

НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-8-3-8

ПРОТИВОСУДОРОЖНАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ДИБЕНЗОФУРАНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

И. С. Кутепова, С. А. Литвинова, Т. А. Воронина, Л. Н. Неробкова,
Г. В. Мокров, Л. А. Жмуренко¹

Представлены результаты скрининга производных оксима дибензофуранона в тестах антагонизма с максимальным электрошоком (МЭШ) и коразолом. Установлено, что соединения производных дибензофурана обладают противосудорожной активностью и способны предотвращать генерализованные тонико-клонические судороги, вызванные МЭШ, и групповые клонические судороги, вызванные коразолом. В тесте антагонизма с МЭШ соединения ГИЖ-276, ГИЖ-327, ГИЖ-328, ГИЖ-310А и ГИЖ-332 при однократном внутривенном введении в диапазоне доз от 5 до 100 мг/кг предотвращают тоническую фазу судорожных проявлений и увеличивают выживаемость мышей на 36 – 60 % относительно соответствующих контрольных значений. В тесте антагонизма с коразолом соединения ГИЖ-276, ГИЖ-272 и ГИЖ-332 увеличивают латентное время наступления судорог в среднем на 45, 75 и 125 %, соответственно. После введения коразола мышам наблюдается 100 % защитный эффект от гибели только у ГИЖ-332 (20 мг/кг). Таким образом, соединения производных дибензофурана обладают выраженной противосудорожной активностью преимущественно в отношении так называемых “больших” (Grand mal) судорожных припадков, моделируемых МЭШ. Противосудорожная активность в обоих тестах наблюдается у соединений ГИЖ-276, ГИЖ-272 и ГИЖ-332. В условиях теста нормобарической гипоксии с гиперкапнией противогипоксической активностью обладает только ГИЖ-276.

Ключевые слова: производные дибензофурана; противосудорожная активность; тест максимального электрошока; тест антагонизма с коразолом; нормобарическая гипоксия; мыши.

ВВЕДЕНИЕ

В России зарегистрировано и разрешено к применению более 30 противоэпилептических препаратов (ПЭП), но ни один из этих препаратов не является уникальным, применяемым при всех видах эпилепсии. Появление новых современных ПЭП не приблизили решение проблемы излечимости эпилепсии, так как количество пациентов с фармакорезистентной эпилепсией остается по-прежнему значительным, составляя, по разным оценкам, 25 – 30 % от общего числа лиц с этим заболеванием [1, 4]. Таким образом, поиск новых оригинальных молекул с противосудорожной активностью не утрачивает своей актуальности.

В ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” на протяжении многих лет ведутся работы по поиску новых молекул для лечения эпилепсии. В настоящей статье представлены результаты исследования по скринингу оригинальных соединений с потенциальной противосудорожной активностью в ряду производных дибензофурана. Производные бензофурана об-

ладают широким спектром фармакологических эффектов и хорошо известны в России и за рубежом. Наиболее известное производное дибензофурана — 2,6-usnic acid (2,6-диацетил-7,9-дигидрокси-8,9-диметил-1,3-[2H,9bH]дибензофурандион) – обладает широким спектром фармакологических эффектов: гастропротекторным, кардиопротекторным (кардиоваскулярным) и антиоксидантным [5], цитопротекторным [7], иммуностимулирующим, противомикробным [12], противовоспалительным [9] и антиканцерогенным [6] действием. Противоэпилептической активностью обладает дериват дибензофурана, галантамин, выделенный в 1951 г. М. Д. Машковским из луковиц подснежника, который проходит III стадию клинических исследований у пациентов с болезнью Альцгеймера [10, 15]. В настоящее время в ряду производных дибензофурана синтезированы соединения, обладающие нейропротективной активностью [11, 14].

Целью исследования было изучение противосудорожной активности новых производных дибензофурана в базисных тестах скрининга — антагонизма с максимальным электрошоком (МЭШ) и коразолом в экспериментах на мышах.

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

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на белых беспородных мышках-самцах массой 20–26 г, полученных из питомника “Столбовая” ГУ НЦБМТ (Московская область). Организацию и проведение работ осуществляли в соответствии с приказом Минздрава России № 199 от 01 апреля 2016 г. “Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики”. Животных содержали в соответствии с СП 2.2.1.3218-14 “Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологи-

Таблица 1. Влияние производных дибензофурана на судороги у мышей, вызванные МЭШ

Группа	Доза, мг/кг	Число мышей без тонических судорог и выживших / число мышей в группе	% мышей без тонических судорог и выживших
Контроль	-	0/23	0
ГИЖ-276	5	0/6	0
	10	1/6	17
	20	5/14*	36*
	30	8/16*	50*
	40	4/8*	50*
	60	4/8*	50*
	80	2/8	25
	100	4/8*	50*
Контроль	-	9/25	36
ГИЖ-328	40	6/8 [#]	75 [#] ($p = 0,1$)
	60	7/9*	78*
Контроль	-	6/15	40
ГИЖ-332	5	8/10	80 [#] ($p = 0,099$)
	10	9/10	90*
Контроль	-	6/19	32
ГИЖ-332	20	4/10	40
	40	13/18*	72*
ГИЖ-272	20	10/15	67 [#] ($p = 0,082$)
	40	2/8	25
Контроль	-	2/8	25
ГИЖ-327	5	1/6	16,7
	20	1/6	16,7
Контроль	-	3/14	21
ГИЖ-327	30	7/8*	87,5*
	40	4/6	66,6*
	60	9/14	64 [#] ($p = 0,054$)
Контроль	-	0/8	0
ГИЖ-310А	5	1/8	12,5
	20	3/8	37,5
	50	4/8 [#]	50 [#] ($p = 0,077$)
Контроль	-	5/10	50
ГИЖ-333	2.5	3/10	30
	20	6/10	60
	40	3/10	30

* Достоверность отличий от контрольной группы при $p \leq 0,05$ (точный критерий Фишера);

[#] тенденция к достоверности отличий от контрольной группы при $p \leq 0,1$ (точный критерий Фишера).

ческих клиник (вивариев)” от 29 августа 2014 г. № 51. Проведение экспериментов одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” (протокол № 6 от 16 апреля 2018 г.).

Противосудорожное действие производных О-окси-ма 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2H)-она (рис. 1) исследовали на моделях первично-генерализованных судорог — антагонизма с МЭШ, моделирующего так называемые “большие” (Grandmal) судорожные припадки, и коразолом, моделирующим “малые” (Petit mal) судорожные припадки [2, 12].

МЭШ создавали с использованием сертифицированной установки “Rodent Shocker RS”, type 221 (Harvard Apparatus, GmbH, Германия). Животные через специальные корнеальные электроды получали электрические стимулы (режим 250 В/мА: 12/13/14 мА, длительностью 0,2 с). Регистрировали следующие показатели: тоническую экстензию задних и передних конечностей и гибель животных. Противосудорожный эффект заявляемых соединений оценивали по способности предупреждать развитие тонической экстензии и гибель животных. Соединения вводили внутривентриально за 40 мин до проведения МЭШ.

Для создания коразоловых судорог животным подкожно в область шейного отдела спины вводился коразол (пентилентетразол, Sigma Aldrich) в дозе 110 мг/кг. Коразол вводили через 40 мин после введения исследуемых соединений и затем осуществляли регистрацию судорог в течение 60–120 мин. Регистрировали латентный период первого генерализованного приступа с потерей рефлекса переворачивания (ЛП), время гибели и число погибших животных.

Противогипоксический эффект производных дибензофурана изучали на модели гипоксии с гиперкапнией в гермообъеме, модели баночной гипоксии [3]. Животных помещали в банку объемом 250 мл, плотно закрытую крышкой, герметично зафиксированную парафиновой пленкой. Регистрировали продолжительность жизни животных секундомером.

Во всех тестах каждую дозу соединения исследовали на 6–25 животных. Опытным группам внутривентриально однократно вводили исследуемые вещества, растворенные в физиологическом растворе с твином-80. Контрольным животным внутривентриально вводили растворитель в эквивалентном объеме.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью MS Excel 2010 и MS ExcelStat 2014. Достоверность различий значений между группами определяли с помощью непараметрических критериев Манна — Уитни, Краскала — Уоллиса и точного критерия Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение влияния соединений производных дибензофурана на судороги, вызванные МЭШ, показало, что

ГИЖ-276 при однократном введении достоверно увеличивает показатель выживаемости на 50 % в дозах 30, 40, 60 и 100 мг/кг относительно контроля. В дозах 5, 10 и 80 мг/кг исследуемое соединение не оказывало влияния на показатель выживаемости (табл. 1).

Увеличению выживаемости мышей на 42 % относительно контроля ($p \leq 0,05$) после судорог, вызванных МЭШ, способствовало соединение ГИЖ-328 при введении его в дозе 60 мг/кг. При этом при снижении дозы до 40 мг/кг эффективность ГИЖ-328 падала, что проявлялось в увеличении числа выживших мышей на 39 % ($p \leq 0,1$) относительно контрольных значений (табл. 1).

ГИЖ-272 при введении мышам в дозе 20 мг/кг увеличивал показатель выживаемости животных на 35 %, имевший тенденцию к статистической достоверности, но при увеличении дозы в 2 раза эффективность исчезала (табл. 1).

Изучение влияния ГИЖ-327 на судороги, вызванные МЭШ, показало, что соединение в дозах 30 и 40 мг/кг способствует устранению тонических судорог, тем самым увеличивая показатель выживаемости на 45,6 – 66,5 % ($p \leq 0,05$). С повышением дозы до 60 мг/кг эффективность соединения снижалась: ГИЖ-327 защищал от гибели 43 % мышей ($p = 0,054$). В низких дозах 5 и 20 мг/кг противосудорожный эффект ГИЖ-327 не проявлялся.

Изучение влияния ГИЖ-310А на судороги, вызванные МЭШ, показало, что соединение в дозе 50 мг/кг способствовало увеличению выживаемости животных на 50 % ($p \leq 0,1$), не достигшее, однако, статистической достоверности. В дозах 5 и 20 мг/кг не наблюдалось защитного эффекта ГИЖ-310А на развитие судорожных проявлений и, как следствие, на выживаемость.

Противосудорожный эффект соединения ГИЖ-332 проявлялся при введении в диапазоне низких доз 5 – 10 мг/кг и в дозе 40 мг/кг. Максимальная защита от гибели, вызванной МЭШ, наблюдалась в дозе 10 мг/кг, при этом снижалось количество животных с тоническими судорогами и погибших до 10 % (в контроле 60 %). В дозах 5 и 40 мг/кг соединение увеличивало количество мышей без тонической экстензии и защищало от гибели на 40 % больше относительно группы контроля с МЭШ. Однако ГИЖ-332 не препятствовал действию МЭШ в дозе 20 мг/кг.

При введении ГИЖ-333 в дозах 2,5, 20 и 40 мг/кг не развивалось противосудорожного эффекта, достаточного для прекращения судорожных реакций, вызванных МЭШ (табл. 1).

При изучении судорожных реакций, вызванных коразолом, установлено, что это вещество при введении в холку мыши вызывает развитие генерализованных судорожных клонических проявлений, приводящих к гибели 55 – 90 % животных (табл. 2).

ГИЖ-276 в дозе 5 мг/кг при однократном введении увеличивал латентный период (ЛП) первого группового клонического приступа на 77 с ($p < 0,1$), но при этом не защищал животных от гибели. В дозах 20 и 40 мг/кг ГИЖ-276 не влиял на судороги, спровоцированные коразолом, и показатель выживаемости.

Таблица 2. Влияние производных дибензофурана на судороги у мышей, вызванные коразолом

Группа	Доза, мг/кг	ЛП 1-го приступа, медиана (25 % квартиль – 75 % квартиль), с	Число выживших мышей / число мышей в группе	% выживших мышей
Контроль	-	167,00 (106,00 – 213,00)	1/10	10
ГИЖ-276	5	244,00 (178,00 – 306,00) [#]	1/10	10
	20	169,00 (132,00 – 201,00)	0/10	0
	40	172,00 (144,00 – 200,00)	0/10	0
Контроль	-	240,00 (180,00 – 600,00)	5/9	55,6
ГИЖ-328	10	209,00 (115,00 – 535,00)	4/9	44,4
	40	420,00 (300,00 – 540,00)	7/9	77,8
	60	360,00 (360,00 – 420,00)	5/9	55,6
ГИЖ-272	20	360,00 (300,00 – 420,00)	6/9	66,7
	40	420,00 [#] (360,00 – 1380,00)	6/9	66,7
ГИЖ-332	20	540,00 [#] (480,00 – 660,00)	10/10 ^{&}	100 ^{&}
	40	360,00 (180,00 – 420,00)	3/9	33,3
Контроль	-	300,00 (176,25 – 708,00)	2/12	16,7
ГИЖ-327	10	366,00 (189,00 – 435,00)	3/9	33,3
	20	735,00 (352,00 – 816,00)	4/9	44
	30	535,00 (254,00 – 728,00)	3/9	33,3
ГИЖ-310	20	230,50 (206,75 – 295,75)	0/8	0
	40	366,00 (139,00 – 605,00)	0/9	0
ГИЖ-333	10	645,00 (360,00 – 815,00)	1/9	11,1
	20	525,00 (240,00 – 820,00)	3/9	33,3
	40	412,00 (197,00 – 805,00)	2/9	22,2

* Достоверность отличий от контрольной группы при $p \leq 0,05$ (критерий Краскала – Уоллиса);

[#] тенденция к достоверности отличий от контрольной группы при $p \leq 0,1$ (критерий Краскала – Уоллиса);

[&] достоверность отличий от контрольной группы при $p \leq 0,05$ (критерий Фишера).

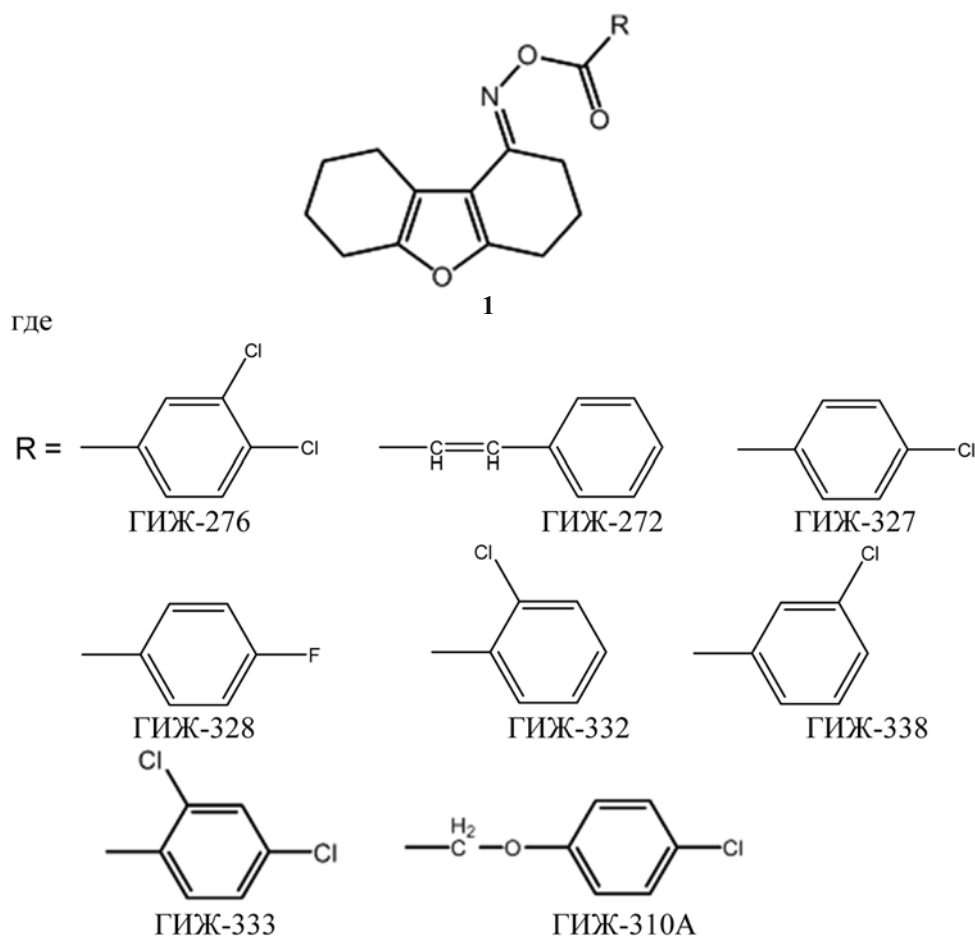


Рис. 1. Производные О-оксима 3,4,6,7,8,9-гексагидродибензо[*b,d*]фуран-1(2H)-она общей формулы 1.

Соединение ГИЖ-272 в дозе 40 мг/кг при однократном введении увеличивало в 2 раза время наступления первого приступа, тем самым задерживая развитие судорожных проявлений, но не оказывало влияние на время гибели и количество выживших животных. В дозе 20 мг/кг противосудорожные эффекты ГИЖ-272 не проявлялись.

При введении соединения ГИЖ-332 в дозе 20 мг/кг наблюдалось увеличение времени наступления первого приступа в 2,3 раза и 100 % выживаемость животных ($p < 0,05$). При введении данного соединения в дозе 40 мг/кг не отмечалось достоверных изменений судорожных реакций относительно контрольных значений.

ГИЖ-328 проявлял слабую противосудорожную активность относительно коразоловых судорог, незначительно увеличивая в дозе 40 мг/кг ЛП и выживаемость животных (на 22 %).

При введении соединений ГИЖ-310А, ГИЖ-333 и ГИЖ-327 в диапазоне доз 20 – 40 мг/кг не наблюдалось защитного эффекта от развития судорожных реакций и гибели, вызванных коразолом (табл. 2).

При изучении противогипоксических эффектов производных дибензофурана на модели нормобариче-

ской гипоксии с гиперкапнией установлено, что ГИЖ-276 статистически достоверно увеличивал продолжительность жизни животных относительно контрольных значений: на 3 мин в дозе 10 мг/кг и 7 мин в дозе 30 мг/кг (рис. 2).

Соединения ГИЖ 328 (20, 40 и 60 мг/кг), ГИЖ 272 (20, 40 и 60 мг/кг), ГИЖ-332 (20 и 40 мг/кг) и ГИЖ-337 (30 мг/кг) не вызывали увеличение продолжительности жизни мышей по сравнению с контролем в условиях нормобарической гипоксии с гиперкапнией в гермообъеме.

Исследование производных дибензофурана в классических тестах скрининга противосудорожных средств показало наличие эффективности в предотвращении генерализованных тонико-клонических судорог, вызванных МЭШ, и, в меньшей степени, генерализованных клонических судорог, вызванных коразолом, моделирующих “малые” (Petit mal) судорожные припадки.

В тесте антагонизма с МЭШ предотвращают тоническую фазу судорожных проявлений и увеличивают выживаемость мышей на 36 – 60 % относительно соответствующих контрольных значений такие соединения, как ГИЖ-276, ГИЖ-327, ГИЖ-328, ГИЖ-332 и

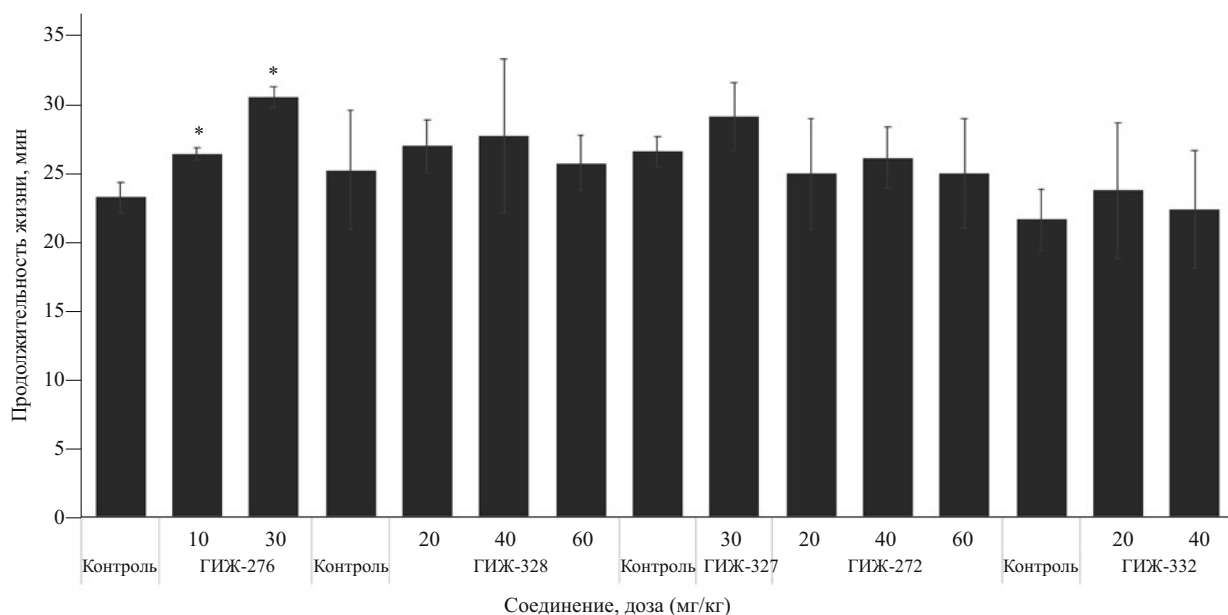


Рис. 2. Влияние производных дибензофурана на длительность жизни мышей в условиях модели нормобарической гипоксии с гиперкапнией в гермообъеме.

* Достоверность отличий от контрольной группы при $p \leq 0,05$ (критерий Манна — Уитни).

ГИЖ-310А. Диапазон эффективных доз для данных веществ лежит в пределах 30 – 60 мг/кг, кроме соединений ГИЖ-276, противосудорожные эффекты которого проявлялись в более широком диапазоне — от 20 до 100 мг/кг, и ГИЖ-332, эффекты которого наблюдались и в более низких дозах — 5 и 10 мг/кг.

В тесте антагонизма с коразолом противосудорожная активность производных дибензофурана отмечалась у соединений ГИЖ-276, ГИЖ-272 и ГИЖ-332. ГИЖ-276 (5 мг/кг) и ГИЖ-272 (40 мг/кг) увеличивают ЛП судорожных проявлений, в то время как ГИЖ-332 (20 мг/кг) не только способствует более поздней инициации первых генерализованных судорог, но и полностью предотвращает гибель животных.

Исследование антигипоксической активности в ряду производных дибензофурана показало, что соединения ГИЖ-272, ГИЖ-332, ГИЖ-337, ГИЖ-338 не обладают противогипоксической активностью, регистрируемой по увеличению продолжительности жизни мышей в условиях нормобарической гипоксии с гиперкапнией. Однако ГИЖ-276 в дозах 10 и 30 мг/кг значительно увеличивает продолжительность жизни животных на 3 и 7 мин соответственно.

Таким образом, соединения производных дибензофурана обладают выраженной противосудорожной активностью преимущественно в отношении так называемых “больших” (Grantmal) судорожных припадков, моделируемых МЭШ. Противосудорожная активность в обоих тестах наблюдается у соединений ГИЖ-332, ГИЖ-272 и у ГИЖ-276, демонстрирующего также и притивогипоксическую активность.

ВЫВОДЫ

1. Производные оксима дибензофуранона ГИЖ-332 (5, 10, 40 мг/кг), ГИЖ-276 (20 – 100 мг/кг), ГИЖ-272 (20 мг/кг), ГИЖ-327 (30 – 60 мг/кг), ГИЖ-328 (40, 60 мг/кг) и ГИЖ-310А (50 мг/кг) обладают выраженным противосудорожным действием преимущественно в отношении судорожных припадков у мышей, моделируемых МЭШ, устраняя тоническую фазу первично-генерализованных судорог и защищая животных от гибели, увеличивая выживаемость мышей на 36 – 60 % относительно соответствующих контрольных значений ($p = 0,05$).

2. В тесте антагонизма с коразолом наиболее выраженная противосудорожная активность отмечается у соединения ГИЖ-332 (20 мг/кг), которое не только увеличивает ЛП наступления первых генерализованных судорог на 125 %, но и полностью предотвращает гибель животных.

3. В условиях теста нормобарической гипоксии с гиперкапнией среди изученных производных оксима дибензофуранона притивогипоксической активностью обладает только соединение ГИЖ-276 в дозах 10 и 30 мг/кг, что наблюдается по увеличению продолжительности жизни животных на 3 и 7 мин, соответственно.

Работа выполнена в рамках Госзадания по теме № 0521-2019-0007.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. Дж. Броди, *Ж. неврол. и псих. им. С. С. Корсакова*, № 10, 62 – 68 (2005).
2. Т. А. Воронина, Л. Н. Неробкова, *Методические указания по изучению противосудорожной активности фармакологических веществ* “Руководство по проведению доклиниче-

- ских исследований лекарственных средств”, А. Н. Мионов (ред.), Гриф и К, Москва (2012), сс. 235 – 250.
3. Т. А. Воронина, Р. У. Островская, Т. Л. Гарибова, *Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия*, “Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств”, ФГБУ “НЦЭМСП” Минздравсоцразвития России, Москва (2012), сс. 276 – 296.
 4. В. А. Карлов, *Эпилепсия у детей и взрослых женщин и мужчин: Руководство для врачей*, Медицина, Москва (2010), с. 717.
 5. В. С. Behera, N. Mahadik, M. Morey, *Pharm. Biol.*, **50**(8), 968 – 979 (2012).
 6. F. Brisdelli, M. Perilli, D. Sellitri, *Phytother. Res.*, **27**(3), 431 – 437 (2013).
 7. G. A. De Paz, J. Raggio, M. P. Gómez-Serranillos, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **53**(2), 165 – 171 (2010).
 8. M. González-Ramírez, J. Gavilán, T. Silva-Grecchi, *J. Alzheimers Dis.*, **61**(4), 1463 – 1475 (2018).
 9. J. Q. Jin, C. Q. Li, L. C. He, *Phytother. Res.*, **22**(12), 1605 – 1609 (2008).
 10. P. Krishnasarma, *J. Pharmacol. Clin. Res.*, **5**(1), 1 – 3 (2018).
 11. K. Liu and S. Zhang, *ACS Med. Chem. Lett.*, **6**(8), 894 – 897 (2015).
 12. B. Ranković, M. Kosanić, T. Stanojković, *Int. J. Mol. Sci.*, **13**(11), 14707 – 14720 (2012).
 13. A. Rostock, Ch. Tober, C. Rundfeld, *Epilepsy Res.*, **23**(3), 211 – 223 (1996).
 14. A. Sadia, *Senior Honors Theses*, New Orleans (2013), p. 29.
 15. N. Tyagi, R. Goel, Mohd Junaid, Ravi Kumar Saini, *J. Pharm. Clin. Res.*, **5**(3), (2018).

Поступила 11.04.19

ANTICONVULSANT ACTIVITY OF DIBENZOFURAN DERIVATIVES: EXPERIMENTAL SCREENING

I. S. Kutepova, S. A. Litvinova, T. A. Voronina, L. N. Nerobkova, G. V. Mokrov, and L. A. Zhmurenko

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

Results of screening of a series of dibenzofuran oxime derivatives in the maximal electroshock (MES) and corazol antagonist tests are presented. It has been found that dibenzofuran derivatives possess anticonvulsant activity and prevent generalized tonic-clonic convulsions caused by MES and clonic convulsions caused by corazol injection. In the MES test, compounds GIZH-276, GIZH-327, GIZH-328, GIZH-310A and GIZH-332 (with a single intraperitoneal injection) in the dose range from 5 to 100 mg/kg prevent the tonic phase of convulsive manifestations and increase the mice survival rate by 36 – 60% relatively to the corresponding control values. In the corazol test, compounds GIZH-276, GIZH-272 and GIZH-332 increased the latent time of seizures onset dibenzofuran oxime derivatives on the average by 45, 75, and 125%, respectively ($p = 0.05$). The effect of 100% protection from death was only observed only for compound GIZH-332 (at 20 mg/kg dosage). Thus, dibenzofuran derivatives have pronounced anticonvulsant activity, mainly in relation to the Grand mal convulsive seizures, as modeled by the MES-induced seizure test. In both tests, the anticonvulsant activity was observed for compounds GIZH-276, GIZH-272 and GIZH-332. In addition, GIZH-276 demonstrated antihypoxic activity under the conditions of the normobaric hypoxia test with hypercapnia.

Keywords: dibenzofuran derivatives; anticonvulsant activity; maximal electroshock seizure test; corazol antagonist test; normobaric hypoxia; mice.