

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-3-3-6

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОСУДОРОЖНЫХ И ПРОТИВОГИПОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГЕМИСУКЦИНАТА 2-ЭТИЛ-6-МЕТИЛ-3-ГИДРОКСИПИРИДИНА

С. А. Литвинова, Т. А. Воронина, И. С. Кутепова, Н. И. Авдюнина, Б. М. Пятин¹

Изучены противосудорожные и антигипоксические свойства гемисукцината (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина) в сравнении с мексидолом. Показано, что в тесте антагонизма с максимальным электрошоком гемисукцинат (50 и 100 мг/кг) превосходит по противосудорожному действию мексидол (200 мг/кг), что проявляется в защите животных от гибели и устранении тонической фазы судорог у мышей. В тесте антагонизма с коразолом гемисукцинат (50 и 100 мг/кг), в отличие от мексидола (200 мг/кг), не устраняет клонико-тонические судороги и не защищает животных от гибели. В условиях модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией в гермообъеме гемисукцинат (50 и 100 мг/кг), аналогично мексидолу (200 мг/кг), увеличивает время жизни животных. Полученные результаты свидетельствуют о различиях в спектре противосудорожной активности гемисукцината и мексидола.

Ключевые слова: мексидол; 3-гидроксипиридин; гемисукцинат; противосудорожная активность; антигипоксическая активность.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы в медицинской практике широкое применение для профилактики и лечения различных патологических состояний получили антиоксиданты мексидол и эмоксипин [11, 14]. Эмоксипин (3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридина хлорид) и мексидол (3-окси-6-метил-2-этилпиридина сукцинат) являются производными 3-гидроксипиридина (3-ГП), различаются только кислотой в составе соли. Однако кислоты обуславливают различия в фармакологических свойствах данных препаратов, например, различия в антигипоксической активности [5, 12–14, 16, 19]. Широкий спектр фармакологических эффектов мексидола позволяет с успехом применять его в клинической практике, в частности, при нарушении мозгового кровообращения и судорожных состояниях [1–3, 7–9].

В настоящее время изучена и доказана эффективность новых производных 3-ГП. Установлен спектр фармакологической активности оксалата, малоната, адипината, малеата и гемисукцината 3-ГП, их влияние на показатели свободнорадикального окисления белков и метаболические показатели в сыворотке крови экспериментальных животных в условиях модели иммобилизационного стресса [22]. Исследована гепатопротекторная активность производных 3-ГП — фумарата, никотината, гемисукцината и адипината. Она проявляется в снижении степени выраженности цитолитического и холестатического синдромов, а также в восстановлении морфологической структуры печени [17, 18, 20]. На модели острой ишемии (односторонняя перевязка левой сонной артерии) в условиях сочетанных метаболических на-

рушений обнаружено, что производное 3-ГП ацетилцистеинат снижает выраженность неврологической симптоматики, оказывает нейропротективный эффект, а также гипогликемическое и гипополипидемическое действие [4]. На модели сахарного диабета выявлена гипогликемическая и гипополипидемическая активность фумарата и никотината 3-ГП [21].

Очевидно, что модификация химической структуры производных 3-ГП приводит к изменению фармакологических свойств этих веществ, а расширение представления о спектре их фармакологического действия представляется интересным и перспективным для дальнейшего изучения и создания новых лекарственных средств. Следует отметить, что в литературе отсутствуют сведения о противосудорожной активности производных 3-ГП.

Настоящая работа посвящена исследованию противосудорожных, антигипоксических свойств гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (производного 3-ГП) в сравнении с мексидолом.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте использовали аутбредных мышей-самцов (164 особи) массой 22–25 г, полученных из питомника “Столбовая” ГУ НЦБМТ (Московская область). Организация и проведение работ осуществлялись в соответствии с приказом Минздрава России № 199 от 01 апреля 2016 г. “Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики” и “Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях” от 18 марта 1986 г. (Страсбург). Животных содержали в соответствии с СП 2.2.1.3218-14 “Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содер-

¹ ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова”, Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

жанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)” от 29 августа 2014 г. № 51. Проведение эксперимента одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова”.

В исследовании использовали субстанции мексидола и гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина, синтезированные в опытно-технологическом отделе ФГБНУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова” (зав. отделом — Б. М. Пятин). В качестве вещества, вызывающего судороги, применяли пентилентетразол (коразол) фирмы “Sigma” (США).

Гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина и мексидол вводили внутривентриально (в/в) однократно за 30 мин до предъявления теста. Контрольным животным вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме. Дозы гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина и мексидола были выбраны с учетом ранее полученных в НИИ фармакологии им. В. В. Закусова результатов. Показано, что гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина проявляет цереброваскулярную и противоишемическую активность в дозе 100 мг/кг, а мексидол — противосудорожную и цереброваскулярную — в дозе 200 мг/кг.

Оценку противосудорожной активности соединений проводили в опытах на мышах с использованием стандартных базисных моделей первично-генерализованной эпилепсии — методика антагонизма с максимальным электрошоком и методика антагонизма с коразолом, которые используются в России [9] и за рубежом [23].

Тест максимального электрошока (МЭШ) проводили на установке Rodent Shocker RS type 221 (Harvard Apparatus, GmbH). Мышам через специальные корнеальные электроды осуществляли электростимуляцию (250 В/12 мА, продолжительность 0,2 с). В результате у животных развивались первично-генерализованные судороги, выражающиеся в развитии тонической экстензии передних и задних конечностей. Большое количество животных погибало. Для оценки противосудорожного эффекта использовали балльную систему: 0 баллов — отсутствие судорог; 1 балл — наличие клонических судорог; 2 балла — тонус передних конечностей и клонические подергивания задних конечностей; 3 балла — тоническая экстензия задних конечностей; 4 балла — гибель животных.

В тесте антагонизма с коразолом через 30 мин после введения мышам гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина или мексидола в область шейного отдела спины под кожу вводили коразол (100 мг/кг). Животных наблюдали в течение 120 мин после инъекции коразола с регистрацией латентного времени (ЛП) первого генерализованного приступа с утратой рефлекса переворачивания, времени гибели и количества выживших мышей. В случае отсутствия судорожных реакций у животных латентный период принимали равным 120 мин.

Исследования противогипоксических свойств препаратов осуществляли с использованием методики нормобарической гипоксии с гиперкапнией, согласно руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств [9]. Мышей с одинаковой массой тела (разброс не более 2 г на группу) помещали поодиночке в герметически закрываемые банки объемом 200 см³ и регистрировали время их жизни. Регистрацию эффектов осуществляли через 30 мин после введения соединений.

Статистический анализ проводили с помощью программы “БИОСТАТ” с использованием критерия Манна — Уитни для сравнения 2 независимых групп. Долевые изменения количественных показателей оценивали с помощью точного критерия Фишера. В таблицах данные представлены в виде $M \pm SEM$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В тесте МЭШ электросудорожное раздражение через корнеальные электроды вызывало у 100 % мышей контрольной группы первично-генерализованные судороги, которые выражались в тонической экстензии передних и задних конечностей. При этом гибель животных составила 80 %, а выраженность судорожных проявлений — 3,67 балла (табл. 1). Гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (50 и 100 мг/кг) при введении за 30 мин до МЭШ значительно снижал количество животных с тонической экстензией задних конечностей, достоверно уменьшая выраженность судорожных проявлений в баллах, по сравнению с животными контрольной группы. Число летальных исходов после введения гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина в дозе 50 мг/кг снизилось на 47 %, в дозе 100 мг/кг — на

Таблица 1. Влияние гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина и мексидола на судороги, вызванные МЭШ (250 В; 12 мА; 0,2 с)

Группа животных, их количество	Доза, мг/кг	Баллы	% животных с тонической фазой судорог	Выживаемость, %
Контроль, 10	—	3,67 ± 0,62	90	20
Гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидрокси- пиридина, 9	50	2,78 ± 0,97*	45	67 [#]
Гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидрокси- пиридина, 9	100	2,56 ± 0,88*	33 [#]	78 [#]
Контроль, 8	—	3,76 ± 0,17	100	12,5
Мексидол, 8	100	3,71 ± 0,19	100	25
Мексидол, 8	200	3,25 ± 0,16	62,5	75 [#]

* Достоверность отличий, по сравнению с контролем при $p < 0,05$ (критерий Манна — Уитни); [#] достоверность отличий по сравнению с контролем при $p < 0,05$ (критерий Фишера).

58 % относительно контрольных значений (табл. 1). Мексидол в дозе 100 мг/кг не влиял на выраженность судорожных проявлений, регистрируемых в баллах, и не предотвращал гибель животных. При введении мексидола в дозе 200 мг/кг выраженность судорожных проявлений оставалась на уровне контрольных значений, но статистически достоверно на 55 % снижалась гибель животных (табл. 1).

В тесте антагонизма с коразолом показано, что в контрольных группах мышей ЛП наступления первого приступа генерализованных клонических судорог после введения вещества в дозе 100 мг/кг составило от 7,6 до 19 мин. Продолжительность жизни контрольных животных в 2 экспериментальных сериях составляла 30,11 и 65,75 мин, а доля выживших — 33 и 56 %, соответственно (табл. 2).

Гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (50 и 100 мг/кг) не увеличивал ЛП наступления первой судорожной реакции, долю выживших мышей, что свидетельствует об отсутствии противосудорожного действия в тесте антагонизма с коразолом (табл. 2). Мексидол (100 мг/кг) не изменял время наступления первых приступов судорог и ЛП гибели животных, но в дозе 200 мг/кг статистически достоверно увеличивал продолжительность жизни и долю выживших животных до 75 % (табл. 2).

В тесте нормобарической гипоксии с гиперкапнией в гермообъеме среднее время продолжительности жизни животных в контрольной группе составило 23,5 мин (табл. 3). Гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (50 и 100 мг/кг) статистически достоверно по сравнению с контролем увеличивал на 2,8 – 2,9 мин время жизни мышей в герметично закрытых емкостях (табл. 3). Мексидол (100 мг/кг) не изменял показатели выживаемости животных относительно контрольных значений, но статистически достоверно увеличивал продолжительность жизни мышей при введении в дозе 200 мг/кг (на 2,7 мин). Таким образом, в тесте нормобарической гипоксии с гиперкапнией гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина проявляет сходный с мексидолом антигипоксический эффект, но в меньших дозах (табл. 3).

Таким образом, противосудорожное действие гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина, регист-

рируемое в тестах антагонизма с МЭШ и коразолом, отличается от эффектов мексидола. В тесте МЭШ гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина в дозах 50 и 100 мг/кг (однократно, в/б) обладает статистически достоверным противосудорожным эффектом, по выраженности действия превосходящим эффект мексидола в дозе 200 мг/кг. В отличие от мексидола, гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина не только защищает животных от гибели в ответ на проведение электросудорожного разряда, но и устраняет тоническую фазу судорог у 67 % животных. В тесте антагонизма с коразолом гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина в обеих исследованных дозах не защищает от развития групповых тонико-клонических судорог и гибели животных в отличие от мексидола, демонстрирующего противосудорожный эффект на данной модели. Известно, что механизм противосудорожного действия мексидола определяется его влиянием на процессы свободно-радикального окисления, клеточную гипоксию и усиление действия ГАМК. Установлено, что ГАМК-ергический механизм регуляции тонуса сосудов мозга лежит в основе сосудорасширяющего противоишемического эффекта мексидола [10, 15]. Мексидол не обладает аффинитетом к ГАМК-рецепторам, но усиливает их способность к связыванию с лигандом, являясь, таким образом, аллостерическим модулятором [24, 25]. Отсутствие противосудорожного эффекта гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина в тесте коразоловых судорог, возможно, связано с изменением воздействия соединения на ГАМК-комплекс. Сравнительное исследование эффектов гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина с мексидолом в тесте нормобарической гипоксии с гиперкапнией в гермообъеме выявило тождественность по выраженности противогипоксического действия, но есть отличие в активности. У мышей, получавших гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина, противогипоксический эффект развивается в меньших дозах — 50 и 100 мг/кг.

ВЫВОДЫ

1. Противосудорожный эффект гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина в дозах 50 и 100 мг/кг на модели судорог, вызванных МЭШ, превосходит действие мексидола в дозе 200 мг/кг, что проявля-

Таблица 2. Влияние гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина и мексидола на судороги, вызванные коразолом

Группа животных, их количество	Доза, мг/кг	ЛП, мин		Выживаемость, %
		приступа	гибели	
Контроль (коразол), 9	–	19 ± 10,44	65,75 ± 15,64	56
Гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина, 9	50	9,44 ± 7,23	65,44 ± 49,32	45
Гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина, 9	100	3,44 ± 2,27	77,56 ± 48,03	56
Контроль (коразол), 9	–	8,11 ± 2,28	38,15 ± 7,32	33
Мексидол, 8	100	7,45 ± 1,95	32,17 ± 6,83	25
Мексидол, 8	200	7,87 ± 2,45	65,34 ± 8,22*	75

* Достоверность отличий по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$ (критерий Манна — Уитни).

Таблица 3. Влияние гемисукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина и мексидола на выживаемость животных в тесте нормобарической гипоксии с гиперкапнией в гермообъеме (баночная гипоксия)

Группа животных, их количество	Доза, мг/кг	Время жизни, мин
Контроль, 10	–	19,7 ± 2,63
Гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина, 15	50	22,67 ± 4,31*
Гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина, 10	100	22,5 ± 2,07*
Контроль, 8	–	23,3 ± 0,71
Мексидол, 9	100	22,88 ± 1,06
Мексидол, 8	200	26,0 ± 0,53*

* Достоверность отличий значений по сравнению с контролем при $p < 0,05$ (критерий Манна — Уитни).

ется в защите животных от гибели и в устранении тонической фазы судорог у мышей.

2. Гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина в дозах 50 и 100 мг/кг не устраняет клонико-тонические судороги, вызванные коразолом, и не защищает от гибели животных, в отличие от мексидола (200 мг/кг), при введении которого увеличивается продолжительность жизни и выживаемость животных.

3. В условиях модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией в гермообъеме гемисукцинат 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина в дозах 50 и 100 мг/кг, аналогично мексидолу в дозе 200 мг/кг, увеличивает время жизни животных в среднем на 15 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. Г. Авакян, Л. Н. Неробкова, О. М. Олейникова и др., *Эпилепсия и пароксизмальные состояния*, **3**(2), 34 – 44 (2011).
2. А. Н. Алиев, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, (1987).
3. О. Л. Бадалян, Г. Н. Авакян, Т. А. Воронина, Л. Н. Неробкова, *Труды II Восточно-европейской конференции “Эпилепсия и клиническая нейрофизиология”*, Гурзуф (2000), сс. 260 – 262.
4. С. Ю. Букина, *Дис. канд. мед. наук*, Саранск (2008).
5. Т. А. Воронина, *Психофармакология и биологическая наркологи́я*, № 1, 2 – 11 (2001).
6. Т. А. Воронина, *Фарматека*, **180**(6), 1 – 4 (2009).
7. Т. А. Воронина, Л. Д. Смирнов, А. Н. Алиев и др., *Фармакол. и токсикол.*, **1**, 27 – 30 (1987).
8. Т. А. Воронина, *Ж. неврол. и психиатр.*, **12**, 86 – 90 (2012).
9. Т. А. Воронина, Л. Н. Неробкова, *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Часть первая, Гриф и К, Москва (2012).
10. А. В. Гнездилова, Т. С. Ганьшина, Р. С. Мирзоян, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **73**(10), 11 – 13 (2010).
11. К. М. Дюмаев, Т. А. Воронина, Л. Д. Смирнов, *Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС*, Ин-т биомед. химии РАМН, Москва (1995).
12. В. И. Капелько, *Рус. мед. ж.*, **11**(21), 1185 – 1188 (2003).
13. Л. Д. Лукьянова, *Вестник Рос. акад. мед. наук*, № 3, 18 – 25 (1999).
14. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Новая Волна, Москва (2000).
15. Р. С. Мирзоян, Т. С. Ганьшина, А. А. Горбунов и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **80**(9), 35 – 39 (2017).
16. Н. В. Миронов, *Кремлевская медицина*, № 2, 27 – 29 (2001).
17. Е. В. Семенова, В. И. Инчина, А. В. Семенов и др., *Материалы выездного пленума Научного общества гастроэнтерологов России*, Москва (2007), сс. 23 – 24.
18. Е. В. Семенова, А. В. Семенов, *XXX Итоговая конференция общества молодых ученых МГМСУ*, Москва (2008), сс. 299 – 300.
19. А. В. Смирнов, Б. И. Криворучко, *Анестезиол. и реаниматол.*, № 2, 50 – 55 (1998).
20. А. А. Усанова, Е. В. Семенова, В. И. Инчина и др., *Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.*, **19**(1), 114 (2009).
21. Т. В. Уланова, В. И. Инчина, Н. С. Русейкин и др., *Вестник Мордовского университета*, **26**(2), 180 – 191 (2016).
22. И. В. Чечет, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Саранск (2010).
23. A. Pitkänen, P. A. Schwartzkroin, S. L. Moshé, *Models of Seizures and Epilepsy*, Academic Press (2005).
24. S. B. Seredenin, Y. A. Blednov, M. L. Gordey, et al., *Chem. Pharm. J.*, № 2, 134 – 137 (1987).
25. Т. А. Воронина, S. B. Seredenin, *Ann. Ist. Super Sanita*, № 24, 461 – 466 (1988).

Поступила 19.10.17

STUDYING THE ANTICONVULSANT AND ANTIHYPOXIC PROPERTIES OF 2-ETHYL-6-METHYL-3-HYDROXYPYRIDINE HEMISUCCINATE

S. A. Litvinova, T. A. Voronina, I. S. Kutepova, N. I. Avdyunina, and B. M. Pyatin

Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315 Russia

The anticonvulsant and antihypoxic effects of (2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine) hemisuccinate have been studied in comparison to succinate (mexidol). Hemisuccinate (50 and 100 mg/kg) showed superior anticonvulsant properties in the maximal electroshock (MES) test in comparison to mexidol (200 mg/kg), as manifested both in protecting from death and eliminating the tonic phase of seizures in mice. At the same time, in contrast to mexidol (200 mg/kg), hemisuccinate (50 and 100 mg/kg) did not eliminate clonic-tonic convulsions in the corazole antagonism test and did not protect mice against death. Hemisuccinate (50 and 100 mg/kg) prolonged animal life as well as mexidol (200 mg/kg) under the conditions of normobaric hypoxia model with hypercapnia in a hermetic volume. The results indicate that hemisuccinate and mexidol exhibit differences in their anticonvulsant activity spectra.

Keywords: mexidol; 3-hydroxypyridine; hemisuccinate; anticonvulsant activity; antihypoxic activity.