolito N_1 grupėje statistiškai reikšmingo skirtumo nenustatyta ($p>0,05$) tarp laboratorinių pelių širdies ir blužnies audinyje bei tarp smegenų ir kepenų audinyje nustatytų metabolito N_1 koncentracijų.

Statistiškai palyginome ibogaino ir metabolito N_1 koncentracijas laboratorinių pelių vidaus organuose po kartotinių 14 dienų ibogaino dozių instiliavimo (3.5.1.2.1 pav.). Tarp grupių nustatyti statistiškai reikšmingi ($p<0,05$) skirtumai, išskyrus pelių griaučių raumenų mėginius ($p>0,05$). Tokia pati tendencija nustatyta lyginant ibogaino ir metabolito N_1 koncentracijas praėjus 24 val. po vienkartinės ibogaino dozės (3.3.2 skyrius).



3.5.1.2.1 pav. *Ibogaino ir metabolito N₁ koncentracijų pelių organuose po kartotinių (13,15 mg/kg) ibogaino dozių palyginimas (vidurkis±SN)*
**p<0,05, #p>0,05 (n=6)*

Palyginome ibogaino koncentracijas pelių organuose praėjus 24 val. po vienkartinės dozės ir po 14 dienų kartotinių ibogaino dozių (3.5.1.2.2 pav.). Remiantis literatūros duomenimis, jei medžiagos dozavimo intervalas yra trumpesnis nei keturi pusinės eliminacijos laikai, stebimas tos medžiagos kaupimasis organizme [Katzung, 2007]. Mūsų tyrimo metu nustatyta, kad ibogaino pusinės eliminacijos laikas pelių kraujo plazmoje yra 1,95 val. Todėl instiliuojant ibogainą kas 24 val. ši medžiaga neturi kauptis pelių organizme.



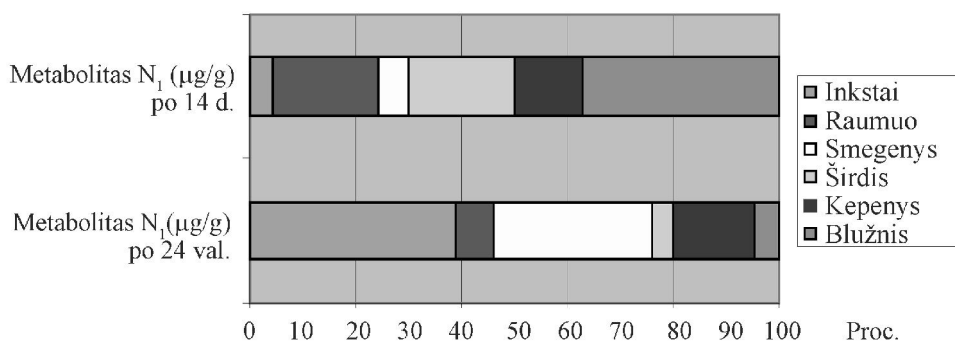
3.5.1.2.2 pav. *Ibogaino koncentracijų pelių organuose palyginimas: po vienkartinės (131 mg/kg) dozės praėjus 24 val. ir po 14 dienų kartotinių (13,15 mg/kg) dozių*

Vertinant ibogaino koncentracijas praėjus 24 val. po vienkartinės ir 14 dienų kartotinių dozių, nustatyta, kad po 24 val. didžiausia ibogaino koncentracija yra blužnyje ($12,91 \pm 0,37 \mu\text{g/g}$), apie 1,5 karto mažiau nustatyta inkstuose ($9,33 \pm 0,11 \mu\text{g/g}$) ir maždaug du kartus mažiau (lyginant su

koncentracija blužnyje) nustatyta pelių širdies audinyje ($6,13 \pm 0,15 \mu\text{g/g}$). Po 14 dienų kartotinių ibogaino dozių, pastebima ta pati ibogaino koncentracijų pelių organuose tendencija – didžiausios koncentracijos nustatytos širdies, blužnies ir inkstų audiniuose. Tačiau po 14 dienų didžiausia ibogaino koncentracija ($1,43 \pm 0,93 \mu\text{g/g}$) nustatyta širdyje. Tai leidžia patvirtinti literatūroje paskelbtą teiginį, kad ibogainas turi poveikį širdies ir kraujagyslių sistemai [Maas ir kt., 2006; Hoelen ir kt., 2009; Kovar ir kt., 2011].

Pelių blužnies audiniuose po kartotinių ibogaino dozių nustatyta koncentracija ($1,41 \pm 0,06 \mu\text{g/g}$) artima širdies audiniuose nustatytai koncentracijai – apskaičiuotas reikšmingumo lygmuo $p > 0,05$. Inkstų audiniuose nustatyta 1,7 karto mažesnė ibogaino koncentracija nei širdyje.

Palyginome metabolito N_1 koncentracijas pelių organuose praėjus 24 val. po vienkartinės ibogaino dozės instiliavimo į laboratorinių pelių skrandį ir po 14 dienų kartotinių dozių (3.5.1.2.3 pav.). Farmakokinetinio tyrimo metu nustatėme, kad metabolito N_1 pusinės eliminacijos laikas pelių kraujo plazmoje yra 4,42 val. (3.4.1 lentelė). Todėl instiliuojant ibogainą kas 24 val. metabolitas neturi kauptis pelių organizme.



3.5.1.2.3 pav. Metabolito N_1 koncentracijų pelių organuose palyginimas: po vienkartinės (131 mg/kg) ibogaino dozės praėjus 24 val. ir po 14 dienų kartotinių (13,15 mg/kg) ibogaino dozių

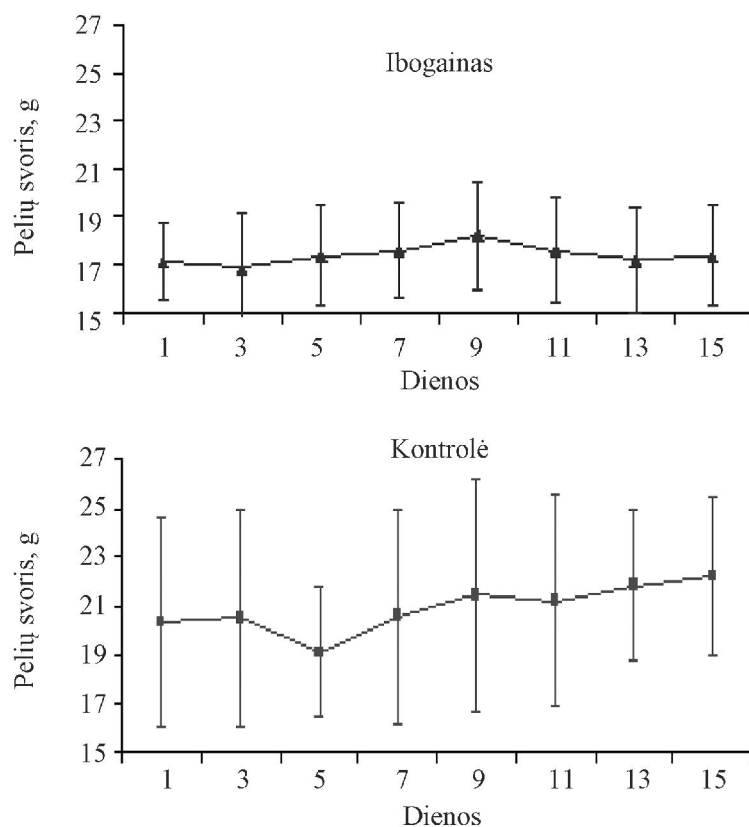
Praėjus 24 val. po vienkartinės ibogaino dozės didžiausios šios medžiagos koncentracijos nustatytos pelių blužnies, širdies ir griaučių raumenų audiniuose. Tuo tarpu po kartotinių 14 dienų ibogaino dozių stebima kitokia tendencija - metabolito N_1 didžiausia koncentracija ($0,26 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$) nustatyta pelių inkstų audiniuose, du kartus mažesnės koncentracijos ($0,14 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$) apskaičiuotos kepenų ir smegenų audiniuose, o blužnyje nustatyta mažiausia ($0,03 \pm 0,01 \mu\text{g/g}$) metabolito N_1 koncentracija. Tokie

rezultatai rodo, kad vartojant kartotines ibogaino dozes metabolitas N_1 linkęs kauptis pelių smegenyse. Tai patvirtintų literatūroje iškeltą hipotezę, kad ilgalaikį ibogaino poveikį priklausomybių gydymui lemia jo metabolitas [Hough ir kt., 1996].

3.5.2. Noribogaino koncentracija organuose ir poveikis pelių kūno masės kitimui po kartotinių noribogaino dozių

3.5.2.1. Noribogaino poveikis pelių kūno masės kitimui

Tiriant kartotinių noribogaino dozių įtaką laboratorinių pelių kūno masės kitimui, 31,5 mg/kg (0,05 LD₅₀) noribogaino tirpalas pagal anksčiau minėtą schemą 14 dienų zondo pagalba instiliuotas į laboratorinių pelių skrandį. Kontrolinėms pelėms tą patį laikotarpį instiliavome atitinkamą fiziologinio tirpalo tūrį. Kas antrą dieną pelės pasvertos. Ilgalaikio noribogaino poveikio grupėje ir kontrolinėje grupėje pelių kūno masės svyravimai pavaizduoti 3.5.2.1.1 pav. Tyrimo pradžioje kūno masės mažėjimą gali sąlygoti adaptacinis (stresinis) laikotarpis. Tęsiant tyrimą, laboratorinių pelių kūno masė pradėjo didėti ir šis didėjimas buvo stebimas iki 9 tyrimo dienos. Vėliau pelių kūno masė pradėjo kristi, o tyrimo pabaigoje vėl nustatytas laboratorinių pelių svorio didėjimas. Tyrimo pabaigoje noribogaino grupės pelių kūno masė vidutiniškai padidėjo 0,23 g (tai sudaro 1,4 proc. kūno masės), lyginant su tyrimo pradžioje, tačiau statistiškai padidėjimo įrodyti nepavyko ($p > 0,05$). Statistiškai reikšmingo kūno masės padidėjimo tyrimo pabaigoje nenustatyta ir lyginant su kontroline grupe ($p > 0,05$) (3.5.2.1.1 pav.)



3.5.2.1.1 pav. Pelių kūno masės kitimas 14 dienų instiliuojant noribogainą (31,5 mg/kg) ir fiziologinį tirpalą (svorio vidurkis $\pm$ SN) (n=6)

3.5.2.2. Kartotinių dozių įtaka noribogaino kaupimuisi laboratorinių pelių organuose

Nustatėme noribogaino koncentracijas laboratorinių pelių organuose po kartotinių noribogaino dozių. Aprašomoji statistika pateikta 3.5.2.2.1 lentelėje.

3.5.2.2.1 lentelė. Noribogaino koncentracijų ($\mu\text{g/g}$) pelių organuose po kartotinių 31,5 mg/kg noribogaino dozių aprašomoji statistika ($n=6$)

	Vidurkis $\pm$ SN	Mediana	Mažiausia reikšmė	Didžiausia reikšmė
Širdis	$0,07 \pm 0,02$	0,07	0,05	0,10
Blužnis	$0,48 \pm 0,03$	0,47	0,44	0,51
Kepenys	$0,04 \pm 0,02$	0,04	0,02	0,08
Inkstai	$0,09 \pm 0,02$	0,10	0,06	0,12
Smegenys	$0,15 \pm 0,04$	0,14	0,11	0,21
Griaučių raumuo	$0,16 \pm 0,03$	0,17	0,11	0,18

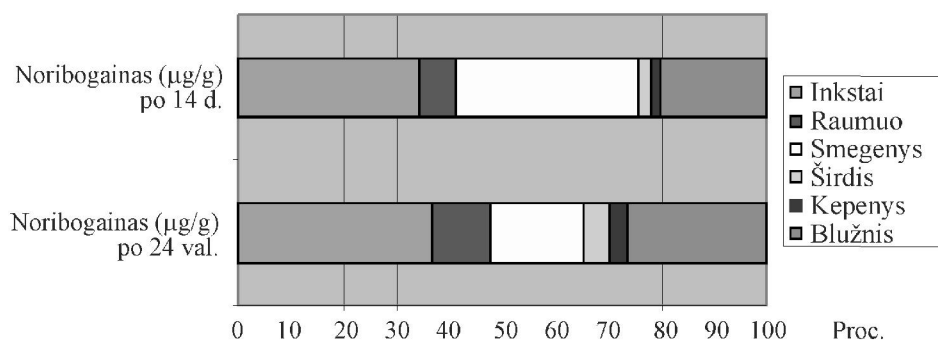
Gautais duomenimis, didžiausia ($0,48 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$) noribogaino koncentracija nustatyta laboratorinių pelių blužnies audiniuose. Įvertinus noribogaino koncentracijas tarp tirtų laboratorinių pelių organų po kartotinių dozių, statistiškai reikšmingo skirtumo nenustatyta ($p>0,05$) tarp pelių kepenų ir širdies, inkstų ir širdies bei smegenų ir griaučių raumenų audiniuose nustatytos noribogaino koncentracijos (3.5.2.2.2 lentelė).

3.5.2.2.2 lentelė. Noribogaino koncentracijų reikšmingumo lygmuo (p) tarp pelių organų po 14 dienų kartotinių noribogaino dozių

Noribogainas	Širdis	Kepenys	Blužnis	Inkstai	Smegenys	Raumuo
Širdis	–	0,116	0,028	0,058	0,028	0,028
Kepenys	0,116	–	0,028	0,046	0,028	0,028
Blužnis	0,028	0,028	–	0,028	0,028	0,028
Inkstai	0,058	0,046	0,028	–	0,028	0,028
Smegenys	0,028	0,028	0,028	0,028	–	0,715
Raumuo	0,028	0,028	0,028	0,028	0,715	–

Farmakokinetinio tyrimo metu nustatėme, kad noribogaino pusinės eliminacijos laikas pelių kraujo plazmoje yra 6,14 val. (3.4.1 lentelė). Todėl instiliuojant noribogainą kas 24 val. jis turėtų kauptis pelių organizme. Praėjus 24 val. po vienkartinės (315 mg/kg) noribogaino dozės didžiausios koncentracijos nustatytos pelių blužnies ($28,56 \pm 0,50 \mu\text{g/g}$), širdies ($14,06 \pm 0,18 \mu\text{g/g}$) ir inkstų ($7,53 \pm 0,16 \mu\text{g/g}$) audiniuose. Po 14 dienų kartotinių (31,5 mg/kg) noribogaino dozių didžiausia koncentracija ($0,48 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$) taip pat nustatyta blužnies audiniuose. Tačiau kituose tirtuose organuose stebima kitokia tendencija – didelės noribogaino koncentracijos nustatytos

peliių griaučių raumenų ($0,16 \pm 0,03 \mu\text{g/g}$) ir smegenų ($0,15 \pm 0,04 \mu\text{g/g}$) audiniuose. Tuo tarpu širdies ir inkstų audiniuose nustatytos noribogaino koncentracijos 5–7 kartus mažesnės, nei blužnies audiniuose.



3.5.2.2.1 pav. Noribogaino koncentracijų tiriamuose pelių organuose palyginimas: po vienkartinės (315 mg/kg) noribogaino dozės praėjus 24 val. ir po 14 dienų kartotinių (31,5 mg/kg) noribogaino dozių

Palyginus noribogaino koncentracijas pelių organuose po vienkartinės ir kartotinių dozių (3.5.2.2.1 pav.), po 14 dienų kartotinių dozių pelių smegenų audiniuose nustatėme noribogaino koncentracijos didėjimo tendenciją. Tai leidžia manyti, kad vartojant noribogainą kartotinai galima būtų pasiekti geresnių rezultatų gydant priklausomybę nuo psichotropinių medžiagų ir mažinant abstinencijos simptomus, nei vienkartinę jo dozę. Tačiau tokiai hipotezei patvirtinti reikia detalesnių tyrimų.

Nustatant noribogaino farmakokinetinius parametrus laboratorinių pelių organuose nustatėme, kad noribogaino (kaip ir ibogaino) eliminacija iš laboratorinių pelių širdies audinio yra lėčiausia, lyginant su kitais tiriamaisiais organais. Todėl darėme prielaidą, kad noribogainas gali turėti poveikį širdies ir kraujagyslių sistemai. Kartotinių dozių tyrimas rodo, kad noribogainas nėra linkęs kauptis laboratorinių pelių širdies audinyje, todėl tikėtina, kad ir poveikio šiai sistemai neturės.

3.5.3. Rezultatų apibendrinimas

Apibendrinami kartotinių ibogaino dozių įtaką laboratorinių pelių kūno masei ir medžiagos kaupimuisi organuose rezultatus, galime daryti išvadą, kad dviejų savaitių 0,05 LD₅₀ ibogaino dozės vartojimas sukelia nedidelį svorio didėjimą bei turi tendenciją kauptis laboratorinių pelių širdies audinyje. Tokie rezultatai leidžia daryti prielaidą, kad kartotinis

ibogaino vartojimas gydymo tikslais nesukeltų ryškesnių šalutinių reiškinių virškinimo, šlapinimosi ar nervų sistemai.

Apibendrinami 14 dienų kartotinių 31,5 mg/kg noribogaino dozių įtaką laboratorinių pelių kūno masės kitimui ir medžiagos kaupimuisi pelių organuose, galime daryti išvadą, kad dvi savaites vartojant 0,05 LD₅₀ noribogaino dozę pelių kūno masė nekinta. Tikėtina, kad ši medžiaga gali kauptis pelių smegenų audinyje, to pasekoje gali būti veiksmingesnė medžiaga priklausomybių nuo opiatų gydyme.

Mūsų atlikti tyrimai yra aktualūs, kadangi ibogaino ir noribogaino kaupimosi galimybė organuose po kartotinių dozių dar nebuvo tirta. Šiuo metu ibogainas ir noribogainas kelia didžiulį susidomėjimą kaip medžiagos, kurios ateityje galėtų būti naudojamos priklausomybių nuo psichotropinių medžiagų ir alkoholio gydymui. Todėl gauti duomenys, aiškinantis, ar šios tiriamos medžiagos gali kauptis organuose ir taip sukelti pažeidimus, yra neabejotinai aktualūs. Kol kas tai yra pirmasis tokio pobūdžio tyrimas, todėl jį toliau reikėtų pratęsti įvertinant histologinius organų ląstelių pokyčius. Nustačius, kokia dozė po kiek laiko sąlygoja organų ląstelių histologinius pakitimus, ateityje padėtų planuoti saugius tolesnius tyrimus su žmonėmis.

IŠVADOS

1. Atlikus ibogaino ir noribogaino toksiškumo tyrimą laboratorinėms pelėms, apskaičiuotos šių medžiagų vidutinės mirtinosios dozės. Nustatyta, kad ibogaino LD_{50} pelėms yra 263 mg/kg, o noribogaino – 630 mg/kg po šių medžiagų instiliavimo į pelės skrandį. Gauti rezultatai rodo, kad ibogainas daugiau nei 2 kartus toksiškesnis, nei jo metabolitas – noribogainas.
2. Pritaikyta efektyviosios skysčių chromatografijos metodika fluorescencinės detekcijos būdu ibogaino ir noribogaino analizei kraujo plazmoje ir skirtingų organų terpėse. Įvertinti metodikos parametrai, kurie patvirtino jos atrankumą, jautrumą bei tiesiškumą.
3. Ibogainas ir noribogainas kietos fazės ekstrakcijos būdu išskirti ir ESC metodu kiekybiškai nustatyti laboratorinių pelių kraujo plazmoje ir vidaus organuose. Didžiausios medžiagų koncentracijos, praėjus parai po vienkartinį ibogaino ar noribogaino dozių instiliavimo į laboratorinės pelės skrandį, nustatytos blužnies ir širdies audiniuose.
4. Pelių kraujo plazmoje didžiausia koncentracija nustatyta ibogaino. Jo apskaičiuota bendra sisteminė ekspozicija yra daugiau nei 2 kartus didesnė, nei noribogaino, tačiau pusinės eliminacijos laikas yra daugiau nei tris kartus trumpesnis, lyginant su noribogaino $t_{1/2}$. Tai rodo greitą nepakitusio ibogaino šalinimą iš pelių kraujo plazmos.
5. Greičiausiai ibogaino ir jo biotransformacijos metu susidariusio noribogaino (metabolito N_1) didžiausia koncentracija (C_{max}) organuose nustatyta kepenyse, o sintetinio noribogaino – blužnyje ir inkstuose. Ibogaino ir po jo pavartojimo susidariusio metabolito N_1 ilgiausia sisteminė ekspozicija apskaičiuota pelių blužnyje, o sintetinio noribogaino – kepenyse.
Apskaičiuotas ibogaino ir jo metabolito (N_1) koncentracijų santykis pelių vidaus organuose rodo, kad ibogainas biotransformuojamas ne tik kepenyse, bet ir inkstuose bei smegenyse.
6. Atlikus kartotinių dozių įtakos ibogaino kaupimuisi laboratorinių pelių organuose tyrimą, nustatyta, kad ibogaino koncentracija pelės širdies audinyje po 14 dienų didesnė, nei po pirmosios dozės. Tai rodo galimą polinkį kauptis pelės širdyje.
Noribogaino kartotinių dozių tyrimo metu nustatyta, kad noribogaino koncentracija po 14 dienų didesnė pelės smegenyse ir griaučių raumenyse, nei po pirmosios dozės. Tai rodo noribogaino galimą polinkį kauptis pelės smegenyse ir griaučių raumenyse.

BIBLIOGRAFIJOS SĄRAŠAS

1. **Aceto M.D, Bowman ER, Harris LS, May EL.** Dependence studies of new compounds in the rhesus monkey and mouse (1991). *NIDA Res Monogr* 1992;119:513-58.
2. **Aceto MD, Bowman ER, Harris LS.** Dependence studies of new compounds in the rhesus monkey, rat and mouse (1989). *NIDA Res Monogr* 1990;95:578-631.
3. **Alburges ME, Foltz RL, Moody DE.** Determination of ibogaine and 12-hydroxy-ibogamine in plasma by gas chromatography-positive ion chemical ionization-mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 1995;19:381-86.
4. **Ali SF, Newport GD, Slikker W Jr, Rothman RB, Baumann MH.** Neuroendocrine and neurochemical effects of acute ibogaine administration: a time course evaluation. *Brain Res* 1996;737:215-20.
5. **Alper KR.** Ibogaine: A review. *The Alkaloids: Chemistry and Biology* 2001; 56:1-38.
6. **Alper KR, Lotsof HS, Frenken GM, Luciano DJ, Bastiaans J.** Treatment of acute opioid withdrawal with ibogaine. *Am J Addict* 1999; 8:234-42.
7. **Alper KR, Lotsof HS., Kaplan CD.** The ibogaine medical subculture. *J of Ethnopharmacol* 2008; 115:9-24.
8. **Alper KR, Reith M, Sershen H.** Ibogaine and the inhibition of acetylcholinesterase. *J of Ethnopharmacol* 2012; 139:879-882.
9. **Badio B, Padgett WL, Daly JW.** Ibogaine: A potent noncompetitive blocker of ganglionic/neuronal nicotinic receptors. *Mol Pharmacol* 1997; 51:1-5.
10. **Bagal AA, Hough LB, Nalwalk JW, Glick SD.** Modulation of morphine-induced antinociception by ibogaine and noribogaine. *Brain Res* 1996; 741:258-62.
11. **Baumann MH, Pablo JP, Ali SF, Rothman RB, Mash DC.** Noribogaine (12-hydroxyibogamine): a biologically active metabolite of the antiaddictive drug Ibogaine. *Ann NY Acad Sci* 2000; 914:354-68.
12. **Baumann MH, Rothman RB, Pablo JP, Mash DC.** In vivo neurobiological effects of ibogaine and its O-desmethyl metabolite, 12-hydroxyibogamine (noribogaine), in rats. *J Pharmacol and Exp Therap* 2001; 297:531-39.
13. **Bhargava HN, Cao YJ, Zhao GM.** Effects of ibogaine and noribogaine on the antinociceptive action of μ -, δ - and κ -opioid receptor agonists in mice. *Brain Res* 1997; 752:234-238.

14. **Binienda Z, Beaudoin MA, Thorn BT, Prapurna DR, Johnson JR, Fogle CM, Slikker WJr, Ali SF.** Alteration in Electroencephalogram and Monoamine Concentrations in Rat Brain following Ibogaine Treatment. *Ann NY Acad Sci* 1998; 844:265-273.
15. **Bowen WD, Vilner BJ, Williams W, Bertha CM, Kuehne ME and Jacobson AE.** Ibogaine and its congeners are sigma-2 receptor-selective ligands with moderate affinity. *Eur J Pharmacol* 1995; 279:R1–R3.
16. **Broderick PA, Phelan FT, Berger SP.** Ibogaine alters cocaine-induced biogenic amine and psychostimulant dysfunction but not [3H]GBR-12935 binding to the dopamine transporter protein. *NIDA Res Monogr* 1992; 119:285.
17. **Broderick PA, Phelan FT, Eng F, Wechsler RT.** Ibogaine modulates cocaine responses which are altered due to environmental habituation: in vivo microvoltametric and behavioral studies. *Pharmacol Biochem Behav* 1994; 49:711-28.
18. **Büchi G, Coffen DL, Kocsis K, Sonnet PE, Ziegler FE.** The total synthesis of iboga alkaloids. *J Am Chem Soc* 1966; 88:3099-3109.
19. **Caille S, Espejo EF, Koob GF, Stinus L.** Dorsal and median raphe serotonergic system lesion does not alter the opiate withdrawal syndrome. *Pharmacol Biochem and Behav* 2002; 72:979-86.
20. **Cao YJ, Bhargava HN.** Effects of ibogaine on the development of tolerance to antinociceptive action of mu-, delta- and kappa-opioid receptor agonists in mice. *Brain Res* 1997; 752:250-54.
21. **Cappendijk SL, Fekkes D, Dzoljic MR.** The inhibitory effect of norharman on morphine withdrawal syndrome in rats: comparison with ibogaine. *Behav Brain Res* 1994; 65:117-19.
22. **Cappendijk SL, Dzoljic MR.** Inhibitory effects of ibogaine on cocaine self-administration in rats. *Eur J Pharmacol* 1993; 241:261-65.
23. **Cartoni GP, Giarusso A.** Gas chromatographic determination of ibogaine in biological fluids. *J Chromatogr* 1972; 71:154-58.
24. **Chen G, Bohnert B.** A study of central nervous system stimulants. *J Pharmacol Exp Ther* 1958; 123:212-15.
25. **Cheze M, Lenoan A, Deveau M, Pepin G.** Determination of ibogaine and noribogaine in biological fluids and hair by LC–MS/MS after Tabernanthe iboga abuse: Iboga alkaloids distribution in a drowning death case. *Forensic Science International* 2008;176: 58-66.
26. **Codd EE.** High affinity ibogaine binding to a mu opioid agonist site. *Life Scien* 1995; 57:315-20.
27. **Cousins D, Huffman MA.** Medicinal properties in the diet of gorillas: an ethno-pharmacological evaluation. *African Study Monographs* 2002; 23: 65-89.

28. **Deecher DC, Teitler M, Soderlund DM, Bornmann WG, Kuehne ME, Glick SD.** Mechanisms of action of ibogaine and harmaline congeners based on radioligand binding studies. *Brain Res* 1992; 571: 242-47.
29. **Delorenzi JC, Freire-de-Lima L, Gattass CR, de Andrade Costa D, He L, Kuehne ME, Saraiva EM.** In vitro activities of iboga alkaloid congeners coronaridine and 18-methoxycoronaridine against *Leishmania amazonensis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2002; 46: 2111-15.
30. **Dhahir HI, Jain NC, Forney RB.** Methods for the detection and determination of ibogaine in biological materials. *J Forensic Sci* 1971; 16:103-8.
31. **Dhahir HI, Jain NC, Thornton JI.** The identification of ibogaine in biological materials. *J Forensic Sci Soc* 1972; 12:309-13.
32. **Di Chiara G, Acquas E, Tanda G, Cadoni C.** Drugs of abuse: Biochemical surrogates of specific aspects of natural reward? *Biochem Soc Symp* 1993; 59:65–81.
33. **Di Chiara G, Impoerato A.** Drugs abused by human preferentially increase synaptic dopamine concentration in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 5274-78.
34. **Dzolic ED, Kaplan CD, Dzolic MR.** Effect of ibogaine on naloxone-precipitated withdrawal syndrome in chronic morphine-dependent rats. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie* 1988; 294:64-70.
35. **Europos narkotikų vartojimo paplitimo ataskaita, 2013.** Prieiga per internetą: <http://www.emcdda.europa.eu/publications/edr/trends-developments/2013>
36. **Fernandez JW.** Bwiti: An ethnography of religious imagination in Africa. New York: Princeton University Press, Princeton; 1982.
37. **Frances B, Gout R, Cros J, Zajac JM.** Effects of ibogaine on naloxone-precipitated withdrawal in morphine-dependent mice. *Fund and Clin Pharmacol* 1992; 6:327-32.
38. **French ED, Dillon K, Ali SF.** Effects of ibogaine, and cocaine and morphine after ibogaine, on ventral tegmental dopamine neurons. *Life Scien* 1996; 59:199-205.
39. **Fryer JD, Lukas RJ.** Noncompetitive functional inhibition at diverse, human nicotinic acetylcholine receptor subtypes by bupropion, phenylcyclidine, and ibogaine. *J Pharmacol and Exp Therap* 1999; 288: 88-92.
40. **Gallagher CA, Hough LB, Keefner SM, Seyed-Mozaffari A, Archer S, Glick SD.** Identification and quantification of the indole alkaloid

- ibogaine in biological samples by gas chromatography–mass spectrometry. *Biochem Pharmacol* 1995; 49:73–79.
41. **Gershon S, Lang WJ.** A psycho-pharmacological study of some indole alkaloids. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1962; 135:31-56.
 42. **Glick SD, Kuehne ME, Maisonneuve IM, Bandarage UK, Molinari HH.** 18-Methoxycoronaridine, a non-toxic iboga alkaloid congener: effects on morphine and cocaine self-administration and on mesolimbic dopamine release in rats. *Brain Res* 1996a; 719:29-35.
 43. **Glick SD, Kuehne ME, Raucci J, Wilson TE, Larson D, Keller Jr. RW, Carlson JN.** Effects of iboga alkaloids on morphine and cocaine self-administration in rats: relationship to tremorigenic effects and to effects on dopamine release in nucleus accumbens and striatum. *Brain Res* 1994; 657:14-22.
 44. **Glick SD, Maisonneuve IM.** Mechanisms of antiaddictive actions of ibogaine. *Ann NY Acad Sci* 1998; 844:214-26.
 45. **Glick SD, Maisonneuve IM, Dickinson HA.** 18-MC reduces methamphetamine and nicotine self-administration in rats. *Neuroreport* 2000; 11:2013-15.
 46. **Glick SD, Maisonneuve IM, Hough LB, Kuehne ME, Bandarage UK.** (±)-18-Methoxycoronaridine: A novel Iboga alkaloid congener having potential anti-addictive efficacy. *CNS Drug Rev* 1999; 5: 27-42.
 47. **Glick SD, Maisonneuve IM, Visker KE, Fritz KA, Bandarage UK, Kuehne ME.** 18-Methoxycoronaridine attenuates nicotine-induced dopamine release and nicotine preferences in rats. *Psychopharmacol* 1998; 139:274-80.
 48. **Glick SD, Maisonneuve IM, Szumlinski KK.** Mechanisms of action of ibogaine: relevance to putative therapeutic effects and development of a safer iboga alkaloid congener. *The Alkaloids: Chemistry and Biology* 2001; 56:39-53.
 49. **Glick SD, Maisonneuve IM, Kitchen BA.** Modulation of nicotine self-administration in rats by combination therapy with agents blocking alpha 3 beta 4 nicotinic receptors. *Eur J Pharmacol* 2002a; 448:185-91.
 50. **Glick SD, Maisonneuve IM, Kitchen BA, Fleck MW.** Antagonism of alpha 3 beta 4 nicotinic receptors as a strategy to reduce opioid and stimulant self-administration. *Eur J Pharmacol* 2002b; 438:99-105.
 51. **Glick SD, Pearl SM, Cai J, Maisonneuve IM.** Ibogaine-like effects of noribogaine in rats. *Brain Res* 1996; 713:294-97.
 52. **Glick SD, Rossman K, Rao NC, Maisonneuve IM, Carlson JN.** Effects of ibogaine on acute signs of morphine withdrawal in rats: independence from tremor. *Neuropharmacol* 1992b; 31:497-500.

53. **Glick SD, Rossman K, Steindorf S, Maisonneuve IM, Carlson JN.** Effects and aftereffects of ibogaine on morphine self-administration in rats. *Eur J Pharmacol* 1991; 195:341-45.
54. **Glick SD, Rossman K, Wang S, Dong N, Keller RW.** Local effects of ibogaine on extracellular levels of dopamine and its metabolites in nucleus accumbens and striatum: interactions with D-amphetamine. *Brain Res* 1993; 628:201-8.
55. **Goutarel R, Gollnhofer O, Sillan R.** Pharmacodynamics and therapeutic applications of iboga and ibogaine. *Psychedelic Monographs and Essays* 1993; 6:7-111.
56. **Hajo-Tello N, Dupont CH, Wepierre J, Cohen Y, Miller R, Godfraind T.** Effects of tabernanthine on calcium and catecholamine stimulated contractions of isolated vascular and cardiac muscle. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1985; 276:35-43.
57. **He DY, McGough NN, Ravindranathan A, Jeanblanc J, Logrip ML, Phamluong K, Janak PH, Ron D.** Glial cell line-derived neurotrophic factor mediates the desirable actions of the anti-addiction drug ibogaine against alcohol consumption. *J Neurosci* 2005; 25:619-28.
58. **He DY, Ron D.** Autoregulation of glial cell line-derived neurotrophic factor expression: implications for the long-lasting actions of the antiaddiction drug, Ibogaine. *FASEB Journal* 2006; 20:2420-22.
59. **Hearn WL, Pablo J, Hime GW and Mash DC.** Identification and quantitation of ibogaine and an o-demethylated metabolite in brain and biological fluids using gas chromatography–mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 1995; 19:427–34.
60. **Helsey S, Dlugos CA, Pentney RJ, Rabin RA, Winter JC.** Effects of chronic ibogaine treatment on cerebellar Purkinje cells in the rat. *Brain Res* 1997; 759:306-8.
61. **Heroino kaina ir grynumas.** Prieiga per internetą: <http://ar2005.emcdda.europa.eu/lt/page080-lt.html>
62. **Hiramatsu M, Cho AK, Nabeshima T.** Comparison of the behavioral and biochemical effects of the NMDA receptor antagonists, MK-801 and phencyclidine. *Eur J Pharmacol* 1989; 166:359-66.
63. **Hisaoka K, Takebayashi M, Tsuchioka M, Maeda N, Nakata Y, Yamawaki S.** Antidepressants increase glial cell line-derived neurotrophic factor production through monoamine-independent activation of protein tyrosine kinase and extracellular signal-regulated kinase in glial cells. *J Pharmacol and Exp Therap* 2007; 321:148-57.
64. **Hoelen D, Spiering W, Valk G.** Long-QT syndrome induced by the antiaddiction drug ibogaine. *N Engl J Med* 2009; 360:308-09.

65. **Hough LB, Bagal AA, Glick SD.** Pharmacokinetic characterization of the indole alkaloid ibogaine in rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2000; 22:77-81.
66. **Hough LB, Pearl SM and. Glick SD.** Tissue distribution of ibogaine after intraperitoneal and subcutaneous administration. *Life Sci* 1996; 58:119-22.
67. **Huffman MA, Vitazkova SK.** Primates, plants, and parasites: the evolution of animal self-medication and ethnomedicine. *Ethnopharmacology* 2007. Available from: URL: <http://www.eolss.net/sample-chapters/c03/E6-79-19.pdf>
68. **Yordanov M, Dimitrova P, Patkar S, Falcocchio S, Xoxi E, Saso L, Ivanovska N.** Ibogaine reduces organ colonization in murine systemic and gastrointestinal *Candida albicans* infections. *J Medical Microbiol* 2005; 54:647-53.
69. **Jana GK, Sinha S.** Total synthesis of ibogaine, epiibogaine and their analogues. *Tetrahedron* 2012; 68:7155-65.
70. **Jeffcoat AR, Cook CE, Hill JM, Coleman DP, Pollack GM.** Disposition of [3H] ibogaine in the rat. *NIDA Res Monogr* 1994; 141:309.
71. **Jing-Hui L, Marsh RE.** LD50 determination of zinc phosphide toxicity for house mice and albino laboratory mice. *Proceedings of the thirteenth vertebrate pest conference* 1988; 91-94.
72. **Jones HE, Li H, Balster RL.** Failure of ibogaine to produce phencyclidine-like discriminative stimulus effects in rats and monkeys. *Pharmacol Biochem Behav* 1998; 59:413-18.
73. **Kam TS, Sim KM, Pang HS, Koyano T, Hayashi M, Komiyama K.** Cytotoxic effects and reversal of multidrug resistance by ibogan and related indole alkaloids. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 2004; 14:4487-89.
74. **Katzung BG.** Bendroji ir klinikinė farmakologija. Vilnius; 2007.
75. **Kazlauskas S, Kontrimavičiūtė V, Sveikata A.** Ibogaino vartojimas toksikomanijoms gydyti. *Neurocheminis ir farmakologinis veikimas. Medicina* 2004; 3:216-19.
76. **Khanna JM, Shah G, Weiner J, Wu PH, Kalant H.** Effect of NMDA receptor antagonists on rapid tolerance to ethanol. *Eur J Pharmacol* 1993b; 230:23-31.
77. **King SM, Tunnicliff G.** Na⁺ and Cl⁻ dependent [3H]GABA binding to catfish brain particles. *Biochem Int* 1990; 20:821-31.
78. **Klaasen CD, Amdur MO, Doull J,** editor. Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons. 3rd edition. New York: Macmillan Publishing Company; 1986. p. 582- 635.

79. **Koenig X, Kovar M, Boehm S, Sandtner W, Hilber K.** Anti-addiction drug ibogaine inhibits hERG channels: a cardiac arrhythmia risk. *Addiction Biology*, 2012.
80. **Kolesnikov YA, Maccocchi MK, Pasternak GW.** 1-aminocyclopropanecarboxylic acid (ACPC) prevents μ and λ opioid tolerance. *Life Sci* 1994; 55:1393-98.
81. **Kontrimavičiūtė V, Breton H, Barnay F, Mathieu-Daudé JC, Bressolle FMM.** Liquid chromatography-electrospray mass spectrometry determination of ibogaine and noribogaine in human plasma and whole blood. Application to a poisoning involving Tabernanthe iboga root. *J Chromatogr B* 2006; 843:131–41.
82. **Kontrimavičiūtė V, Breton H, Barnay F, Mathieu-Daudé JC, Bressolle FMM.** Liquid chromatography-electrospray mass spectrometry determination of ibogaine and 12-hydroxy-ibogamine in human urine. *Chromatogr* 2006b; 63:533-41.
83. **Kontrimavičiūtė V, Larroque M, Briedis V, Margout D, Bressolle F.** Quantitation of ibogaine and 12-hydroxyibogamine in human plasma by liquid chromatography with fluorimetric detection. *J Chromatogr B* 2005; 822: 285–93.
84. **Kontrimavičiūtė V, Mathieu O, Mathieu-Daudé JC, Vainauskas P, Casper T, Baccino E, Bressolle FMM.** Distribution of ibogaine and noribogaine in a man following a poisoning involving root bark of the Tabernanthe iboga shrub. *J Anal Toxicol* 2006a; 30:434–40.
85. **Kovar M, Koenig X, Mike A, Cervenka R, Lukács P, Todt H, Sandtner W, Hilber K.** The anti-addictive drug ibogaine modulates voltage-gated ion channels and may trigger cardiac arrhythmias. *BMC Pharmacol* 2011; 11 (suppl 2). (Meeting abstract).
86. **Layer RT, Skolnick P, Bertha CM, Bandarage UK, Kuehne ME, Popik P.** Structurally modified ibogaine analogs exhibit differing affinities for NMDA receptors. *Eur J Pharmacol* 1996; 309:159-65.
87. **Leal MB, Michelin K, Souza DO, Elisabetsky E.** Ibogaine attenuation of morphine withdrawal in mice: role of glutamate N-methyl-d-aspartate receptors. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2003; 27:781-85.
88. **Leal MB, Souza DO, Elisabetsky E.** Long-lasting ibogaine protection against NMDA-induced convulsions in mice. *Neurochem Res*, 2000; 25:1083-87.
89. **Ley FR, Jeffcoat AR and Thomas BF.** Determination of ibogaine in plasma by gas chromatography-chemical ionization mass spectrometry. *J Chromatogr* 1996; 723: 101–9.

90. **Levi MS, Borne RF.** A review of chemical agents in the pharmacotherapy of addiction. *Current Med Chem* 2002; 9:1807-18.
91. **Levant B, Pazdernik TL.** Differential effects of ibogaine on local cerebral glucose utilization in drug-naïve and morphine-dependent rats. *Brain Res* 2004; 1003:159-67.
92. **Lotsof HS, Alexander NE.** Case studies of ibogaine treatment: implications for patient management strategies. *The Alkaloids: Chemistry and Biology* 2001; 56:293-313.
93. **Lotsof HS, Sera ED, Kaplan CD.** Ibogaine in the treatment of narcotic withdrawal. The 37th International Congress on Alcohol and Drug Dependence, 1995.
94. **Luxton T, Parker LA, Siegel S.** Ibogaine fails to interrupt the expression of a previously established one-trial morphine place preference. *Prog Neuro-Psych Biol Psych* 1996; 20:857-72.
95. **Maas U, Strubelt S.** Fatalities after taking ibogaine in addiction treatment could be related to sudden cardiac death caused by autonomic dysfunction. *Medical Hypotheses* 2006; 67:960-964.
96. **Mach RH, Smith CR, Childers SR.** Ibogaine possesses a selective affinity for σ_2 receptors. *Life Sci* 1995; 57:57-62.
97. **Mačiulaitis R, Kontrimavičiūtė V, Bressolle FMM, Briedis V.** Ibogaine, an anti-addictive drug: pharmacology and time to go further in development. A narrative review. *Human & Exp Toxicol* 2008; 27:181-94.
98. **Maisonneuve IM, Glick SD.** Attenuation of the reinforcing efficacy of morphine by 18-methoxycoronaridine. *Eur J Pharmacol* 1999; 383:15-21.
99. **Maisonneuve IM, Glick SD.** Anti-addictive actions of an iboga alkaloid congener: a novel mechanism for a novel treatment. *Pharmacol Biochem Behav* 2003; 75:607-18.
100. **Maisonneuve IM, Keller RW Jr, Glick SD.** Blockade of morphine induced stimulation of mesolimbic and striatal dopamine release by ibogaine. *Soc Neurosci Abstr* 1990; 16:382.15.
101. **Maisonneuve IM, Keller Jr RW, Glick SD.** Interactions between ibogaine, a potential anti-addictive agent, and morphine: an in vivo microdialysis study. *Eur J Pharmacol* 1991a; 199:35-42.
102. **Maisonneuve IM, Keller Jr RW, Glick SD.** Interactions of ibogaine and D-amphetamine: in vivo microdialysis and motor behavior in rats. *Brain Res* 1992a; 579:87-92.
103. **Maisonneuve IM, Rossman KL, Glick SD.** Comparative interactions of ibogaine with opiate and stimulant drugs: in vivo microdialysis and motor behavior. *Soc Neurosci Abstr* 1991b; 17:268.1.

104. **Maisonneuve IM, Rossman KL, Keller RWJr, Glick SD.** Acute and prolonged effects of ibogaine on brain dopamine metabolism and morphine – induced locomotor activity in rats. *Brain Res* 1992b; 575:69-73.
105. **Maisonneuve IM, Visker KE, Mann GL, Bandarage UK, Kuehne ME, Glick SD.** Time-dependent interactions between iboga agents and cocaine. *Eur J Pharmacol* 1997; 336:123-26.
106. **Mash DC, Kovera CA, Buck BE, Norenberg MD, Shapshak P, Hearn WL and Sanchez-Ramos J.** Medication development of ibogaine as a pharmacotherapy for drug dependence. *Ann NY Acad Sci* 1998; 844:274-92.
107. **Mash DC, Kovera CA, Pablo J, Tyndale R, Ervin FR, Kamlet JD, Hearn WL.** Ibogaine in the treatment of heroin withdrawal. *The Alkaloids: Chemistry and Biology* 2001; 56:155-71.
108. **Mash DC, Kovera CA, Pablo J, Tyndale R, Ervin FR, Williams IC et al.** Ibogaine: complex pharmacokinetics, concerns for safety, and preliminary efficacy measures. *Ann NY Acad Sci* 2000; 914:394-401.
109. **Mash DC, Sanchez-Ramos J, Hearn WL.** Method of treating chemical dependency in mammals and a composition therefor. US patent 2003/0153552. 2003.
110. **Mash DC, Staley JK, Baumann MH, Rothman RB and Hearn WL.** Identification of a primary metabolite of ibogaine that targets serotonin transporters and elevates serotonin. *Life Sci* 1995; 57:45-50.
111. **Mash DC, Staley JK, Pablo J, Holohean AM, Hackman JC, Davidoff RA.** Properties of ibogaine and its principal metabolite (12-hydroxyibogamine) at the MK-801 binding site of the NMDA receptor complex. *Neurosci Lett* 1995a; 192:53-56.
112. **Mazoyer C, Carlier J, Peoc'h M, Lemeur C, Boucher A, Bévalot F, Guitton J, Gaillard Y.** Intoxication mortelle à l'iboga : quantification de l'ibogaïne et de l'ibogamine dans des racines d'iboga et dans des prélèvements post-mortem par CPG-SM/SM. *Ann Toxicol Anal* 2012; 24: 39-47.
113. **Molinari HH, Maisonneuve IM, Glick SD.** Ibogaine neurotoxicity: a re-evaluation. *Brain Res* 1996; 737:255-62.
114. **Moriarty RM, Efange SM.** Methods and compositions for preparing noribogaine from voacangine. US patent 2012/0253037. 2012.
115. **Neuss N.** Notes- Alkaloids from Apocynaceae II. Ibogaline, A New Alkaloid From *Tabernanthe Iboga* Baill. *J Org Chem* 1959; 24:2047-48.
116. **Obach RS, Pablo JP, Mash DC.** Cytochrome P4502D6 catalyzes O-demethylation of the psychoactive alkaloid ibogaine to 12-hydroxy-ibogamine. *Drug Metab Dispos* 1998; 26:764–68.

117. **O'Callaghan JP, Rogers TS, Rodman LE, Page JG.** Acute and chronic administration of ibogaine to the rat results in astrogliosis that is not confined to the cerebellar vermis. *Ann NY Acad Sci* 1996; 801:205-16.
118. **O'Hearn E, Long DB, Molliver ME.** Ibogaine induces glial activation in parasagittal zones of the cerebellum. *Neuro Report* 1993; 4:299-302.
119. **O'Hearn E, Molliver ME.** Degeneration of Purkinje cells in parasagittal zones of the cerebellar vermis after treatment with ibogaine or harmaline. *J Neurosci* 1993; 55:303-10.
120. **O'Hearn E, Molliver ME.** The olivocerebellar projection mediates ibogaine-induced degeneration of Purkinje cells: A model of indirect, trans-synaptic excitotoxicity. *J Neurosci* 1997; 17:8828-41.
121. **Pablo JP, Mash DC.** Noribogaine stimulates naloxone-sensitive [35S]GTP[gamma]S binding. *Neuropharmacology* 1998; 9:109-14.
122. **Pace CJ, Glick SD, Maisonneuve IM, He LW, Jokiel PA, Kuehne ME, Fleck MW.** Novel iboga alkaloid congeners block nicotinic receptors and reduce drug self-administration. *Eur J Pharmacol* 2004; 492:159-67.
123. **Pakaitinis gydymas vaistiniais opioidiniais preparatais.** Prieiga per internetą: <http://www.kplc.lt/index.php?id=73&lang=lt>
124. **Panchal V, Taraschenko OD, Maisonneuve IM, Glick SD.** Attenuation of morphine withdrawal signs by intracerebral administration of 18-methoxycoronaridine. *Eur J Pharmacol* 2005; 525:98-104.
125. **Pani L, Kuzmin A, Martellotta MC, Gessa GL, Fratta W.** The calcium antagonist PN 200-110 inhibits the reinforcing properties of cocaine. *Brain Res Bull* 1991; 26:445-47.
126. **Parker LA, Burton P, McDonald RV, Kim JA, Siegel S.** Ibogaine interferes with motivational and somatic effects of naloxoneprecipitated withdrawal from acutely administered morphine. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2002; 26:293-97.
127. **Pearl SM, Herrick-Davis K, Teitler M, Glick SD.** Radioligand-binding study of noribogaine, a likely metabolite of ibogaine. *Brain Res* 1995; 675:342-44.
128. **Pearl SM, Maisonneuve IM, Glick SD.** Prior morphine exposure enhances ibogaine antagonism of morphine-induced dopamine release in rats. *Neuropharmacol* 1996; 35:1779-84.
129. **Pearl SM, Hough LB, Boyd DL, Glick SD.** Sex differences in ibogaine antagonism of morphine-induced locomotor activity and in ibogaine brain levels and metabolism. *Pharmacol Bioch and Behav* 1997; 57:809-15.

130. **Pope HG.** Tabernanthe iboga: an African narcotic plant of social importance. *Econ Bot* 1969; 23:174-84.
131. **Popik P, Layer RT, Fossum LH, Benveniste M, Geterdouglass B, Witkin JM, Skolnick P.** NMDA antagonist properties of the putative antiaddictive drug, ibogaine. *J Pharmacol and Exp Therap* 1995; 275: 753-60.
132. **Popik P, Layer RT, Skolnick P.** The putative anti-addictive drug ibogaine is a competitive inhibitor of [3H]MK-801 binding to the NMDA receptor complex. *Psychopharmacol* 1994; 114:672-74.
133. **Popik P, Layer RT, Skolnick P.** 100 years of ibogaine: Neurochemical and pharmacological actions of a putative anti-addictive drug. *Pharmacol reviews* 1995a; 47:235-53.
134. **Popik P, Skolnick P.** Pharmacology of ibogaine and ibogaine-related alkaloids. *The Alkaloids: Chemistry and Biology* 1998; 52:197-231.
135. **Rabin RA, Winter JC.** Effects of ibogaine and noribogaine on phosphoinositide hydrolysis. *Brain Res* 1996; 713:226-29.
136. **Rabin RA, Winter JC.** Ibogaine and noribogaine potentiate the inhibition of adenylyl cyclase activity by opioid and 5-HT receptors. *Eur J Pharmacol* 1996b; 316:343-48.
137. **Rasmussen K, Fuller RW, Stockton ME, Perry KW, Swinford RM, Ornstein PL.** NMDA receptor antagonists suppress behaviors but not norepinephrine turnover or locus coeruleus unit activity induced by opiate withdrawal. *Eur J Pharmacol* 1991; 197:9-16.
138. **Rastogi N, Abaul J, Goh KS, Devallois A, Philogene E, Bourgeois P.** Antimycobacterial activity of chemically defined natural substances from the Caribbean flora in Guadeloupe. *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 1998; 20:267-73.
139. **Reid MS, Hsu K Jr., Souza KH, Broderick PA, Berger SP.** Neuropharmacological characterization of local ibogaine effects on dopamine release. *J Neural Transm* 1996; 103:967-85.
140. **Repke DB, Artis DR, Nelson JT.** Abbreviated ibogaine congeners. Synthesis and reactions of tropan-3-yl-2-and-3-indoles. Investigation of an unusual isomerization of 2-substituted indoles using computational and spectroscopic techniques. *J Org Chem* 1994; 59:2164.
141. **Rezvani AH, Overstreet DH, Yang Y, Maisonneuve IM, Bandarage UK, Kuehne ME, Glick SD.** Attenuation of alcohol consumption by a novel nontoxic ibogaine analogue (18-methoxycoronaridine) in alcohol preferring rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1997; 58:615-19.
142. **Rezvani AH, Overstreet DH, Lee YW.** Attenuation of alcohol intake by ibogaine in three strains of alcohol-preferring rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1995; 52:615-20.

143. **Rho B, Glick SD.** Effects of 18-methoxycoronaridine on acute signs of morphine withdrawal in rats. *Neuroreport* 1998; 9:1283-85.
144. **Richer EJ.** Ibogaine and the treatment of opiate addiction. In: Watson RR, editor. Complementary and alternative therapies and the aging population. Amsterdam: Elsevier Press; 2008. p. 393-427.
145. **Roberts E, Wong E, Svenneby G, Degener P.** Sodium-dependent binding of GABA to mouse brain particles. *Brain Res* 1978; 152:614-19.
146. **Rosenmund P, Haase WH, Bauer J, Frische R.** Ibogamin, ibogaine and epiibogamine. *Chem Ber* 1975; 180:1871-95.
147. **Scallet AC, Ye X, Rountree R, Nony P, Ali SF.** Ibogaine produces neurodegeneration in rat, but not mouse, cerebellum. *Ann NY Acad Sci* 1996; 801:217-26.
148. **Schneider JA, McArthur M.** Potentiation action of ibogaine (Bogadin TM) on morphine analgesia. *Cellular and molecular life sciences* 1956; 12:323-24.
149. **Schneider JA, Rinehart RK.** Analysis of the cardiovascular action of ibogaine hydrochloride. *Arch Inter Pharmacodyn Ther* 1957; CX: 92-102.
150. **Schneider JA, Sigg EB.** Neuropharmacological studies on ibogaine, an indole alkaloid with central-stimulant properties. *Ann NY Acad Scien* 1957a; 66:765-76.
151. **Sershen H, Harsing LD Jr, Hashim A, Lajtha A.** Ibogaine reduces amphetamine – induced locomotor stimulation in C57BL/6 by mice, but stimulates locomotor activity in rats. *Life Sci* 1992a; 51:1003-11
152. **Sershen H, Hashim A, Harsing L, Lajtha A.** Ibogaine antagonizes cocaine – induced locomotor stimulation in mice. *Life Sci* 1992b; 50: 1079-86.
153. **Sershen H, Hashim A, Lajtha A.** Ibogaine reduces preference for cocaine consumption in C57BL/6 by mice. *Pharmacol Biochem Behav* 1994; 47:13-19.
154. **Sershen H, Hashim A, Lajtha A.** Characterization of multiple sites of action of ibogaine. *The Alkaloids: Chemistry and Biology* 2001; 56:115-33.
155. **Sharma S, Bhargava HN.** Enhancement of morphine antinociception by ibogaine and noribogaine in morphine-tolerant mice. *Pharmacol* 1998; 57:229–32.
156. **Sharma SK, Klee WA, Nirenberg M.** Dual regulation of adenylate cyclase accounts for narcotic dependence and tolerance. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 1975; 72:3092-96.

157. **Sheppard SG.** A preliminary investigation of ibogaine: case reports and recommendations for further study. *J of Subst Abuse Treatment* 1994; 11:379-85.
158. **Silva EM, Cirne-Santos CC, Frugulhetti IC, Galvao-Castro B, Saraiva EM, Kuehne ME, Bou-Habib DC.** Anti-HIV-1 activity of the Iboga alkaloid congener 18-methoxycoronaridine. *Planta Medica* 2004; 70:808-12.
159. **Singbarth G, Zetler G, Schlosser L.** Structure – activity relationship of intracerebrally injected tremorigenic indole alkaloids. *Neuropharmacology* 1973; 12:239-44.
160. **Skolnick P.** Ibogaine as a glutamate antagonist: relevance to its putative antiaddictive properties. *The Alkaloids: Chemistry and Biology* 2001; 56:55-62.
161. **Snelders S, Kaplan C.** LSD therapy in Dutch psychiatry: changing socio-political settings and medical sets. *Medical History* 2002; 46:221-40.
162. **Staley JK, Ouyang Q, Pablo JP, Hearn WL, Flynn DD, Rothman RB, Rice KC and Mash DC.** Pharmacological screen for activities of 12-hydroxyibogamine: a primary metabolite of the indole alkaloid ibogaine. *Psychopharmacol* 1996; 127:10–18.
163. **Szumliński KK, Maisonneuve IM, Glick SD.** Differential effects of ibogaine on behavioural and dopamine sensitization to cocaine. *Eur J Pharmacol* 2000; 398:259-62.
164. **Sweetnam PM, Lancaster J, Snowman A, Collins J, Perschke S, Bauer C and Ferkany J.** Receptor binding profile suggests multiple mechanisms of action are responsible for ibogaine's putative anti-addictive activity. *Psychopharmacol* 1995; 118:369–76.
165. **Taylor WI.** Iboga alkaloids II. The structures of ibogaine, ibogamine and tarbernanthine. *J Am Chem Soc* 1957; 79:3298-99.
166. **Taraschenko OD, Panchal V, Maisonneuve IM, Glick SD.** Is antagonism of $\alpha 3\beta 4$ nicotinic receptors a strategy to reduce morphine dependence? *Eur J Pharmacol* 2005; 513:207-18.
167. **Taraschenko OD, Rubbinaccio HY, Shulan JM, Glick SD, Maisonneuve IM.** Morphine-induced changes in acetylcholine release in the interpeduncular nucleus and relationship to changes in motor behavior in rats. *Neuropharmacology* 2007a; 53:18-26.
168. **Taraschenko OD, Shulan JM, Maisonneuve IM, Glick SD.** 18- MC acts in the medial habenula and interpeduncular nucleus to attenuate dopamine sensitization to morphine in the nucleus accumbens. *Synapse* 2007b; 61:547-60.

169. **Touchette N.** Ibogaine neurotoxicity raises new questions in addiction research. *J NIH Res* 1993; 5: 50-55.
170. **Tozer TN, Rowland M.** Introduction to pharmacokinetics and pharmacodynamics. The quantitative basis of drug therapy. USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
171. **Trujillo KA, Akil H.** Inhibition of morphine tolerance and dependence by the NMDA receptor antagonist MK-801. *Science* 1991; 251:85-87.
172. **Zetler G, Singbarth G, Schlosser L.** Cerebral pharmacokinetics of tremor – producing harmala and iboga alkaloids. *Pharmacology* 1972; 7:237-48.
173. **Zubaran C, Shoaib M, Stolerman IP, Pablo J, Mash DC.** Noribogaine Generalization to the Ibogaine Stimulus: Correlation with Noribogaine Concentration in Rat Brain. *Neuropsychopharmacol* 1999; 21:119-26.
174. **Zubaran C.** Ibogaine and noribogaine: comparing parent compound to metabolite. *CNS Drug Rew* 2000; 6:219-40.
175. **Xu Z, Chang LW, Slikker W, Ali SF, Rountree RL, Scallet AC.** A dose-response study of ibogaine-induced neuropathology in the rat cerebellum. *Toxicol Sci* 2000; 57: 95-101.
176. **Wei D, Maisonneuve IM, Kuehne ME, Glick SD.** Acute iboga alkaloid effects on extracellular serotonin (5-HT) levels in nucleus accumbens and striatum in rats. *Brain Res* 1998; 800:260-68.
177. **Wenkert E, Cochran DW, Gottlieb HE, Hagaman EW.** ¹³C-NMR. Spectroscopy of naturally occurring substances: XXXV. Iboga alkaloids. *Helv Chim Acta* 1976; 59:2437-42.

DISERTACIJOS TEMA PASKELBTŲ PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS

Mokslo straipsniai, referuojamuose mokslo leidiniuose:

1. Kubilienė Asta, Marksienė Rūta, Kazlauskas Saulius, Sadauskienė Ilona, Ražukas Almantas, Ivanov Leonid. Acute toxicity of ibogaine and noribogaine. *Medicina. (Klinikiniai tyrimai)*. ISSN 1010-660X. 2008, t. 44, Nr. 12, p. 984-988.
2. Kubilienė Asta, Ivanauskas Liudas, Kiliuvienė Guoda, Marksienė Rūta, Sadauskienė Ilona, Ivanov Leonid. Cumulation of Tabernanthe Iboga alkaloid and its metabolite in organs of mice. *Journal of medicinal plant research. Academic Journals*. ISSN 1996-0875. 2012, vol. 6, iss. 11, p. 2194-2199.

Kviestiniai pranešimai ar kiti pranešimai, plenarinės paskaitos tarptautinėse ir nacionalinėse mokslinėse konferencijose:

1. Kubilienė Asta; Ivanauskas Liudas; Sadauskienė Ilona; Ivanov Leonid. Ibogaine and noribogaine distribution in the organs of mice by liquid chromatography and solid phase extraction. *Biomedical engineering – 2010 : Proceedings of International Conference : Kaunas University of Technology*, 28, 29 October 2010. ISSN 2029-3380. 2010, p. 150-154.
2. Kubilienė Asta; Sadauskienė Ilona; Ivanov Leonid; Marksienė Rūta; Ražukas Almantas. Study of acute toxicity of ibogaine and noribogaine. 2nd International Young Scientist Conference “The Vital Nature Sign“ proceedings : 21th May 2008 / Vytautas Magnus University. Kaunas : Technologija, 2008. (Biology). ISBN 9789955255185. p. 19-22, no. L-5.

Kitos publikacijos:

1. Kubilienė Asta; Sveikata Audrius; Sadauskienė Ilona; Ivanov Leonid. Pharmacokinetics of ibogaine and noribogaine. 1st meeting of the Baltic physiological societies : program and abstracts, May 10-11, 2013, Kaunas, Lithuania. ISBN 978-9955-15-275-0. p. 62-63.
2. Kubilienė Asta; Sadauskienė Ilona; Ivanov Leonid; Poškevičius Alius. Dviejų savaitių ibogaino ir noribogaino vartojimo įtaka pelių organų morfologiniams pokyčiams bei jų kūno masės kitimui. Lietuvos biochemikų draugijos XII konferencija „Biochemijos studijoms Lietuvoje – 50 metų“ : 2012 m. birželio 28–30 d, Tolieja (Molėtų raj.) / Lietuvos biochemikų draugija. Kaunas: Vytauto

- Didžiojo universiteto leidykla, 2012. (Pranešimų tezės.). p. 38, no. PS18, 28.
3. Kubilienė Asta; Sadauskienė Ilona; Ivanov Leonid; Pockevičius Alius. Effects of two weeks exposure of ibogaine and noribogaine on mouse organs : morphologic evaluation. FIP 2012. The Future of pharmacy, be part of the creation : [abstracts and posters] : 3-8 October, 2012, Amsterdam, The Netherlands. 2012. p. poster.
 4. Kubilienė Asta; Vainauskas Paulius; Marksa Mindaugas; Sadauskienė Ilona; Ivanov Leonid. Ibogaino ir Noribogaino toksiškos dozės ir pasiskirstymo pelių organuose tyrimas. IV nacionalinė doktorantų mokslinė konferencija „Mokslas – sveikatai“ : 2011 m. balandžio 7 d. : Konferencijos tezių rinkinys / Lietuvos sveikatos mokslų universitetas. Kaunas : Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, 2011. ISBN 978-9955-15-196-8. p. 14-15, Nr. 2.
 5. Kubilienė Asta; Sadauskienė Ilona; Ivanov Leonid. Ūmus ibogaino ir noribogaino toksiškumas. Lietuvos biochemikų draugijos X suvažiavimas-konferencija „Biochemija ir sistemų biologija“ : 2008 m. birželio 20–22 d. Tolieja (Molėtų raj.) / Lietuvos biochemikų draugija. Kaunas : Vytauto Didžiojo universiteto leidykla, 2008. (Pranešimų tezės). ISBN 9789955123682. p. 36-37, Nr. BM 11.27.