

С. К. БОГУС¹, И. Г. КОВАЛЕВ², О. Н. ГУЛЕВСКАЯ¹, К. Ф. СУЗДАЛЕВ³, П. А. ГАЛЕНКО-ЯРОШЕВСКИЙ¹

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОИЗВОДНОГО ИНДОЛА SS-68 НА ПЕРВИЧНО-ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫЕ СУДОРОГИ, ВЫЗВАННЫЕ МАКСИМАЛЬНЫМ ЭЛЕКТРОШОКОМ, ТИОСЕМИКАРБАЗИДОМ И ПИЛОКАРПИНОМ

¹ Кафедра фармакологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4. Тел. 8(861)262-34-99. E-mail: olga.stoyalova@bk.ru;

² ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, 125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8. Тел. 8(495)601-24-14. E-mail: zakusovpharm@mail.ru;

³ кафедра химии природных и высокомолекулярных соединений химического факультета Южного федерального университета, Россия, 344090, г. Ростов-на-Дону, ул. Зорге, 7. Тел. 8(918)856-71-00. E-mail: konsuz@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучение влияния SS-68 на первично-генерализованные судороги в базисных тестах оценки противосудорожного действия веществ.

Материал и методы. Исследование влияния SS-68 на первично-генерализованные судороги включало оценку противосудорожного действия по тестам максимального электрошока, антагонизма с тиосемикарбазидом и пилокарпином в экспериментах на самцах белых аутбредных мышей и крыс.

Результаты. Соединение SS-68 обладает дозозависимым противосудорожным действием в тесте максимального электрошока, что выражается в его способности предупреждать гибель 100% животных, а также проявлять активность в тестах антагонизма с тиосемикарбазидом и пилокарпином. По противосудорожной активности в тесте максимального электрошока SS-68 превосходит вальпроат натрия.

Заключение. Наиболее вероятными молекулярными мишенями противосудорожного действия SS-68 являются нейромедиаторные системы головного мозга: ГАМК-ергическая, холинергическая и система возбуждающих аминокислот, а также K⁺-, Na⁺- и Ca²⁺-каналы нейронов. Более высокая активность SS-68, чем вальпроата натрия (повышает содержание ГАМК в центральной нервной системе), в тесте максимального электрошока, может быть связана с его широким спектром нейротропного действия.

Ключевые слова: эпилепсия, максимальный электрошок, тесты антагонизма с тиосемикарбазидом и пилокарпином, противосудорожная активность, соединение SS-68, вальпроат натрия.

Для цитирования: Богус С. К., Ковалев И. Г., Гулевская О. Н., Суздаев К. Ф., Галенко-Ярошевский П. А. Изучение влияния производного индола SS-68 на первично-генерализованные судороги, вызванные максимальным электрошоком, тиосемикарбазидом и пилокарпином. Кубанский научный медицинский вестник. 2017;24(3): 17-21. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2017-24-3-17-21

For citation: Bogus S. K., Kovalyov S. K., Gulevskaya O. N., Suzdalev K. F., Galenko-Yaroshevsky P. A. Study of Indole SS-68 Derivative Impact on Primary Generalized Convulsions induced by Maximal Electric Shock, Thiosemicarbazide and Pilocarpine. Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik. 2017;24(3): 17-21. (In Russian). DOI: 10.25207 / 1608-6228-2017-24-3-17-21

S. K. BOGUS¹, I. G. COVALEV², O. N. GULEVSKAYA¹, K. F. SUZDALEV³,
P. A. GALENKO-YAROSHEVSKY¹

STUDY OF INDOLE SS-68 DERIVATIVE IMPACT ON THE PRIMARY GENERALIZED CONVULSIONS
INDUCED BY MAXIMAL ELECTRIC SHOCK, THIOSEMICARBAZIDE AND PILICARPINE

¹ FSBEI HE KUBSMU of Health Care of Russia, Russia, Department of Pharmacology, 350063, 4, Sedina St., Krasnodar. Tel. 8(861)262-34-99. E-mail: olga.stoyalova@bk.ru;

² FSBRI "Zakusov Research Institute of Pharmacology", 125315, 8, Baltiyskaya St., Moscow. E-mail: zakusovpharm@mail.ru;

³ Southern Federal University, Chemical Faculty, Natural and High-molecular Compound Department, 344090, 7, Zorge St., Rostov-on-Don. Tel. 8 (918) 856-71-00. E-mail: konsuz@gmail.com

SUMMARY

Aim. Study of SS-68 impact on primary generalized convulsions in basic estimation tests of anticonvulsant action of agents.

Material and methods. Study of the SS-68 impact on primary generalized convulsions included an estimation of anticonvulsant action with maximal electric shock, thiosemicarbazide and pilocarpine antagonism tests performed on white outbred male mice and rats.

Results. SS-68 compound possesses dosage dependent anticonvulsant action in maximal electric shock test indicating its ability to prevent death of 100% animals and its activity in thiosemicarbazide and pilocarpine antagonism tests as well. In the maximal electric shock test SS-68 surpassed sodium valproate in its anticonvulsant activity.

Conclusion. Neurotransmitter systems of the brain such as GABA, cholinergic and amino acid stimulant system as well as K^+ , Na^+ and Ca^{2+} channels of neurons shall be the most possible molecular targets of SS-68 anticonvulsant action. Higher activity of SS-68 comparing with sodium valproate in the maximal electric shock test (increasing GABA content in central nervous system) can be related with its wide range of neurotropic action.

Keywords: Epilepsy, maximal electric shock, thiosemicarbazide and pilocarpine antagonism tests, anticonvulsant activity, SS-68 compound, sodium valproate.

Введение

Эпилепсия является заболеванием, занимающим 3-е место среди органических болезней мозга. Согласно статистическим данным, эпилепсией и пароксизмальными состояниями в настоящее время страдает около 50 млн. человек (до 1% населения мира) [1]. Для лечения эпилепсии применяются различные противоэпилептические препараты, которые, однако, не удовлетворяют в полной мере требованиям клиники, имеют много побочных эффектов и примерно 25% больных остаются фармакорезистентными [1].

В связи с вышеизложенным, поиск новых средств для профилактики и лечения эпилепсии и пароксизмальных состояний продолжается как в России, так и за рубежом.

Ранее установлено, что новое производное индола SS-68 в условиях нарушений ритма сердца периферического и центрального генеза проявляет выраженную антиаритмическую (преимущественно противофибрилляторную) активность, превосходящую таковую (в зависимости от модели аритмии) референтные препараты – лидокаин, аймалин, хинидин, этмозин, этацизин и амиодарон, связанную с блокадой ионных токов, в основном калиевых; обладает депримирующим действием на фоновый фокальный ритмогенез соматосенсорной коры и подавляет эпилептиформную активность корковых структур, вызванную карбаолом [2]. Кроме того, SS-68 оказывает позитивное влияние на объемную скорость коронарного кровотока, сердечную деятельность и гемодинамику в условиях интактного и ишемизированного миокарда, проявляет антиангинальные свойства [3].

Цель исследования: изучить влияние SS-68 на первично-генерализованные судороги в базисных тестах оценки противосудорожного действия веществ.

Материал и методы

Исследование проводили на самцах белых аутбредных мышей и крыс. Животных получали из Центрального питомника лабораторных животных «Столбовая», Московская область. Содержание животных соответствовало правилам лаборатор-

ной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96), нормативному документу «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию вивариев», утвержденных Главным государственным санитарным врачом РФ 06.04.1973 г. №1045-73, и Приказу МЗ РФ №267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» (Good Laboratory Practice) с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997 г.). Животные содержались в виварии при температурном режиме 20 – 22 °С, при световом цикле – 12 часов светлый и 12 часов темный периоды, в пластмассовых клетках Т/4А размером 580 x 375 x 200 мм с верхней крышкой из нержавеющей стали и подстилкой обеспыленной из деревянной стружки. Животные содержались при постоянном доступе к корму и воде с использованием полного рациона экструдированного брикетированного корма (ГОСТ на корм Р 50258-92) и питьевой воды. При проведении экспериментов учитывались требования Комиссии по проблеме этики отношения к животным Российского национального комитета по биоэтике при Российской академии наук и этические нормы, изложенные в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985 г.). Опыты проводили в первую половину дня.

Изучали противосудорожное действие (ПСД) SS-68, синтезированного на кафедре химии природных и высокомолекулярных соединений химического факультета Южного федерального университета (г. Ростов-на-Дону). В качестве препарата сравнения использовали вальпроат натрия (производитель Anjan Drugs Pvt. Ltd, Индия), который является препаратом первой линии при лечении эпилепсии.

Оценку противосудорожного эффекта SS-68 проводили согласно «Методическим указаниям по изучению фармакологической активности веществ с противосудорожным действием» [4, 5] с использованием методов, которые широко используются для оценки противосудорожных препаратов в России и за рубежом. Использовались три методики

с различным механизмом возникновения судорог: судороги, вызванные максимальным электрошоком и химическими воздействиями – тиосемикарбазидом и пилокарпином.

Методика максимального электрошока (МЭШ). Эксперименты проводили на белых нелинейных мышах-самцах массой 20 – 26 г. МЭШ моделирует первично-генерализованные судороги – так называемые «большие» (Grand Mal) судорожные припадки и является базисным тестом при оценке действия веществ с противосудорожной активностью [4]. МЭШ создавали с использованием сертифицированной установки – «Rodent Shocker RS», type 221 (Harvard Apparatus, GmbH, Германия). Животному через специальные корневые (глазные) электроды проводили электростимуляцию (режим прибора 500/300 V/mA: электростимуляция 144 mA, длительностью 0,3 сек). После проведения МЭШ у животного развивалась тоническая экстензия передних и задних конечностей, заканчивающаяся гибелью. Оценивалась способность SS-68 предупреждать гибель животных после проведения МЭШ. Соединение SS-68 вводили животным однократно внутривенно (в/вр) в объеме 0,1 мл на 10 г веса мыши за 30 мин до проведения МЭШ. Животным контрольной группы вводили физиологический раствор.

Тест антагонизма с тиосемикарбазидом (ТСК). Эксперименты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 250 – 300 г. ТСК вводили животным в/вр в дозе 450 мг/кг и затем в течение 2-х часов регистрировали: латентный период (ЛП) первого генерализованного приступа и ЛП гибели крыс, число животных с генерализованным судорожным приступом и число выживших крыс [4]. Соединение SS-68 вводили животным однократно в/вр за 15 мин до введения ТСК. Крысам контрольной группы вводили физиологический раствор.

Тест антагонизма с пилокарпином (ПК). Эксперименты проводили на белых нелинейных крысах-самцах массой 220–280 г. Исследование проводили согласно методике, описанной в работе [6]. ПК вводили животным в/вр в дозе 350 мг/кг и затем в течение одного часа регистрировали: ЛП первого судорожного проявления, ЛП первого генерализованного судорожного приступа, число крыс с генерализованным судорожным приступом и число выживших животных. Соединение SS-68 вводили крысам однократно в/вр за 40 мин до введения ПК. Животным контрольной группы вводили физиологический раствор.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью статистических пакетов «BioStat» для Windows.

Результаты и обсуждение

Изучение ПСД SS-68 в тесте МЭШ. Установлено, что проведение МЭШ у контрольных мышей вызывало тоническую экстензию, заканчивающуюся

гибелью 86 – 88% животных и только 12,5 – 14% мышей выживало после электрошока (табл. 1). Соединение SS-68 в дозе 30 мг/кг в 2 раза увеличивало процент выживших после МЭШ животных, в дозе 50 мг/кг – защищало от гибели 58,3% мышей, а в дозе 60 мг/кг полностью защищало животных от гибели (табл. 1).

Вальпроат натрия в дозе 150 мг/кг защищал от судорог 40% мышей, а в дозе 200 мг/кг – 70% животных (табл. 1).

Таким образом, SS-68 обладает выраженным дозозависимым противосудорожным действием в тесте МЭШ, что выражается в его способности в дозе 60 мг/кг предупреждать гибель 100% животных после МЭШ (в контроле выжило только 12,5% мышей). Соединение SS-68 превосходит вальпроат натрия по активности.

Изучение ПСД SS-68 в тесте антагонизма с ТСК. Установлено, что в контрольной группе крыс после введения ТСК ЛП первого генерализованного приступа составил 3427 ± 1073 сек, а ЛП гибели животных – 4802 ± 1235 сек; количество крыс с генерализованным судорожным приступом составило 50%, а выживших – 60% (табл. 2).

Соединение SS-68 в дозе 60 мг/кг полностью предупреждало развитие генерализованной судорожной активности, вызванной ТСК, что выражалось в статистически достоверном увеличении количества крыс без генерализованных приступов, а также в увеличении до 100% числа выживших животных (табл. 2).

Следовательно, SS-68 обладает выраженным ПСД в тесте антагонизма с ТСК, что выражается в способности SS-68 в дозе 60 мг/кг полностью предупреждать развитие генерализованного приступа и гибель крыс.

Изучение ПСД SS-68 в тесте антагонизма с ПК. Установлено, что в контрольной группе крыс после введения ПК ЛП первого судорожного проявления составил $386,1 \pm 96,5$ сек, ЛП первого генерализованного судорожного приступа – $968,0 \pm 75,8$ сек, количество животных с миоклоний мордочки – 83,3%, с генерализованным судорожным приступом – 58,3%, количество погибших животных – 67,0%.

Соединение SS-68 в дозе 60 мг/кг увеличивало ЛП первого судорожного проявления на 60,7 сек, а ЛП первого генерализованного судорожного приступа – на 139,7 сек. Число животных без миоклоний мордочки под влиянием SS-68 увеличилось в 2,1 раза, а число выживших животных – в 1,7 раза.

Выполненное исследование свидетельствует о том, что SS-68 обладает ПСД в тесте антагонизма с ПК: в дозе 60 мг/кг статистически достоверно увеличивает ЛП первого генерализованного судорожного приступа и количество крыс без миоклоний мордочки, а также число выживших животных.

Таким образом, производное индола SS-68 обладает отчетливым дозозависимым ПСД в тесте МЭШ, что выражается в его способности в дозе

60 мг/кг предупреждать гибель 100% мышей (в контроле выжило 12,5% животных), оказывает эффект в тесте антагонизма с ТСК, предупреждая развитие генерализованного приступа и гибель 100% крыс, и увеличивает ЛП первого генерализованного судорожного приступа, число животных без миоклоний мордочки и число выживших крыс в тесте антагонизма с ПК.

Основываясь на данных, полученных в настоящей работе и в предыдущих исследованиях [2], противосудорожное действие SS-68 может быть обусловлено повышением содержания ГАМК, блокированием холинорецепторов и депримирующим

влиянием на систему возбуждающих аминокислот в центральной нервной системе.

Более выраженная противосудорожная активность SS-68 при МЭШ по сравнению с вальпроатом натрия (повышает содержание ГАМК в ЦНС), который так же проявляет высокую активность на этой модели судорог [7] и является препаратом первой линии при лечении эпилепсии, может быть связана с его широким спектром нейротропного действия.

Полученные данные о противосудорожной активности SS-68 открывают перспективу дальнейшего изучения его противосудорожных свойств.

Таблица 1

Противосудорожная активность SS-68 и вальпроата натрия в тесте МЭШ в опытах на мышах

Вещество	Доза, мг/кг	Количество выживших животных после МЭШ, %
Контроль (МЭШ), n = 14	Физиологический раствор	14
SS-68 + МЭШ, n = 12	30	28
SS-68 + МЭШ, n = 12	50	58,3*
Контроль (МЭШ), n = 8	Физиологический раствор	12,5
SS-68 + МЭШ, n = 10	60	100*
Вальпроат натрия + МЭШ, n=10	150	40
Вальпроат натрия + МЭШ, n=10	200	70

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

Таблица 2

Противосудорожная активность SS-68 в тесте антагонизма с ТСК в опытах на крысах

Вещество	ЛП генерализованного приступа, сек	Количество животных без генерализованных приступов, %	ЛП гибели животных, сек	Количество выживших животных, %
Контроль (ТСК), n=10	3427 ± 1073	50	4802 ± 1235	60
SS-68, 60 мг/кг + ТСК, n=9	—	100*	—	100

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

**Противосудорожная активность SS-68
в тесте антагонизма с ПК в опытах на крысах**

Вещество	ЛП первого судорожного проявления, сек	Количество животных без миоклоний мордочки, %	ЛП первого генерализованного судорожного приступа, сек	Количество животных без генерализованных приступов, %	Количество выживших животных, %
Контроль (ПК), n = 12	386,1±96,5	16,7	968,0±75,8	41,7	33
SS-68, 60 мг/кг + ПК, n = 9	446,8±85,3	33,3*	1107,7±85,2*	11,1	55,5

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

ЛИТЕРАТУРА

REFERENCES

1. Карлов В.А. Эпилепсия у детей и взрослых женщин и мужчин. Руководство для врачей.- Москва, изд. «Медицина». – 2010. – 718 с.

2. Сухов А.Г., Матухно А.Е., Синицына В.В., Суздальев К.Ф., Богус С.К., Галенко-Ярошевский П.А. Влияние производного индола SS-68 на биоэлектрическую активность соматосенсорной коры и нарушения ритма сердца, вызванные микроапликацией карбахола на корковые структуры головного мозга // *Новые технологии*. – 2012, №4. – С. 313-318.

3. Богус С.К., Галенко-Ярошевский П.А., Суздальев К.Ф. Антиаритмические и антиангинальные свойства новых аминокпроизводных 1,2 и 1,3 дизамещенных индолов // 5-ая ежегодная научно-практическая конференция «Лабораторные животные: наука, фармакология, ветеринария». – Белгород, 23-25 сентября 2016 г. – Белгород, 2015. – С. 8-9.

4. Воронина Т.А., Неробкова Л.Н. Методические указания по изучению противосудорожной активности фармакологических веществ // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1, глава 14. – ФГБУ «НЦЭМСП». – Москва.: Изд-во «Гриф и К». – 2012. – С. 235-250.

5. Löscher W., Fassbender C.P., Nolting B. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs // *Epilepsy Res.* – 1991. – Vol. 8. – P. 79-94.

6. Klitgaard H., Matagne A., Gobet J., Wulfert E. Evidence for a unique profile of levetiracetam in rodent models of seizures and epilepsy // *Eur J Pharmacol.* – 1998. – Vol. 353. – P. 191-206.

7. Luszczki J., Zuczwar M., Kis J., Krysa J., Pasztelan I., et al., Interactions of lamotrigine with topiramate and first-generation antiepileptic drugs in the maximal electroshock test in mice: an isobolographic analysis // *Epilepsia.* – 2003. – Vol. 44 (8). – P. 1003-1013.

1. Karlov V.A. Epilepsy in Children and Adult Women and Men. The Guide for Doctors. Moscow, Medicine Publ., 2013: 718 p. (In Russ.).

2. Sukhov A.G., Matukhno A.E., Sinitsyna V.V., Suzdalev K.F., Bogus S.K., Galenko-Yaroshevsky P.A. Effect of Indole Derivative SS-68 on the Bioelectric Activity of the Somatosensory Cortex and Heart Rhythm Disturbances Caused by Microapplication of Carbachol on Cortical Brain Structures. *New Technologies*, 2012 – No 4. – P. 313-318. (In Russ.).

3. Bogus S.K., Galenko-Yaroshevsky P.A., Suzdalev K.F. Antiarrhythmic and Antianginal Properties of New 1,2- and 1,3 Disubstituted Indole Amino Derivatives. The 5th Annual Scientific and Practical Conference "Laboratory Animals: Science, Pharmacology, Veterinary Science". Belgorod, September 23-25, 2016, Belgorod, 2015. – P. 8-9. (In Russ.).

4. Voronina T.A., Nerobkova L.N. Methodical Guidelines for the Study of Anticonvulsant Activity of Pharmacological Substances. The Guide for Preclinical Research of Medicines. Part 1, Chapter 14. FGBU "NTSEMSP", Grif&K Publ., 2012. – P. 235-250. (In Russ.).

5. Löscher W., Fassbender C.P., Nolting B. The role of technical, biological and pharmacological factors in the laboratory evaluation of anticonvulsant drugs // *Epilepsy Res.* – 1991. – Vol. 8. – P. 79-94.

6. Klitgaard H., Matagne A., Gobet J., Wulfert E. Evidence for a unique profile of levetiracetam in rodent models of seizures and epilepsy // *Eur J Pharmacol.* – 1998. – Vol. 353. – P. 191-206.

7. Luszczki J., Zuczwar M., Kis J., Krysa J., Pasztelan I., et al., Interactions of lamotrigine, with topiramate and first-generation antiepileptic drugs in the maximal electroshock test in mice: an isobolographic analysis // *Epilepsia.* – 2003. – Vol. 44 (8). – P. 1003-1013.

Поступила/ Received 18.04.2017

Принята в печать/ Accepted 10.05.2017

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest

Контактная информация: Богус Саида Казбековна; тел.: 8-918-468-60-26; e-mail: Sayda_777@mail.ru; Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Советская, 55, кв. 5.

Corresponding author: Bogus Saida Kazbekovna; tel: 8-918-468-60-26; e-mail: Sayda_777@mail.ru; apt. 5, 55, Sovetskaya St., Krasnodar, 350063, Russia.