

DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-8-9-12

ОЦЕНКА ПРОТИВОСУДОРОЖНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ ДЕКАГИДРОХИНОЛИНА НА МОДЕЛИ ОСТРОЙ НИКОТИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

В. В. Гончарук, О. А. Борисенко, А. Л. Бубен,
А. Г. Шляхтун, В. П. Вдовиченко¹

Исследовали противосудорожную активность 10 производных декагидрохинолина на модели острой никотиновой интоксикации у мышей. Среди изученных 10 производных декагидрохинолина противосудорожной активностью обладают 3 соединения: ФАВ-66, ФАВ-69 и ФАВ-70. В дозе 1/4 LD₅₀ они укорачивают продолжительность никотиновой интоксикации в среднем на 22,2 %, $p < 0,005$, увеличивают латентный период судорог в среднем на 48,9 %, $p < 0,005$, понижают стадию судорог, оцениваемую по 4-балльной шкале, в среднем на 60,7 %, $p < 0,005$, а также уменьшают продолжительность судорог в среднем на 42,4 % при $p < 0,005$. Эффекты ФАВ-66 более выражены и сохраняются в дозе вплоть до 1/8 LD₅₀. Способность ФАВ-66 в эксперименте ослаблять токсическое действие никотина, вероятно, связана с блокадой н-холинорецепторов.

Ключевые слова: производные декагидрохинолина; противосудорожная активность; н-холинорецепторы; мыши.

ВВЕДЕНИЕ

Нейрональные н-холинорецепторы (н-ХР) — лиганд-зависимые образования, являющиеся пентамерными комплексами, состоящими из α (α_{2-7}) и β (β_{2-4}) субъединиц. Располагаются они пре- (регулируют высвобождение нейромедиаторов), пост- (обеспечивают быструю передачу нервного импульса), а также внесинаптически [11].

При стимуляции пресинаптических н-ХР дофаминергических нейронов центральной нервной системы последние высвобождают дофамин, что обуславливает формирование никотиновой зависимости. Бупропион — антидепрессант, ингибитор обратного захвата эpineфрина и дофамина, а также блокатор н-ХР. Он является эффективным лекарственным средством для лечения никотиновой зависимости, однако способен вызывать судороги, а также повышать артериальное давление [6]. Мекамиламин — ганглиоблокатор, хорошо проникающий в центральную нервную систему. Он способен блокировать н-ХР в головном мозге, применяется для лечения никотиновой зависимости. Однако, как и все ганглиоблокаторы, мекамиламин вызывает большое количество побочных эффектов и поэтому не считается средством выбора [12].

Как известно, никотин в высоких дозах обладает судорожной активностью [11]. Мутации, повышающие чувствительность н-ХР к ацетилхолину, являются предрасполагающим фактором для развития аутосомно-доминантной ночной лобной эпилепсии, а также

фебрильных судорог [7]. Никотин блокирует противосудорожное действие фенитоина и ламотриджина, а также снижает эффективность вальпроата, фенобарбитала и топирамата [9, 13].

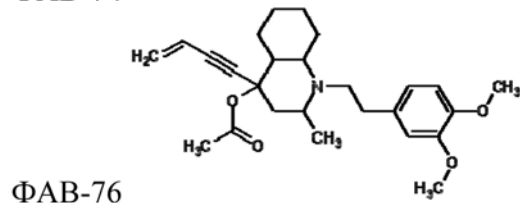
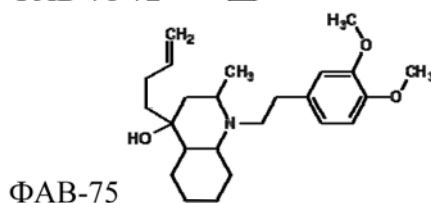
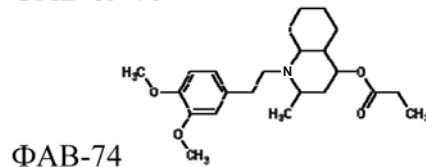
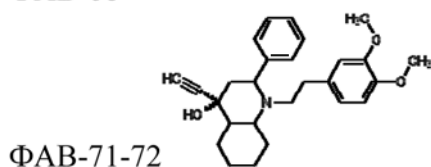
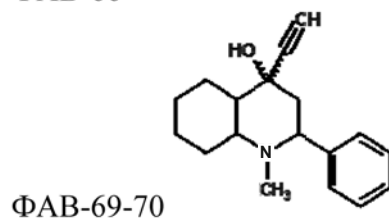
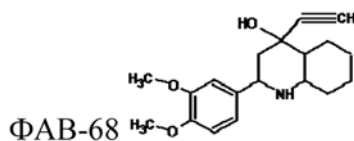
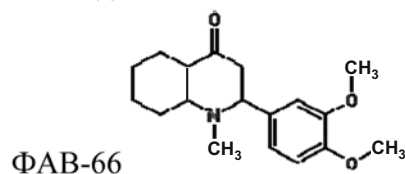
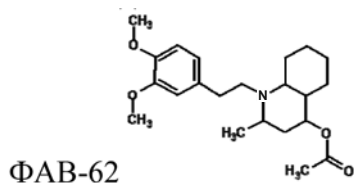
Таким образом, поиск новых блокаторов н-ХР, потенциально безопасных и пригодных для лечения пациентов с никотиновой зависимостью, а также эпилепсией, сохраняет свою актуальность. Одним из перспективных классов, обладающих выраженной биологической активностью, являются производные декагидрохинолина. В структурном отношении они близки к общеизвестным лекарственным веществам изохинолинового ряда — папаверину, дротаверину, мебеверину. У различных производных декагидрохинолина выявлены множественные (центральные и периферические) нейротропные эффекты [4]. Изучены анальгетические и психотропные свойства некоторых представителей этой группы [5]. Вышеизложенное послужило основанием для изучения противосудорожной активности новых производных декагидрохинолина на модели никотиновой интоксикации.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования — 10 производных декагидрохинолина, синтезированных в АО “Институт химических наук им. А. Б. Бектурова” (Алматы) под руководством академика К. Д. Пралиева. Каждое соединение обозначено лабораторным шифром ФАВ (фармакологически активное вещество) и порядковыми номерами. Структурные формулы изучаемых производных декагидрохинолина приведены ниже.

Доэкспериментальный этап — предикторный анализ острой токсичности 10 производных декагидрохи-

¹ УО “Гродненский государственный медицинский университет”, Беларусь, 230009, Гродно, ул. Горького, 80.



нолина *in silico* при помощи программного комплекса GUSAR Online Acute Toxicity Prediction [2].

Эксперименты проведены на 126 белых мышах обоего пола массой 35 – 40 г (виварий УО “Гродненский государственный медицинский университет”).

При проведении экспериментов руководствовались требованиями и методическими рекомендациями, изложенными в нормативных документах, принятых в международной практике биомедицинских исследований, в частности, этическими нормами, установленными Хельсинкской декларацией по гуманному обращению с животными.

Животных содержали в стандартных пластиковых клетках по 8 особей в каждой. Они имели свободный доступ к воде и корму *ad libitum*. Для проведения экспериментов формировали равноценные группы методом рандомизации по массе тела в качестве ведущего

признака. Каждая группа включала 6 – 8 мышей, что является достаточным для используемых статистических методов анализа.

Изучаемые производные декагидрохинолина малорастворимы, поэтому их разводили в смеси универсального поверхностно-активного вещества TWIN-80 (Sigma, Германия) с водой в соотношении 1:10 по объему. Соединения вводили однократно под кожу в дозе 1/4 от LD₅₀, спрогнозированной *in silico* (а в случае выявления эффективности еще и в дозе 1/8 LD₅₀) в объеме 20 мл/кг. Контрольные животные получали эквивалентное количество смеси TWIN-80 с водой. Через 30 мин вводили никотин (Sigma, Германия) подкожно в дозе 10 мг/кг (доза, при которой возникают судороги, но показатель летальности минимален) в 0,1 % водном растворе. В ходе наблюдения регистрировали продолжительность латентного периода судорог, никотиновой интоксикации, а также стадию судорог по 4-балльной шкале.

Шкала оценки стадии судорог имеет следующую градацию:

1 балл — легкий судорожный приступ с подергиванием конечностей;

2 балла — судорожный приступ (с пробежкой) с выраженной клонической фазой без падения животного на бок;

3 балла — судорожный приступ при выраженной клонической фазе с падением животного на бок;

4 балла — судорожный приступ при выраженной клонико-тонической фазе с падением животного на бок [1, 10].

Таблица 1. Расчетные значения LD₅₀ для грызунов, полученные с помощью программного комплекса GUSAR для серии соединений Ф АВ

Соединение	LD ₅₀ при подкожном введении, мг/кг
Ф АВ-62	97,290
Ф АВ-66	173,20
Ф АВ-68	846,3
Ф АВ-69	154,10
Ф АВ-71	188,30
Ф АВ-74	123,80
Ф АВ-75	128,30
Ф АВ-76	135,90

Противосудорожную активность производных декагидрохинолина сравнивали с эффектом диазепама (РУП Белмедпрепараты, Республика Беларусь). Диазепам вводили под кожу в дозе 1/4 от LD₅₀, спрогнозированной *in silico* в смеси TWIN-80 с водой в соотношении 1:10 (по объему), в объеме 20 мл/кг.

Статистическую обработку данных проводили с помощью компьютерной программы Statistica 6.0 (StatSoft. Inc.), а также в среде RStudio v. 0.99.491 (rev. 3.1.3). В первоначальном статистическом описании экспериментов определяли вид распределения показателей выборки. Поскольку последнее в большинстве групп данных отличалось от нормального, при описании количественных признаков использовали медианы (Me) и интерквартильные интервалы (значения 25-го и 75-го процентилей). Сравнение с контролем проводили с помощью непараметрического критерия Манна — Уитни. Процедуру множественных сравнений реализовывали с использованием критериев Крускала — Уоллиса и Двасса — Стила — Кричлоу — Флигнера (Dwass — Steel — Critchlow — Fligner): в случае, когда тест Крускала — Уоллиса показывал наличие статистически значимых различий между группами, проводилась процедура множественных апостериорных попарных сравнений методом Двасса — Стила — Кричлоу — Флигнера (Dwass — Steel — Critchlow — Fligner). Статистически значимым различие между оцениваемыми группами считалось при $p < 0,05$ [3, 8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для расчета доз использовались значения LD₅₀ исследованных веществ для грызунов, полученные с помощью программного комплекса GUSAR для серии соединений ФАВ (табл. 1).

В эксперименте никотин вызывает интоксикацию продолжительностью в среднем 44 мин, при этом латентный период судорог составляет 40 с, их стадия — 3,5 балла, а длительность — 153,5 с. На пике судорог регистрировали гибель животных ($\approx 15\%$) (табл. 2).

Наиболее выраженным противосудорожным действием на модели острой никотиновой интоксикации обладает соединение ФАВ-66. В дозе 1/4 LD₅₀ оно укорачивает продолжительность никотиновой интоксикации на 39 %, увеличивает латентный период судорог на 76 %, понижает их стадию до 1 балла, а также уменьшает продолжительность судорог в 3 раза. Гибель мышей, получавших ФАВ-66, на пике судорог не отмечается.

ФАВ-69 и ФАВ-70 оказывают менее выраженный эффект. ФАВ-69 в дозе 1/4 LD₅₀ укорачивает продолжительность никотиновой интоксикации на 9 %, увеличивает латентный период судорог на 16 %, понижает их стадию до 2 баллов, а также уменьшает продолжительность судорог на 36 %. ФАВ-70 аналогичным образом изменяет продолжительность никотиновой интоксикации и стадию судорог. Латентный период под его влиянием увеличивается на 7,5 %, а продолжительность судорог уменьшается на 13 %.

Остальные исследуемые соединения (ФАВ-62, ФАВ-68, ФАВ-71, ФАВ-72, ФАВ-74, ФАВ-75, ФАВ-76) не обладают противосудорожным действием на модели острой никотиновой интоксикации у мышей.

В меньшей дозе (1/8 LD₅₀) эффекты ФАВ-66 ослабевают. При этом на 20 % укорачивается продолжительность никотиновой интоксикации, латентный период судорог увеличивается на 34 %, их стадия снижается до 1 балла, а продолжительность судорог уменьшается в 2 раза. Гибель мышей, получавших ФАВ-66, на пике судорог не отмечается (табл. 2).

Таблица 2. Влияние производных декагидрохинолина в дозе 1/4 LD₅₀ (подкожно, однократно) на показатели острой никотиновой интоксикации у мышей, Me (25 %; 75 %)

Соединение, доза	Латентный период судорог, с	Стадия судорог, баллы	Продолжительность судорог, с	Продолжительность никотиновой интоксикации, мин
Контроль (TWIN-80 + вода)	40,0 (38,0, 41,5)	3,5 (3,0, 4,0)	153,5 (150,0, 157,5)	44,0 (40,5, 47,0)
Диазепам, 1/4 LD ₅₀	50,0 (48,5, 53,0)*	2,0 (2,0, 3,0)*	80,0 (76,0, 87,5)*	35,0 (33,5, 39,0)*
ФАВ-62, 1/4 LD ₅₀	40,5 (39,0, 42,0)	4,0 (3,0, 4,0)	153,0 (149,0, 157,0)	45,0 (43,0, 47,0)
ФАВ-66, 1/4 LD ₅₀	70,5 (68,5, 72,5)**	1,0 (1,0, 1,0)**	52,5 (49,5, 55,0)**	27,0 (25,5, 29,0)**
ФАВ-66, 1/8 LD ₅₀	53,5 (50,5, 56,0)*	1,0 (1,0, 1,5)*	85,5 (81,0, 89,5)*	35,0 (33,0, 36,5)*
ФАВ-68, 1/4 LD ₅₀	41,0 (38,0, 43,0)	3,5 (3,0, 4,0)	152,5 (150,0, 155,0)	46,5 (45,0, 47,0)
ФАВ-69, 1/4 LD ₅₀	46,5 (45,0, 49,0)*	2,0 (1,5, 2,0)*	99,0 (96,0, 102,5)*	40,0 (38,0, 41,0)*
ФАВ-70, 1/4 LD ₅₀	43,0 (42,0, 45,0)*	2,0 (1,0, 2,0)*	133,5 (129,5, 139,0)*	40,0 (40,0, 42,0)*
ФАВ-71, 1/4 LD ₅₀	38,5 (37,0, 41,0)	3,0 (3,0, 4,0)	150,0 (145,0, 155,0)	42,0 (40,0, 44,0)
ФАВ-72, 1/4 LD ₅₀	37,0 (33,0, 45,0)	3,0 (2,0, 4,0)	151,5 (142,0, 158,0)	43,5 (40,0, 45,0)
ФАВ-74, 1/4 LD ₅₀	41,0 (37,0, 44,0)	3,0 (3,0, 4,0)	151,0 (147,0, 156,0)	42,0 (40,0, 45,0)
ФАВ-75, 1/4 LD ₅₀	38,5 (35,0, 40,0)	3,5 (3,0, 4,0)	150,0 (145,0, 152,0)	45,0 (45,0, 50,0)
ФАВ-76, 1/4 LD ₅₀	40,0 (35,0, 45,0)	4,0 (3,0, 4,0)	150,5 (140,0, 158,0)	41,5 (35,0, 50,0)

Статистически значимые различия в сравнении: * с контролем ($p < 0,05$); ** с диазепамом ($p < 0,05$).

ФАВ-69 и ФАВ-70 не оказывают противосудорожного действия в дозе $1/8 LD_{50}$.

Для сравнения противосудорожной активности с диазепамом нами было отобрано соединение ФАВ-66. Диазепам в дозе $1/4 LD_{50}$ обладает противосудорожной активностью. При аналогичной дозировке ФАВ-66 оказывает более выраженное действие. Оно значительнее, чем диазепам, увеличивает латентный период, уменьшает выраженность судорог, их продолжительность, а также продолжительность никотиновой интоксикации (табл. 2).

На модели острой никотиновой интоксикации противосудорожную активность проявляют ФАВ-66, ФАВ-69 и ФАВ-70 в дозе $1/4 LD_{50}$. В наибольшей степени она выражена у первого соединения, превосходит аналогичные эффекты диазепама и сохраняется в дозе $1/8 LD_{50}$. ФАВ-62, ФАВ-68, ФАВ-71, ФАВ-72, ФАВ-74, ФАВ-75, ФАВ-76 не обладают противосудорожным действием.

Поскольку ФАВ-66 в эксперименте выражено ослабляет токсическое действие никотина (снижает продолжительность никотиновой интоксикации, стадию судорог, их продолжительность, увеличивает латентный период судорог, устраняет летальность), высока вероятность наличия у данного исследуемого соединения н-холиноблокирующей активности. Вышеизложенное может послужить основанием для дальнейшего целенаправленного его изучения как перспективного средства при эпилепсии, никотиновой зависимости, а также других состояниях, связанных с чрезмерной активацией н-ХР.

Также немаловажным аспектом, с точки зрения преимуществ применения, является липофильный характер молекулярной структуры производных декагидрохинолинов. Соединения такого рода могут найти применение в качестве пероральных лекарственных средств ввиду легкости их всасывания из желудочно-кишечного тракта.

ASSESSMENT OF THE ANTICONVULSANT ACTIVITY OF DECAHYDROQUINOLINE DERIVATIVES ON THE MODEL OF ACUTE NICOTINE INTOXICATION IN MICE

V. V. Goncharuk, O. A. Borisenok, A. L. Buben, A. G. Shlyakhtun, and V. P. Vdovichenko

Grodno State Medical University, ul. Gorkogo 80, Grodno, 230009 Belarus

The present study was aimed at evaluating the anticonvulsant activity of a series of ten decahydroquinoline derivatives on the model of acute nicotine intoxication in mice. Three of the ten studied compounds (FAC-66, FAC-69, and FAC-70) exhibited anticonvulsant activity. At a dose of $1/4 LD_{50}$, they shortened (by 22.2%, $p < 0.005$) the duration of nicotine intoxication, increased (by 48.9%, $p < 0.005$) the latent period of seizures, decreased their strength (by 60.7% according to 4-point scale, $p < 0.005$) and reduced duration (by 48.9%, $p < 0.05$). The effects of FAC-66 were more pronounced and retained at a dose decreased down to $1/8$ of LD_{50} . The anticonvulsant effect of FAC-66 at a dose of $1/4 LD_{50}$ was greater than that of diazepam. The ability of FAC-66 to neutralize the toxic effect of nicotine in experiment is probably associated with the blockade of n-choline receptors.

Keywords: decahydroquinoline derivatives; anticonvulsant activity; nicotine receptors; mice.

ВЫВОДЫ

1. Среди изученных 10 производных декагидрохинолина противосудорожной активностью обладают 3 соединения: ФАВ-66, ФАВ-69 и ФАВ-70.

2. Противосудорожное действие ФАВ-66 в дозе $1/4 LD_{50}$ превосходит таковое у диазепама на 41 % при $p < 0,05$.

3. Эффекты ФАВ-66 более выражены и сохраняются в дозе до $1/8 LD_{50}$.

ЛИТЕРАТУРА

1. Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. Хьюстон, *Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения*, Высшая школа, Москва (1991).
2. *Веб-сервис для прогнозирования острой токсичности химических веществ для млекопитающих*; [Электронный ресурс]; URL: <http://www.pharmaexpert.ru/GUSAR/acutoxpredict.html> (дата обращения 04.11.2013).
3. С. Э. Матицкий, В. К. Шитиков, *Статистический анализ и визуализация данных с помощью R*, Электронная книга; [Электронный ресурс]; URL: <http://r-analytics.blogspot.com> (дата обращения 01.09.2015).
4. С. С. Прихожий, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Смоленск (1985).
5. С. А. Тараков, К. Д. Пралиев, М. А. Абишев и др., *Изв. АН Каз. ССР Сер. хим.*, № 4, 36 – 39 (1985).
6. T. H. Ahern, M. A. Javors, D. A. Eagles, et al., *Neuropsychopharmacology*, **31**(4), 730 – 738 (2006); doi: 10.1038/sj.npp.1300847.
7. C. Ching, L. Cheng-Chun, H. Chao-Ching, et al., *Epilepsia*, **44**(8), 1089 – 1093 (2003); doi: 10.3390/ijms17081242.
8. D. E. Critchlow, M. A. Fligner, *Theory Methods*, **20**(1), 127 – 139 (1991); doi:10.1080/03610929108830487.
9. M. Czuczwar, J. Kiś, P. Czuczwar, et al., *Pol. J. Pharmacol.*, **55**(5), 799 – 802 (2003).
10. M. I. Damaj, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **291**(3), 1284 – 1291 (1999); doi: 10.1124/jpet.108.142976.
11. J. A. Dani, *Biol. Psychiatry*, **49**(3), 166 – 174 (2001).
12. T. Lancaster, L. F. Stead, *Cochrane Database Syst. Rev.*, № 2, CD001009 (2000).
13. P. Tutka, T. Mróz, J. Bednarski, et al., *Pharmacol. Reports*, **65**, 195 – 200 (2013); doi: 10.1371/journal.pone.0150270.

Поступила 21.04.19